

Показатели гемостаза в оценке активности ревматоидного артрита

С. В. Цвиренко, Е. А. Карбовнича, А. Г. Солодовников, Н. С. Киселева, В. В. Базарный
ГОУ ВПО УГМА Росздрава, Свердловская областная клиническая больница №1, г. Екатеринбург

Hemostasis indices in assessment of rheumatoid arthritis activity

S. V. Tsvirenko, E. A. Karbovnichaya, A. G. Solodovnikov, N. S. Kiseleva, V. V. Bazarny
Ural State Medical Academy, Sverdlovsk Regional Clinical Hospital №1, Yekaterinburg

Резюме

Задачей исследования было определить возможность использования показателей системы гемостаза в оценке активности воспалительного процесса при РА. Исследование основано на результатах лабораторного обследования 104 взрослых пациентов с диагнозом «ревматоидный артрит», установленного в соответствии с критериями Американской коллегии ревматологов. Оценку системы гемостаза проводили на сертифицированном оборудовании стандартизованными методами с использованием реагентов фирмы «Технология-стандарт», Россия. В результате анализа полученных данных выявлено, что повышение активности воспалительного процесса при РА сопровождается увеличением количества тромбоцитов, вторичной тромбоцитопатией, гиперфибриногенемией, значительной тромбинемией, снижением суммарной активности фибринолитической системы без изменения активности физиологических антикоагулянтов. Наиболее информативным тестом в оценке активности процесса при РА является определение уровня фибриногена.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, уровень фибриногена, система гемостаза.

Summary

The goal of research was to define the opportunity of using hemostasis system's indices for estimating activity of inflammation process in case of rheumatoid arthritis (RA). The research is based on results of laboratory examination of 104 adults with RA, diagnosed according to criteria of American Rheumatism Association. The estimation of hemostasis system was conducted by certified equipment with using standardized methods and «Technologia-standart» reagents (Russia). It is found that heightened activity of inflammation in RA is followed by the quantity of platelets increase, by the secondary thrombocytopathy, hyperfibrinogenemia, significant thrombinemia. The total activity of fibrinolytic system is decreased without changing of physiological anticoagulant's activity. The determination of fibrinogen level is the most informative test in estimation the activity of inflammation process in RA.

Key words: rheumatoid arthritis, fibrinogen, hemostasis.

Ревматоидный артрит (РА) — наиболее часто встречающееся в популяции аутоиммунное заболевание. РА встречается во всех странах мира и распространенность его в среднем около 0,7% среди населения всего Земного шара [1]. При этом основным проявлением его считается системное аутоиммунное воспаление синовиальных суставов [2].

В патогенезе РА большое значение отводится системе цитокинов. ФНО и ИЛ-1 запускают продукцию синовиоцитами простагландина Е и протеолитических ферментов, усиление хемотаксиса моноцитов, лимфоцитов, нейтрофилов в полость сустава, а также увеличение прокоагу-

лянтной активности крови [3]. Адекватное ведение больных предполагает определение степени активности РА. Используя совокупность клинических и лабораторных показателей, выделяют четыре степени: нулевая А0 (ремиссия), первая А1 (низкая), вторая А2 (умеренная), третья А3 (высокая). Унифицированных критериев активности РА не существует, и в определении степени активности превалируют субъективные оценки. Обычно учитывают число воспаленных суставов, выраженность артрита, наличие лихорадки, величину СОЭ, С-реактивного белка [4].

Система гемостаза — закономерный участник воспалительной реакции организма и под действием провоспалительных цитокинов происходит увеличение активности прокоагулянтного звена, возрастает гиперкоагуляционный потенциал, нарушается равновесие между компонентами системы гемостаза [5, 6]. В связи с этим задачей исследования стало определить возможность использования показателей системы гемостаза в оценке активности воспалительного процесса при РА.

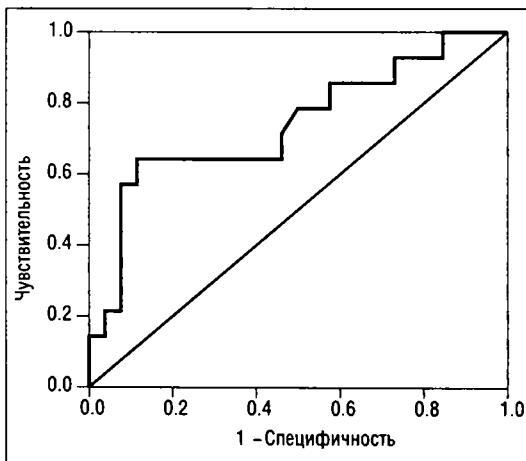
- С. В. Цвиренко — д. м. н., профессор, зав. кафедрой клинической лаб. диагностики ГОУ ВПО УГМА Росздрава;
Е. А. Карбовнича — ОКБ №1, лаборат. отделение, врач;
А. Г. Солодовников — ассистент кафедры семейной медицины ФПК и ПП Уральской гос. мед. академии;
Н. С. Киселева — к. б. н., доцент кафедры клинической лаборат. диагностики ГОУ ВПО УГМА Росздрава.
В. В. Базарный — д. м. н., профессор, кафедра клинической лаб. диагностики ГОУ ВПО УГМА Росздрава.

Материалы и методы

Исследование основано на результатах лабораторного обследования 104 взрослых пациентов с диагнозом «ревматоидный артрит», установленного в соответствии с критериями Американской коллегии ревматологов [7]. Все пациенты находились на стационарном лечении в ревматологическом отделении (зав. — О.Ф. Рябцева) Свердловской областной клинической больницы №1. Возраст пациентов составил от 20 до 78 лет (средний возраст $49,53 \pm 1,31$), из них 87 женщин (83,7%) и 17 мужчин (16,3%); длительность заболевания от 1 года до 42 лет ($10,79 \pm 0,98$). Суставная форма определена у 32 пациентов (30,8%), системные проявления выявлены у 72 (69,2%). В зависимости от степени активности заболевания больные были распределены на 3 группы: 1 группа — 8 (7,7%) больных РА с 1-й (низкой) степенью активности воспалительного процесса (A1), 2-я — 64 (61,5%) пациента со 2-й (умеренной) степенью активности (A2), в 3-я группа — 32 (30,8%) пациента с 3-й (высокой) степенью активности (A3). Серопозитивный вариант диагностирован у 74 пациентов (76%), серонегативный — у 30 (24%). Контрольную группу составили 20 здоровых людей. Исследуемая и контрольная группы достоверно не отличались по половому и возрастному признакам.

Исследование системы гемостаза осуществляли при поступлении в стационар в 1-й день госпитализации. Для оценки тромбоцитарного звена гемостаза у больных определяли: количество тромбоцитов в камере Горяева с использованием фазового контраста, ретракцию сгустка по методу Котовщиковой М. А. и Б. И. Кузник (1961), прокагулянтную активность тромбоцитов по методу V. Rabiner, O. Hrodek (1968), агрегацию тромбоцитов в бо-

Рисунок Характеристическая кривая уровня фибриногена при ревматоидном артрите



гатой тромбоцитами плазме на 2-х канальном агрегометре LA230 Viola (Россия) по изменению светопропускания в ответ на индукторы агрегации: АДФ, коллаген, ристомицин по методу Vogt. Исследование плазменного звена гемостаза осуществляли в бедной тромбоцитами плазме на 4-х канальном коагулометре KG IV Sorgamma (Польша) с использованием реагентов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия). Определяли следующие параметры: активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), протромбиновый тест (ПТ по Квику), тромбиновое время, концентрация фибриногена по Клауссу, концентрация РФМК (ортофенантролиновый тест); активность фактора Виллебранда оценивали по ристоцетинкофакторной активности (РКА) с использованием реагентов фирмы «Ренам» на 2-х канальном агрегометре LA230 Viola (Россия). Для оценки фибринолитической системы определяли активность плазминогена с использованием хромогенного субстрата (реагенты фирмы «Технология — Стандарт (Россия)», фибринолитическую активность крови по методу Котовщиковой М. А., Кузник Б. И. (1971), лизис зуглобулиновой фракции по методу Н. Kowarzik (В. П. Балуда и соавт., 1980). Состояние антикоагулянтной системы оценивали по активности Антитромбина III методом хромогенных субстратов и суммарной активности системы Протеина С с использованием реагентов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия) [8]. Для оценки активности воспалительного процесса СОЭ определяли с помощью микрометода Панченкова, С-реактивный белок (СРБ) латекс-агглютинацией («CRP-slade», «Bioscop», Германия) и методом ИФА («Вектор-Бест», Россия).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программ «Excel» (Windows), «Statistica 6.0», включая методы параметрического и непараметрического анализа. Описательная статистика включала вычисление простой арифметической средней (M), медианы (Me) и межквартильного диапазона ($MKД$). Корреляционный анализ проводили методом ранговой корреляции по Спирмену. Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$. Для построения решающего правила использовали метод логистической регрессии [9].

Результаты исследования и обсуждение

В той или иной степени выраженности изменения наблюдались со стороны всех компонентов системы гемостаза у больных с РА. При исследовании первичного (тромбоцитарного) гемостаза отмечается увеличение количества тромбоцитов (табл. 1). Наиболее значимый рост отмечается при третьей степени активности

Таблица 1. Показатели тромбоцитарного гемостаза при ревматоидном артрите различной степени активности

Параметры	Контроль (n=20) M \pm m	РА, А1 (n=8) M \pm m	РА, А2 (n=64) M \pm m	РА, А3 (n=32) M \pm m
Количество тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	229,73 \pm 13,94 Me=214,00 ИКР:164,00–310,00	267,13 \pm 17,56* Me=265,50 ИКР:243,00–274,00	295,80 \pm 9,69** Me=302,50 ИКР:230,50–345,00	392,73 \pm 25,34*** \wedge Me=363,00 ИКР:316,00–431,00
Прокоагулянтная активность тромбоцитов, %	54,52 \pm 1,87 Me=55,30 ИКР:51,00–59,70	61,47 \pm 3,27 Me=60,20 ИКР:52,90–71,30	61,10 \pm 0,86* Me=61,20 ИКР:56,70–65,90	59,24 \pm 1,33 Me=60,45 ИКР:57,05–64,10
Ретракция сгустка, %	33,53 \pm 2,8 Me=36,00 ИКР:23,00–40,00	27,50 \pm 4,08 Me=23,00 ИКР:18,00–38,00	29,41 \pm 1,39 Me=30,00 ИКР:23,00–36,00	35,43 \pm 2,32 Me=34,50 ИКР:23,00–46,00
Агрегация тромбоцитов на АДФ, %	65,85 \pm 3,46 Me=62,00 ИКР:54,00–76,00	66,33 \pm 3,00 Me=66,30 ИКР:60,70–71,95	50,25 \pm 2,31* Me=51,90 ИКР:40,00–68,00	47,13 \pm 4,36** Me=53,00 ИКР:24,00–66,00
Агрегация тромбоцитов на коллаген, %	73,17 \pm 3,32 Me=73,00 ИКР:69,00–84,00	78,08 \pm 3,98 Me=77,40 ИКР:68,40–71,95	66,61 \pm 1,49* Me=65,00 ИКР:60,70–73,00	62,2 \pm 2,25* Me=61,00 ИКР:53,00–71,00
Агрегация тромбоцитов на ристомидин, %	66,14 \pm 5,17 Me=72,00 ИКР:59,00–82,00	83,73 \pm 3,87 Me=85,50 ИКР:68,40–87,75	62,30 \pm 2,46 Me=65,40 ИКР:54,80–74,70	48,66 \pm 4,54*** \wedge Me=56,00 ИКР:33,00–68,00

Примечание. * – достоверные различия с контролем; ** – достоверные различия с А1, \wedge – достоверные различия с А2.

Таблица 2. Показатели коагуляционного гемостаза при ревматоидном артрите различной степени активности

Параметры	Контроль (n=20) M \pm m	РА, А1(8) M \pm m	РА, А2 (64) M \pm m	РА, А3 (32) M \pm m
АПТВ, с	34,62 \pm 3,07 Me=33,90 ИКР:32,10–36,30	36,59 \pm 1,25 Me=37,05 ИКР:33,70–38,45	36,65 \pm 0,52* Me=36,70 ИКР:33,70–38,35	38,62 \pm 0,88* Me=38,10 ИКР:34,90–41,40
ПТ по Квику, %	95,05 \pm 0,81 Me=96,00 ИКР:92,00–96,00	95,25 \pm 1,41 Me=96,00 ИКР:96,00–96,00	95,19 \pm 0,69 Me=96,00 ИКР:92,00–100,00	93,20 \pm 1,21 Me=95,00 ИКР:89,00–100,00
Фибриноген, г/л	2,91 \pm 0,09 Me=2,96 ИКР:2,65–3,08	3,54 \pm 0,25 Me=3,49 ИКР:2,98–3,74	4,09 \pm 0,15* Me=4,02 ИКР:3,29–4,56	4,62 \pm 0,27*** \wedge Me=4,45 ИКР:3,38–5,51
Тромбиновое время, с	29,74 \pm 0,71 Me=30,00 ИКР:27,00–31,00	30,50 \pm 1,15 Me=29,50 ИКР:28,50–33,50	31,28 \pm 0,56 Me=31,00 ИКР:27,00–34,00	32,46 \pm 1,08 Me=31,50 ИКР:30,00–35,00
Свободный гепарин, с	8,58 \pm 0,42 Me=9,00 ИКР:7,00–10,00	9,38 \pm 0,94 Me=9,50 ИКР:8,00–10,50	8,73 \pm 0,39 Me=8,50 ИКР:7,00–11,00	10,93 \pm 0,77 Me=10,50 ИКР:8,00–14,00
РФМК, мг/дл	0,42 \pm 0,29 Me=0,00 ИКР:0,00–0,00	1,50 \pm 1,02 Me=0,00 ИКР:0,00–2,25	4,77 \pm 0,43* Me=5,50 ИКР:0,00–6,50	6,63 \pm 0,77*** \wedge Me=7,50 ИКР:4,50–9,00
Фактор Виллебранда, %	96,16 \pm 3,13 Me=95,00 ИКР:83,00–104,00	102,00 \pm 11,80 Me=102,00 ИКР:78,00–126,00	108,62 \pm 3,17 Me=109,00 ИКР:94,00–124,00	113,75 \pm 3,17* Me=113,00 ИКР:103,00–127,00

Примечание. * – достоверные различия с контролем; ** – достоверные различия с А1, \wedge – достоверные различия с А2.

процесса (+75,7% по сравнению с контролем), хотя количество тромбоцитов достоверно увеличивается уже при 1-й степени активности (+16,5%, $p < 0,05$). Различия по количеству тромбоцитов в 3-й группе были достоверными относительно второй и первой групп ($< 0,05$).

С увеличением активности воспалительного процесса изменяется функциональная активность тромбоцитов. Отмечается тенденция увеличения прокоагулянтной активности тром-

боцитов (ПАТ) при А1. Значимый прирост ПАТ определяется при 2-й степени активности (+12,3%, $p < 0,05$). Изменения ретракции сгустка статистически недостоверны. Агрегационный ответ тромбоцитов на все стандартные индукторы возрастает несколько при 1-й степени активности, а при 2-й и 3-й степени активности снижается относительно контроля, при этом наиболее значимое снижение агрегации отмечается при 3-й степени: на АДФ агрегация сни-

зилась на 28% относительно контроля ($p < 0,05$), на ристомицин снижение достигает 26,5% ($p < 0,05$). В целом эти изменения характеризуют гиперактивацию тромбоцитов в начальной фазе воспаления и угнетение активности тромбоцитов при более высокой степени воспаления. Это обусловлено, скорее всего, блокирующим влиянием растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) при активации системы гемостаза на рецепторы тромбоцитов в условиях нарастания воспалительных реакций.

Изменения плазменного гемостаза при РА выраженные и зависят от степени активности процесса (табл. 2). Активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ) с увеличением активности процесса удлиняется, при 2-й степени на 6,1% ($p < 0,05$), при 3-й — на 11,6% ($p < 0,05$).

Протромбиновый тест не изменялся в зависимости от степени активности по отношению к контролю, так же как и тромбиновое время. Некоторое возрастание концентрации фибриногена отмечается уже при 1-й степени активности (+21,4%, $p > 0,05$). По мере увеличения активности РА изменения этого показателя становятся более выраженными: при 2-й — прирост на 40,5% ($p < 0,05$), при 3-й — на 58,8%

относительно контроля ($p < 0,05$). С увеличением активности процесса увеличивается и уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) — маркеров избыточной активации прокоагулянтов. При 3-й степени уровень РФМК достигает $6,63 \pm 0,77$, достоверно различаясь с контрольным уровнем и уровнем РФМК при 1 и 2-й степени активности. Активность фактора Виллебранда возрастает с повышением активности процесса и достигает статистически достоверного увеличения при 3-й степени активности (+18,3%, $p < 0,05$). Изменения плазменных компонентов системы гемостаза свидетельствуют о нарастании гиперкоагуляции и возникновении протромботического состояния, выраженность которых увеличивается с увеличением активности РА.

Система физиологических антикоагулянтов, оцениваемая по активности основных компонентов антитромбина III и системы протеина С у больных РА различной степени активности остается практически неизменной (табл. 3). Активность антитромбина III у больных с 3-й степенью активности достоверно, но лишь на 5,8% выше, чем к контролю.

Статистически значимых изменений активности основного фермента фибринолитической

Таблица 3. Показатели антикоагулянтной системы при ревматоидном артрите различной степени активности

Параметры	Контроль (n=20) M±m	РА, A1 (n=8) M±m	РА, A2 (n=64) M±m	РА, A3 (n=32) M±m
Антитромбин III, %	102,16±1,4 Me=102,00 ИКР:97,00–105,00	103,75±6,68 Me=104,50 ИКР:87,00–120,50	105,34±1,95 Me=104,00 ИКР:97,00–112,00	108,1±2,26* Me=109,50 ИКР:99,00–115,00
Протейн С (скрининг), ИО	1,02±0,06 Me=0,99 ИКР:0,81–1,13	1,08±0,19 Me=0,86 ИКР:0,69–1,70	0,97±0,03 Me=0,98 ИКР:0,77–1,16	0,98±0,06 Me=0,82 ИКР:0,76–1,21

Таблица 4. Показатели фибринолитической системы при ревматоидном артрите различной степени активности

Параметры	Контроль (n=20) M±m	РА, A1 (n=8) M±m	РА, A2 (n=64) M±m	РА, A3 (n=32) M±m
Плазминоген	109,58±4,03 Me=108,00 ИКР:92,00–118,00	92,14±4,85 Me=92,00 ИКР:75,00–104,00	109,26±2,11 ¹ Me=108,00 ИКР:97,00–117,00	117,15±5,85 Me=114,50 ИКР:99,00–132,00
Лизис зуглобулиновой фракции	234,74±10,74 Me=240,00 ИКР:180,00–300,00	243,75±21,51 Me=255,00 ИКР:180,00–300,00	271,67±7,79 Me=300,00 ИКР:240,00–300,00	288,97±10,62* Me=300,00 ИКР:260,00–300,00
Фибринолитическая активность цельной крови	10,07±0,90 Me=10,40 ИКР:5,80–12,50	10,47±2,69 Me=7,65 ИКР:5,55–13,15	7,53±0,54* Me=6,30 ИКР:4,60–10,30	6,22±0,75* Me=5,05 ИКР:4,30–6,40

Примечание. * — в таблице 4 и 4 достоверные различия с контролем.

Таблица 5. Качество прогноза активности ревматоидного артрита по уровню фибриногена

Степень активности	Прогноз		
	A1 – 2	A3	% правильно классифицированных
Активность A1+A2	23	3	88,5
Активность A3	5	9	64,3
Итого: доля правильных	80,0		

системы плазминогена у больных РА при различной степени активности не обнаружено (табл. 4). Можно отметить лишь тенденции снижения его активности при А1 РА (-16,4%, $p > 0,05$) и увеличения при А3 (+7,4%, $p > 0,05$) по сравнению с контролем.

Показатели системы фибринолиза, характеризующие суммарную активность, свидетельствуют о замедлении фибринолиза. Суммарная фибринолитическая активность крови достоверно снижена при 2-й и 3-й степени активности ($p < 0,05$), а лизис эуглобулиновой фракции, характеризующий активность активаторов плазминогена, замедлен при 3-й степени активности на 23,5% ($p < 0,05$).

Полученные нами данные в целом согласуются с результатами, полученными ранее [10-13] и детализируют изменения в системе гемостаза при РА. Однако большинство авторов не установили связь изменений показателей гемостаза со степенью активности процесса. Только в одной работе отмечена корреляция уровня фибриногена и РФМК с величиной СОЭ и СРБ [11].

При проведении статистического анализа полученных результатов выявлено, что следующие три переменные имеют значимое отклонение от линии безразличия на характеристической кривой (площадь под кривой достоверно больше 50%): уровень фибриногена ($p = 0,013$), концентрация РФМК ($p = 0,004$), агрегация тромбоцитов на ристомидин ($p = 0,023$).

Применение модели логистической регрессии к выбранным показателям выявило противоречивость модели: при включении любых двух показателей из трех взаимно теряется их статистическая значимость при сохранении таковой при включении одного показателя. Для ликвидации противоречий показатели были заменены их пороговыми значениями, вычисленными по характеристическим кривым: фибриноген — 4,85 г/л и выше; РФМК — 5,75 мг/дл и выше; агрегация тромбоцитов на ристомидин — 65,65% и ниже.

Выявлено, что при использовании логистической регрессии для анализа пороговых значений показатели: РФМК и агрегация тромбоцитов на ристомидин оказались незначимыми.

Таким образом, единственным значимым фактором в оценке активности воспалительного процесса при РА оказался уровень фибриногена. Характеристическая кривая, характеризующая его диагностическую ценность, приведена на рисунке. Использование порогового значения уровня фибриногена позволяет дифференцировать А1-2 и А3 при РА с приемлемыми диагностическими характеристиками: специфичность — 64,3%, чувствительность — 88,5%, диагностическая эффективность — 80,0% (табл. 5). Полученные результаты анали-

за свидетельствуют, что уровень фибриногена крови 4,85г/л и выше позволяет при прочих равных условиях предполагать, что у пациента 3-я степень активности, а не первая-вторая.

Выводы

1. У больных РА со стороны системы гемостаза наблюдаются различной степени выраженности разнонаправленные изменения: возрастает уровень фибриногена, увеличивается количество тромбоцитов со снижением их агрегационной активности, при неизменных хронометрических параметрах коагуляционного гемостаза усиливаются признаки тромбинемии, угнетается суммарная активность системы фибринолиза при нормальном уровне основного фермента плазминогена.

2. Повышение активности воспалительного процесса при РА сопровождается увеличением количества тромбоцитов, вторичной тромбоцитопатией, гиперфибриногенемией, значительной тромбинемией, снижением суммарной активности фибринолитической системы без изменения активности физиологических антикоагулянтов.

3. Анализ логистической регрессии исследованных показателей системы гемостаза свидетельствует, что наиболее информативным тестом в оценке активности процесса при РА является определение уровня фибриногена.

4. Определение показателей различных звеньев системы гемостаза дает дополнительную информацию в оценке активности воспалительного процесса у больных РА.

Литература

1. Сигидин Я. А., Гусева Н. Г., Иванова М. М. Диффузные болезни соединительной ткани: Рук-во для врачей. М.: Мед, 2004.
2. Насонов В. А., Астапенко М. Г. Клиническая ревматология: Руководство для врачей. М.: Медицина, 1989.
3. Gravalles E. M., Goldring S.R. Cellular mechanisms and the role of cytokines in bone erosions in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2000; 43: 2143-51.
4. Мазуров В. И., Лила А. М. Ревмато. артрит. СПб: 2000.
5. Козинцев И. Г., Макарова В. А. Исследование системы крови в клинической практике. М.: Триада-Х; 1997.
6. Зубаиров Д. М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань: ФЭН, 2000.
7. Arnett F. C., Edworthy D. A., Bloch et al. The American Rheumatism Association 1997 revised criteria for classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987; 31: 315-24.
8. Меньшиков В. В. Клиническая лабораторная диагностика. М.: Лабпресс; 2000.
9. Гланц С. Медико-биолог. статистика. М.: Практика, 1998.
10. Коломиец Л. М. Состояние системы гемокоагуляции при ревматоидном артрите. *Врач. дело.* 1974; 9: 47-9.
11. Комаров Ф. И., Бокарев И. Н., Ершов В. Н., Дьячкова И. М., Смоляничай А. Я., Крель А. А. Роль системы гемостаза в патогенезе ревмат. артрита. *Тер. архив.* 1975; 11: 25-9.
12. Редайтене Э., Дадонене И., Кирдайте Г., Марцюшкевич Э., Шапока В. Состояние системы гемостаза у больных ревматоидным артритом. *Тер. архив.* 2005; 4: 74-7.
13. Бутунина Н. А. Диагностическая информативность исследований системы гемостаза у больных ревматоидным артритом. Дисс.на соискание ученой степени кандидата медицинских наук|Саратов: 1-122.