

Воздействие озono- и гипербаротерапии на показатели гемостаза, иммунитета, перекисного окисления липидов у беременных с субкомпенсированной хронической плацентарной недостаточностью

Клементе Апумайта Х.М., к.м.н., кафедра акушерства и гинекологии №1 ГОУ ВПО «ММА им.И.М.Сеченова», г. Москва; Гречканев Г.О., д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия Росздрава», г. Нижний Новгород

The influence of ozone therapy and hyperbaric oxyhenation on blood coagulation, immune status and lipid peroxidation in pregnant patients with subcompensated chronic placental insufficiency

Klemente Apumaita H. M., Grechkanev G.O.

Резюме

Обследовано 172 пациентки с субкомпенсированной формой ХПН, 72 пациентки получали озонотерапию (первая основная группа), 52 женщины – ГБО (вторая основная группа) и 48 – традиционное лечение (контрольная группа). Исследовали количество тромбоцитов в крови, агрегационную активность тромбоцитов, активированное время рекальцификации, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), содержание в плазме растворимых комплексов фибрин-мономера (РКФМ). Оценка иммунологического статуса пациенток до и после лечения включала определение общего количества Т- и В-лимфоцитов, субпопуляций Т-лимфоцитов, уровня иммуноглобулинов А, М, G. Также определялась концентрация циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Для оценки интенсивности перекисного окисления липидов использовался скрининговый метод индуцированной хемилюминесценции сыворотки крови. Под влиянием озонотерапии было отмечено улучшение функциональной активности тромбоцитов, уменьшение концентрации фибриногена, РКФМ, а также достоверное увеличение АЧТВ. Озонотерапия привела к снижению ЦИК, IgM, CD 8+, активационных рецепторов к ИЛ-2 (CD 25+), CD 16+, увеличению количества CD 3+, CD 4+. Полученные результаты также свидетельствовали о выраженном положительном влиянии медицинского озона на процессы ПОЛ. ГБО и традиционное лечение были менее эффективны. Таким образом, медицинский озон оказывает нормализующее действие на показатели тромбоцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза, иммунитет, перекисное окисление липидов, у больных с субкомпенсированной ХПН.

Ключевые слова: хроническая плацентарная недостаточность, озонотерапия, гипербаротерапия, иммунитет, перекисное окисление липидов

Summary

There were examined 172 pregnant patients with subcompensated chronic placental insufficiency CPI. 72 patients who made up the 1st group were on combined treatment with medical ozone. The second group of 52 women was undergoing hyperbaric oxygenation (HBO) procedures. The third group of 48 patients undergoing conventional treatment was a control one. The following parameters of hemostasis were analyzed – the amount of thrombocytes, thrombocytes aggregation activity, decalcification activated time (RAT), activated partial thromboplastine time (APTT), plasma soluble fibrin-monomer complex content (PSFMC). Estimation of the patients immune status before and after the treatment included assessment of total amount of T- and B- lymphocytes, T-lymphocyte subpopulations, A-, M-, and G- immunoglobulin level, as well as concentration of circulating immune complexes (CIC). There were studied the parameters of biochemiluminometry for investigation of balance of lipid peroxidation and antioxidant defense system. Ozone therapy was found to cause improvement of thrombocytes functional activity and decrease in fibrinogen concentration, as well as significant APTT. Ozone therapy caused decrease in CIC, IgM, CD 8+ and led to increase in CD 3+, CD 4+. Ozone therapy resulted in CD 16+, IL-2 (CD 25+) activation receptors and HBO decrease. The received results provide reliable evidence on positive effect of medical ozone on LP processes. Conventional therapy and produced less marked effect on immunologic parameters of the patients. Ozone therapy and HBO normalize maternal hemostasis parameters, lipid peroxidation system, produce significant immune-modulating effect in subcompensated CPI.

Key words: chronic placental insufficiency, ozonotherapy, hyperbarotherapy, hemostasis, immune status, lipid peroxidation

Введение

Изучение хронической плацентарной недостаточности на протяжении многих лет не теряет своей актуальности и продолжает оставаться приоритетным направлением в современном акушерстве и перинатологии. [1, 2, 5, 6].

Согласно современным представлениям, плацентарная недостаточность проявляется своеобразным клинико-морфологическим симптомокомплексом, возникающим в результате патологической реакции плаценты на различные экзо- и эндогенные факторы [1, 2]. В возникновении хронической плацентарной недостаточности (ХПН) имеют значение патологические изменения материнской системы гемостаза, иммунологические нарушения [3, 4] и дисбаланс в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» [7].

Цель исследования - выявить изменения в системе гемостаза, иммунитете, состоянии перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты при субкомпенсированной форме ХПН и возможности их коррекции с помощью озонотерапии и гипербарической оксигенации (ГБО).

Материалы и методы

Для выполнения поставленных в работе цели и задач обследовано 172 пациентки в сроки беременности от 26 до 36 недель с субкомпенсированной формой ХПН, ведущими осложнениями у них были гестоз, анемия и угроза прерывания беременности. Верификацию диагноза проводили по балльной шкале оценки степени тяжести ХПН и состояния фетоплацентарного комплекса, предложенной И.С. Сидоровой.

Больные были разделены на 3 группы: 72 пациентки получали озонотерапию (первая основная группа), 52 – ГБО (вторая основная группа) и 48 – традиционное лечение (контрольная группа). При разделении на группы больные были рандомизированы по основным медико-социальным и клиническим параметрам.

Озонотерапия проводилась в виде внутривенного капельного введения озонированного физиологического раствора - по 200 мл 1 раз в день, ежедневно в течение 5-7 дней. Для приготовления перфузата, 0,9% раствор хлорида натрия в течение 15 минут барботировался озонородной смесью с концентрацией озона 400 мкг/л и скоростью подачи газовой смеси 1 л/мин в чередовании с активегином в дозе 160 мг на курс до 5-7 вливаний.

ГБО проводилась в барокамере БЛКС-37 при давлении 1,0-1,3 ата в течение 40 мин в чередовании с активегином в дозе 160 мг, №5-7.

Традиционное лечение включало: реополиглюкин 200 – 400 мл с тренталом 5 мл внутривенно капельно, в

сочетании с активегином по 160 мг. Пациентки обследовались дважды: в день поступления и через 14 дней.

Исследование состояния свертывающей системы крови и фибринолиза у обследуемых женщин проводилось до и после проведенного лечения. Кровь для исследования в количестве 10 мл бралась утром натощак из кубитальной вены. Состояние системы гемостаза оценивали по следующим параметрам:

Первичный (сосудисто-тромбоцитарный) гемостаз:

1. количество тромбоцитов в крови (подсчет в мазке);

2. агрегационная активность тромбоцитов (исследование фотометрическим методом с графической регистрацией процесса на агрегометре "Tamlite" с помощью набора "Агристин плюс АДФ, адреналин, ристомин" фирмы "Ренал").

II. Вторичный (плазменный) гемостаз:

1. общие коагуляционные тесты, характеризующие первую фазу свертывания крови (образование протромбиназы) и позволяющие определить дефицит XII, XI, IX и VIII плазменных факторов свертывания крови или избыток антикоагулянтов: активированное время рекальцификации (ABP) по P.G.Hattersley; активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) (определение унифицированным методом в бедной тромбоцитами плазме с применением реактивов "Технология-Стандарт").

2. Вторая фаза свертывания крови (образование тромбина): протромбиновый индекс по A.J.Quick.

3. Третья фаза свертывания крови (образование фибрина): содержание в плазме фибриногена (определение по P.A.Рутбергу); этаноловый тест по H.Godal; содержание в плазме растворимых комплексов фибриномономера (РКФМ) (определение с помощью ортофенантролинового теста по В.А.Елыкову и А.П.Момоту (1987)); активность XIII фактора плазмы.

4. Первичные естественные антикоагулянты: тромбиновое время; активность комплекса антифibrин III-гепарин.

5. Посткоагуляционная фаза (исследование ректракции сгустка и фибринолиза): фибринолитическая активность в богатой тромбоцитами плазме (по методу E.Kowalski); продукты деградации фибрина (протамин-сульфатный тест).

Содержание CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, CD25+ лимфоцитов исследовали непрямым иммунофлуоресцентным методом с помощью набора моноклональных антител производства Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии МЗ РФ на люминесцентном микроскопе «Leitz» (Германия). Количественное определение иммуноглобулинов А, М, G в сыворотки крови проводилось методом радиальной иммунодиффузии по Манчини с использованием моноспецифических сывороток против IgA, IgM, IgG производства Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии МЗ РФ.

С целью определения интенсивности свободнорадикальных процессов применялся метод хемилюминесценции сыворотки крови, индуцированной перекисью

Ответственный за ведение переписки -

Гречканев Геннадий Олегович

6031124, Н.Новгород, ул.Невзоровых, д.47, кв.39,

e-mail: grechkanev@nnt.ru

водорода. Интенсивность свечения регистрировалась на приборе «Дупатесч» (Германия). Регистрация ИХЛ осуществлялась на биохемилюминиметре БХЛ-06. Общая антиокислительная активность организма (ОАОА) в сыворотке крови рассчитывали по изменению светосуммы свечения индуцированной хемилюминисценции (ИХЛ - I max) в течение 30 секунд.

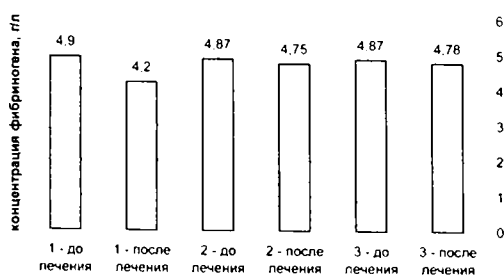
Статистическая обработка данных проводилась с расчетом среднего арифметического и ошибки среднего арифметического с использованием программы Microsoft Excel из комплекта Microsoft Office 2000, пакета МЕДСТ, программы Статистика 6 по методам описательной параметрической статистики с применением критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В процессе изучения исходных показателей коагулограммы выяснилось, что патологические сдвиги в системе гемостаза у обследованных женщин характеризовались повышением агрегационной активности тромбоцитов, содержания фибриногена на 17,5% и РКФМ почти в 2 раза, снижением АЧТВ и незначительным увеличением показателей ПТИ. Явления гиперкоагуляции выявлены в первой основной подгруппе у 68% пациенток, во второй основной подгруппе у 69,2% беременных и в контрольной подгруппе у 66,7% больных.

Нами было установлено, что выраженная положительная динамика тестов гиперкоагуляции отмечена лишь у пациенток, получавших в комплексной терапии ХПН медицинский озон (таблица 1, рисунок 1).

Так, произошло достоверное снижение агрегационной активности тромбоцитов на 7,3% ($p < 0,05$), уровни фибриногена нормализовались у 75% пациенток, концентрация РКФМ, повышенная до лечения снизилась у 58,3% пациенток, во всех случаях протромбиновый ин-



1 - первая основная группа, 2 - вторая основная группа, 3 - контрольная группа

Рис. 1. Изменения уровня фибриногена в крови беременных под влиянием различных видов терапии субкомпенсированной ХПН

декс достиг нормальных значений и отмечалось достоверное повышение АЧТВ. ГБО и традиционное лечение не оказали столь заметного влияния на показатели гемостаза больных.

В обследованной нами группе пациенток отмечались определенные изменения в иммунной системе. Так, было отмечено снижение общего количества Т-лимфоцитов и Т-хелперов, при этом изменения в соотношении CD 3+/CD 4+ носили достоверный характер. Анализ содержания цитотоксических клеток показал их увеличение, отмечалось также достоверное повышение уровня активационных рецепторов к ИЛ-2 и натуральных киллеров. Сравнение результатов лечения выявило следующие закономерности. После озонотерапии возросло (таблица 2) содержание CD 3+ лимфоцитов на 8% и Т-хелперов на 6% ($p < 0,05$).

Выраженные нарушения имелись и в гуморальном звене иммунитета. Так, регистрировалось достоверное увеличение популяции CD 20+ и иммуноглобулина М, с

Таблица 1. Динамика показателей свертывающей системы крови при субкомпенсированной форме ХПН на фоне различных видов терапии ($M \pm m$).

Показатель	Первая основная группа (n=72)		Вторая основная группа (n=52)		Контрольная группа (n=48)	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Тромбоциты, ($\times 10^9$ /л)	202,2 $\pm$ 3,1	218,0 $\pm$ 3,5	198,0 $\pm$ 5,9	201,0 $\pm$ 6,03	210,0 $\pm$ 6,3	206,0 $\pm$ 6,2
ПАТ с АДФ, (%)	52,1 $\pm$ 0,2	48,9 $\pm$ 0,3*	51,7 $\pm$ 1,1	50,6 $\pm$ 1,7	51,5 $\pm$ 1,1	51,0 $\pm$ 1,9
ПАТ с ристомизином, (%)	38,2 $\pm$ 0,9	36,4 $\pm$ 0,2	37,6 $\pm$ 1,8	38,0 $\pm$ 1,9	38,0 $\pm$ 1,8	38,6 $\pm$ 1,9
ПАТ с адреналином, (%)	40,1 $\pm$ 2,3	38,2 $\pm$ 1,2	39,6 $\pm$ 2,1	40,8 $\pm$ 1,6	39,8 $\pm$ 2,1	39,4 $\pm$ 1,7
АЧТВ, ссек	31,2 $\pm$ 0,5	34,4 $\pm$ 0,1*	32,0 $\pm$ 1,0	33,2 $\pm$ 1,3	31,6 $\pm$ 1,0	31,8 $\pm$ 1,2
Фибриноген, г/л	4,9 $\pm$ 0,2	4,2 $\pm$ 0,15*	4,87 $\pm$ 0,18	4,75 $\pm$ 0,2	4,87 $\pm$ 0,18	4,78 $\pm$ 0,2
РКФМ, (мг/100мл)	5,1 $\pm$ 0,3	4,1 $\pm$ 0,23*	4,9 $\pm$ 0,26	4,8 $\pm$ 0,24	5,1 $\pm$ 0,3	4,9 $\pm$ 0,23
ПТИ (%)	108,2 $\pm$ 5,4	98,0 $\pm$ 3,4	107,6 $\pm$ 5,3	107,2 $\pm$ 4,3	108,4 $\pm$ 5,4	107,6 $\pm$ 4,6

* - коэффициент достоверности различий в группе после лечения ($p < 0,05$)

y - коэффициент достоверности различий по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$)

z - коэффициент достоверности различий по сравнению со второй основной группой ($p < 0,05$)

Таблица 2. Влияние различных видов терапии субкомпенсированной формы ХПН на состояние клеточного и гуморального иммунитета (M±m)

Показатель, °	Первая основная группа (n= 72)		Вторая основная группа (n= 52)		Контрольная группа (n=48)	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
CD 3+	57,8±2,2	62,6±1,9	58,3±2,6	58,8±3,2	58,6±2,7	58,3±3,5
CD 4+	35,2±1,7	37,6±1,1	34,8±2,1	35±2,4	35,7±1,9	35,6±2,2
CD 8+	29,4±2,1	25±0,6 ^{xy}	27,5±1,6	27,4±1,9	29±1,8	28,6±1,6
IRI	1,2±0,1	1,5±0,04 [*]	1,26±0,2	1,27±0,2	1,23±0,1	1,24±0,2
CD 16+	17,2±1,4	14,8±0,6	16,8±1,4	16,2±1,1	16,6±1,5	16,5±1,0
CD 25+	6,7±0,6	6,1±0,3	6,5±0,8	6,8±0,3	6,4±0,64	7,0±0,42
CD 20+	12,9±1,4	10,2±0,5 ^y	12,1±1,0	12,4±1,1	12,25±0,9	13±0,98
Ig A	1,48±0,2	1,5±0,08	1,56±0,3	1,54±0,1	1,44± 0,3	1,48±0,09
Ig M	1,42±0,07	1,25±0,03 ^{xy}	1,37±0,06	1,46±0,1	1,4± 0,06	1,5 ± 0,07
Ig G	8,9±1,0	10,3±0,37	9,6±1,0	10,0±0,5	9,2±0,8	9,0±0,5
ЦПК	0,1± 0,01	0,081± 0,006 ^y	0,096± 0,01	0,094± 0,008	0,098± 0,01	0,1± 0,005

^{*} - коэффициент достоверности различий в группе после лечения($p < 0,05$)

^y - коэффициент достоверности различий по сравнению с контрольной группой($p < 0,05$)

^z - коэффициент достоверности различий по сравнению со второй основной группой ($p < 0,05$)

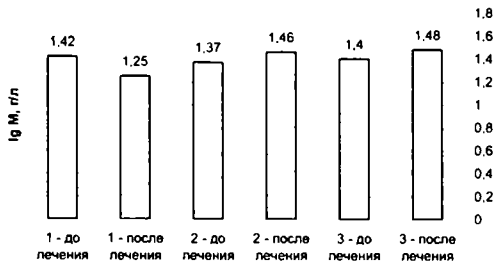
Таблица 3.Влияние различных видов терапии субкомпенсированной формы ХПН на уровень I max (M±m).

Исследуемый показатель	Первая основная группа (n=72)	Вторая основная группа (n=52)	Контрольная группа (n=48)
I max до лечения, отн.люм.ед.	0,39 ± 0,04 ^y	0,38 ± 0,04 ^y	0,4 ± 0,04 ^y
I max после лечения, отн.люм.ед.	0,27 ± 0,04 ^{xy}	0,349 ± 0,05 ^y	0,35 ± 0,06 ^y
I max в норме у здоровых беременных, отн.люм.ед.	0,22 ± 0,025		

^{*} - коэффициент достоверности различий в группе после лечения($p < 0,05$)

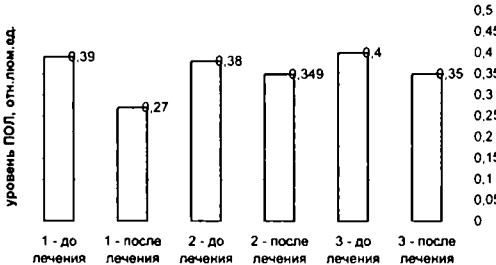
^y - коэффициент достоверности различий по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$)

^x -коэффициент достоверности различий по сравнению с аналогичным показателем здоровых беременных ($p < 0,05$)



1 – первая основная группа, 2 – вторая основная группа, 3 – контрольная группа

Рис. 2. Изменения содержания иммуноглобулина М под влиянием различных видов терапии субкомпенсированной ХПН



1 – первая основная группа, 2 – вторая основная группа, 3 – контрольная группа

Рис. 3. Влияние различных видов терапии субкомпенсированной ХПН на уровень I max

Таблица 4. Влияние различных видов терапии
субкомпенсированной формы ХФПН на уровень ОАОА ($M \pm m$).

Исследуемый показатель, I_{max}/S	Первая основная группа ($n=72$)	Вторая основная группа ($n=52$)	Контрольная группа ($n=48$)
ОАОА до лечения, отн.ед.	$0,064 \pm 0,004^*$	$0,061 \pm 0,003^*$	$0,062 \pm 0,005^*$
ОАОА после лечения, отн.ед.	$0,092 \pm 0,005^{**}$	$0,065 \pm 0,01^*$	$0,063 \pm 0,008^*$
ОАОА в норме у здоровых беременных, отн.ед.	$0,11 \pm 0,006$		

* - коэффициент достоверности различий в группе после лечения ($p < 0,05$)

у - коэффициент достоверности различий по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$)

x - коэффициент достоверности различий по сравнению с аналогичным показателем здоровых беременных ($p < 0,05$)

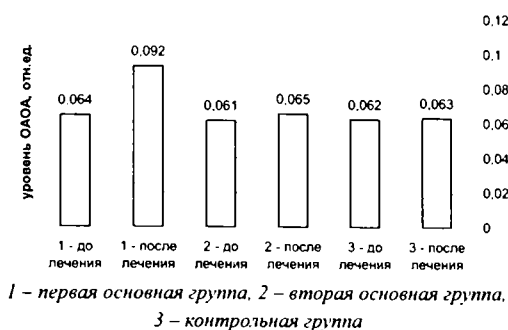


Рис. 4. Влияние различных видов терапии
субкомпенсированной ХПН на уровень ОАОА

одновременным некоторым снижением иммуноглобулина G, было повышено содержание мелких циркулирующих иммунных комплексов.

Концентрация цитотоксических клеток снизилась ($p < 0,05$) и стала достоверно ниже аналогичного показателя контрольной группы, в результате этого ИРИ стал в 1,2 раза больше. Нами также была выявлена тенденция к снижению натуральных киллеров и популяции CD 20+ лимфоцитов.

Не менее эффективное влияние терапия озоном оказала на содержание иммуноглобулинов - уровень Ig M (рисунок 2) достоверно снизился на 10% ($p < 0,05$), концентрация иммуноглобулина G имела тенденцию к увеличению. Терапия ГБО также привела лишь к достоверному снижению содержания ЦИК, в то время как остальные показатели оставались на прежнем уровне. Традиционное лечение не оказало положительного влияния на состояние иммунной системы, отмечалось еще большее

увеличение содержания популяции клеток с фенотипом CD 20+ и иммуноглобулина M.

При субкомпенсированной форме ХПН процессы усиления свободнорадикального окисления с одновременным угнетением АОСЗ были весьма выражены. Так, интенсивность ИХЛ до лечения - I max во всех подгруппах превышала соответствующие значения здоровых беременных в 1,8, показатель ОАОА сыворотки крови был ниже нормы в среднем в 2 раза. Повторное изучение показателей ПОЛ - АОСЗ после проведенного лечения показало, что использование озонотерапии привело к существенным позитивным сдвигам в состоянии ПОЛ и АОСЗ в 83,3% случаев. Так, уровень I max достоверно снизился на 18% в сравнении с исходным (таблица 3, рисунок 3) и составил $0,27 \pm 0,04$ отн.люм.ед. ($p < 0,05$) Аналогичная тенденция выявлена и в отношении активности ОАОА (рисунок 4) сыворотки крови - она достоверно возросла до $0,092 \pm 0,005$ отн.ед. ($p < 0,01$).

При использовании ГБО в комплексном лечении субкомпенсированной ХПН имелась лишь слабая тенденция к снижению показателя I max и усилению активности ОАОА, у 53,8% беременных исследуемые параметры оставались значительно выше физиологических уровней. Традиционная терапия была еще менее эффективной.

Выводы

Таким образом, наши исследования продемонстрировали значительную эффективность озонотерапии в отношении нормализации измененных показателей гемостаза, иммунитета, перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защиты у больных с субкомпенсированной хронической плацентарной недостаточностью, что обосновывает целесообразность использования медицинского озона в комплексном лечении пациенток данной категории. ■