

## ВЛИЯНИЕ ГИРУДОТЕРАПИИ НА ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ И НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

О.А.Захарова, В.В.Горбунов, И.В. Росин

(Читинская государственная медицинская академия, ректор — д.м.н., проф. А.В. Говорин; кафедра пропедевтики внутренних болезней, зав. — д.м.н. В.В.Горбунов).

**Резюме.** Проводилось исследование эндотелиальной дисфункции и некоторых показателей гемостаза у больных ревматоидным артритом. Всего обследовано 63 человека (средний возраст  $42,3 \pm 3,7$  года). Гирудотерапия положительно влияет на некоторые показатели коагуляционного гемостаза, нормализует эндотелиальную функцию и вызывает лучший клинический эффект у данной категории пациентов.

**Ключевые слова.** Ревматоидный артрит, гирудотерапия, гемостаз, эндотелиальная дисфункция.

Ревматоидный артрит (РА) — это заболевание, поражающее в основном лиц молодого возраста, характеризующееся агрессивностью течения, неуточненностью этиопатогенеза [13]. Распространенность РА в популяции колеблется от 0,5 до 1%, через 10-15 лет от начала болезни около 90% пациентов теряют трудоспособность, а 1/3 становится инвалидами, более 25% больных нуждаются в дорогостоящем консервативном или оперативном лечении [14].

Согласно современным представлениям РА рассматривается как хроническое воспалительное заболевание с прогрессирующим поражением преимущественно периферических суставов по типу симметричного прогрессирующего эрозивно-деструктивного полиартрита [13]. В патогенезе суставных и некоторых внесуставных поражений большое значение имеют нарушения функциональных свойств эндотелия [15].

Эндотелиальные клетки выполняют транспортную, барьерную функции, участвует в биосинтезе цитокинов, ангиогенезе, в метаболизме внеклеточного матрикса, регулируют процессы свертывания крови и агрегации тромбоцитов, сосудистый тонус и иммуновоспалительные реакции. В случае нарушения функций эндотелиальных клеток говорят о развитии дисфункции эндотелия.

В генезе эндотелиальной дисфункции при РА основная роль принадлежит прямому поражению сосудов, в основе которого лежит иммунное воспаление [7,15]. Воспаление является следствием биохимических и иммунологических процессов, регулирующих рядом гуморальных медиаторов, среди которых огромное значение имеют цитокины [8]. К основным факторам, приводящим к дисфункции эндотелия, относится нарушение равновесия между провоспалительными (фактор некроза опухоли альфа, интерлейкин(ИЛ)-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и др.) и противовоспалительными (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинами.

Участвуя в поддержании гемостаза, эндотелий выполняет антитромбогенную функцию, обладает антиагрегационной, антикоагулянтной, фибринолитической активностью, обусловленной синтезом в эндотелиальных клетках простациклина, оксида азота, антитромбина III и активатора плазминогена. При ревматоидном артрите происходит повышение агрегационной активности тромбоцитов. Снижение антитромбогенной ак-

тивности стенки сосудов усиливает тромбогенез. [2,3,7,9]. Образование стойких тромбоцитарных агрегатов в микроциркуляторном русле приводит к замедлению скорости кровотока и ухудшению реологических свойств крови, что имеет важное значение в патогенезе ревматоидного васкулита [1]. Нарушения гемостаза у больных РА могут достигать степени хронического диссеминированного внутрисосудистого свертывания [4,5], что ведет к нарушению микроциркуляции крови, способствует хронизации и прогрессированию воспаления [1, 6,11].

Имеются единичные литературные данные, указывающие на роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе РА [10], вместе с тем, механизмы эндотелиальной дисфункции, способы патогенетической коррекции до сих пор остаются плохо изученными.

Несмотря на комплексность подходов к коррекции расстройств у больных РА, основным методом лечения выступает медикаментозное, которое зачастую характеризуется множеством побочных эффектов, осложнений, высокой стоимостью лечения, формированием резистентности к препаратам.

Гирудотерапия стала чаще использоваться в ревматологической практике, как метод, характеризующийся поливалентным действием, безопасный и экономически выгодный.

В связи с вышеизложенным целью настоящей работы было изучить влияние секрета медицинской пиявки на состояние эндотелия (по J. Hladovec) [12], некоторые показатели гемостаза у больных суставной формой РА.

### Материалы и методы

Обследовано 63 человека, находившихся на лечении в ревматологическом отделении НУЗ Дорожной клинической больницы ст. Чита-2. Из них 39-больные суставной формой РА, средний возраст составил  $42,3 \pm 3,7$ , средняя длительность заболевания  $11, 4 \pm 5,4$  года; и 24 — здоровые, которые составили контрольную группу. Средний возраст  $31,4 \pm 5,3$  года. Все больные были распределены на две группы: первая группа ( $n=20$ ) получала базисную терапию, второй ( $n=19$ ) дополнительно проводилась гирудотерапия в количестве 5 сеансов через день.

Состояние эндотелиальной функции оценивали по количеству десквамированных эндотелиальных клеток по методу J. Hladovес.

Критериями исключения было наличие сопутствующей патологии, такой как гипертоническая болезнь, ИБС, эндокринные заболевания. Всем больным до и после лечения проводился подсчет десквамированных эндотелиальных клеток по методу J. Hladovес. Метод основан на изоляции клеток вместе с тромбоцитами с последующим осаждением тромбоцитов с помощью аденозиндифосфата (АДФ). Кровь из локтевой вены брали утром натощак в количестве 5 мл. В качестве стабилизатора добавляли 3,8% лимоннокислый натрий в соотношении 1:9. Для получения богатой тромбоцитами плазмы сразу после взятия кровь центрифугировали 10 мин при 1000 об/мин. Затем 1 мл плазмы смешивали с 0,2 мл натриевой соли аденозиндифосфата в концентрации 1 мг/мл. Полученную смесь механически перемешивали в течение 10 мин аккуратным встряхиванием пробирок, после чего вновь центрифугировали в прежнем режиме для удаления агрегатов тромбоцитов. Свободный от тромбоцитов супернатант переносили в другую емкость и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин для осаждения эндотелиальных клеток. Затем надосадочную плазму аккуратно удаляли, а полученный осадок суспендировали в 0,1 мл 0,9% раствора хлорида натрия и перемешивали стеклянной палочкой. Готовой суспензией заполняли камеру Горяева и подсчитывали эндотелиоциты в 2 сетках камеры методом фазово-контрастной микроскопии. Учитывая соотношение между количеством клеток в сетке и объемом камеры Горяева, объема полученной суспензии и объема плазмы, при подсчете количества эндотелиальных клеток результат умножали на  $10^4/\text{л}$ .

Для оценки динамики некоторых показателей гемостаза у всех больных до и после лечения исследовалось время свертывания крови, длительность кровотечения, протромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), международное нормализованное отношение (МНО), уровень фибриногена.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась при помощи электронных таблиц EXCEL 2000 для Windows, применялся t-критерий Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

Установлено, что в обеих группах наблюдения в абсолютном большинстве случаев выявлялась эндотелиальная дисфункция, определяемая по количеству десквамированных эндотелиоцитов в 94% и 91% соответственно. В первой группе количество десквамированных эндотелиоцитов составило  $5,7 \pm 1,6 \times 10^4/\text{л}$ , во второй  $4,6 \pm 1,2 \times 10^4/\text{л}$ , что в среднем в два раза больше, чем в контрольной группе ( $2,2 \pm 0,4 \times 10^4/\text{л}$ ). В группе пациентов с РА, которым в комплексном лечении проводилась гирудотерапия, в 73 % была отмечена нормализация количества десквамированных эндотелиальных клеток, чего не наблюдалось у больных первой

группы, которые получали только базисную терапию (таб. № 1).

Таблица 1

Содержание десквамированных эндотелиоцитов у больных ревматоидным артритом (количество клеток  $\cdot 10^4/\text{л}$ ). (M $\pm$  SD)

| Сравниваемые группы                                             | Эндотелиоциты до лечения | Эндотелиоциты после лечения |
|-----------------------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| Больные, получавшие только базисную терапию (n=20)              | $5,7 \pm 1,6$            | $4,6 \pm 1,2$               |
| Больные, которым дополнительно проводилась гирудотерапия (n=19) | $6,8 \pm 1,9$            | $2,9 \pm 0,7^*$             |
| Здоровые, (n=24)                                                | $2,2 \pm 0,4$            |                             |

Примечание.\* —  $p < 0,05$

До начала лечения у 78,1% пациентов обеих групп была отмечена гиперкоагуляция: укорочение времени свертывания крови, АЧТВ, уменьшение длительности кровотечения, протромбиновое время, увеличение уровня фибриногена. При изучении динамики показателей гемостаза на фоне проводимого лечения было установлено, что при включении в комплексную терапию РА гирудотерапии происходила нормализация некоторых показателей гемостаза: достоверно удлинялось время свертывания крови (в 2,5 раза), АЧТВ (в 1,5 раза), увеличивалась длительность кровотечения (в 1,6 раза), уменьшалось время рекальцификации плазмы (в 1,1 раза) и уровень фибриногена (в 1,25 раза). В группе больных, получавших только базисную терапию, достоверного улучшения показателей гемостаза не было выявлено (табл. № 2).

При оценке влияния базисной терапии и гирудотерапии при РА на маркеры острой фазы воспаления отмечалось достоверное снижение СОЭ в обеих группах. Как видно из таблицы, у пациентов 2 группы (получивших так же гирудотерапию) происходило снижение уровня лейкоцитов, фибриногена, СРБ и сиаловых кислот, в отличие от больных первой группы.

Необходимо отметить, что во второй группе больных (где дополнительно проводилась гирудотерапия) выявлена лучшая клиническая эффективность (утренняя скованность, локальные изменения, интенсивность боли по визуально-аналоговой шкале (ВАШ)). Так, на фоне лечения у больных второй группы отмечалось уменьшение болевого синдрома по ВАШ на 62%, тогда как в первой группе данный показатель изменился лишь на 33% ( $p < 0,05$ ).

В нашем исследовании установлено, что в патогенезе РА важная роль принадлежит эндотелиальной дисфункции, что, вероятно связано с нарушением равновесия между провоспалительными (фактор некроза опухоли альфа, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и др.) и противовоспалительными (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинами [8]. Эндотелий, участвуя, в поддержании гемостаза, выполняет антитромбогенную функцию. Снижение антитромбогенной активности стенки сосудов усиливает тромбогенез. Наблюдаемая при РА гиперкоагуляция (укорочение времени свертывания крови, АЧТВ, уменьшение длительности кровотечения, протромбиново-

Таблица 2

Динамика показателей гемостаза у больных РА с учетом проводимой терапии (M± SD)

| Показатель                   |               | Больные, получавшие базисную терапию (n=20) | Больные, которым дополнительно проводилась гирудотерапия (n=19) | Здоровые (n=24) |
|------------------------------|---------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------|
| Время свертывания крови, с.  | До лечения    | 4,85±2,4                                    | 3,181±0,06                                                      | 5,06±0,6        |
|                              | После лечения | 5,62±1,9                                    | 7,97±1,2*                                                       |                 |
| Длительность кровотечения    | До лечения    | 26,89±5,4                                   | 25,3±4,2                                                        | 31,2±1,3        |
|                              | После лечения | 35,33±6,7*                                  | 41±8,3*                                                         |                 |
| Фибринген, г/л               | До лечения    | 0,95±0,36                                   | 0,80±0,19                                                       | 0,98±0,08       |
|                              | После лечения | 0,77±0,3                                    | 0,64±0,11*                                                      |                 |
| АЧТВ                         | До лечения    | 24,67±2,6                                   | 30,6±5,3                                                        | 33,6±1,1        |
|                              | После лечения | 33,33±4,8*                                  | 46,1±5,02*                                                      |                 |
| МНО                          | До лечения    | 1,42±0,68                                   | 1,40±0,48                                                       | 1,38±0,02       |
|                              | После лечения | 2,27±0,61                                   | 3,52±0,49                                                       |                 |
| ПТИ, %                       | До лечения    | 96,11±12,1                                  | 92,7±4,4                                                        | 98,6±3,4        |
|                              | После лечения | 92,78±11,1                                  | 92,7±3,9                                                        |                 |
| Время рекальцификации плазмы | До лечения    | 113,56±9,5                                  | 125,1±7,9                                                       | 127,4±3,4       |
|                              | После лечения | 108,22±8,3                                  | 109,6±6,8*                                                      |                 |

Примечание \* — p&lt;0,05

Таблица 3

Динамика общевоспалительных изменений крови и маркеров острой фазы воспаления (M± SD)

| Показатель                       |               | Больные, получавшие базисную терапию (n=20) | Больные, которым дополнительно проводилась гирудотерапия (n=19) | Здоровые (n=24) |
|----------------------------------|---------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------|
| Лейкоциты, x 10 <sup>9</sup> г/л | До лечения    | 6,07±1,5                                    | 5,8±0,8                                                         | 5,6±1,4         |
|                                  | После лечения | 5,38±1,03                                   | 4,45±0,7*                                                       |                 |
| СОЭ, мм/ч                        | До лечения    | 32,1±5,7                                    | 37,2±14,4                                                       | 6,3±1,4         |
|                                  | После лечения | 25,8±7,8*                                   | 24,2±7,3*                                                       |                 |
| Фибриноген, г/л                  | До лечения    | 0,81±0,29                                   | 0,85±0,16                                                       | 0,64±0,04       |
|                                  | После лечения | 0,65±0,02                                   | 0,63±0,15*                                                      |                 |
| СРБ                              | До лечения    | 16,62±2,6                                   | 47,47±1,7                                                       |                 |
|                                  | После лечения | 7,08±1,3                                    | 7,04±1,23*                                                      |                 |
| Сиаловые кислоты                 | До лечения    | 204,33±43,2                                 | 221,8±30,1                                                      |                 |
|                                  | После лечения | 178,78±20,8                                 | 175±16,9*                                                       |                 |

Примечание \* — p&lt;0,05

го времени, увеличение уровня фибриногена) тесно взаимосвязана с эндотелиальной дисфункцией и воспалением. Нами продемонстрирована высокая клиническая эффективность и положительные эффекты гирудотерапии на состояние эндотелия и гемостаз у больных ревматоидным артритом.

Таким образом, гирудотерапия является высоко-

коэффициентным и патогенетически обоснованным методом терапии в комплексном лечении РА. Применение секрета медицинской пиявки у данной категории больных приводит к нормализации функции эндотелия, уменьшению активности воспалительного процесса и нормализации процессов гемостаза.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Балабанова Р.М. Ревматоидный артрит. Ревматические болезни. /Под ред. В.А. Насоновой, Н.В. Бунчука. — М.: Медицина, 1997. — С. 257-294.
2. Балуда В.П., Балуда М.В., Деянов И.И., Теплухов И.К. Физиология системы гемостаза. — М.: Медицина, 1995.
3. Киричук В.Ф., Свистунов А.А., Глыбочко П.В. Механизм сосудистотромбоцитарного звена гемостаза: клинко-физиологические аспекты. — Саратов: Сарат. мед.ун-т, 1998.
4. Крашутский В.В. ДВС-синдром в клинической медицине // Клин. мед. — 1998. — № 3. — С. 8-14.
5. Кузнецов Ю.А. Реологические изменения крови и диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС) при системных васкулитах // Тер. арх. — 1985. — № 8. — С. 139-143.
6. Насонов Е.Л., Баранов А.А., Шилкина Н.П., Алекберова З.С. Патология сосудов при антифосфолипидном синдроме (клиника, диагностика, лечение). — М.: Ярославль, 1995.
7. Насонов Е.Л., Сура В.В. Взаимосвязь аутоиммунной и иммунокомплексной патологии: Современное состояние проблемы // Тер. арх. — 1989. — № 10. — С. 4-10.
8. Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю., Тилз Г. и др. Растворимые молекулы адгезии при ревматоидном артрите // Тер. арх. — 1999. — № 5. — С. 17-20.
9. Разумов В.Б., Гуткина А.Б., Омеляновский

В.В. Механизмы активации тромбоцитов возможности их фармакологической регуляции // Кардиология. — 1988. — № 5. — С. 118-122.

10. Ребров А.П., Инамова О.В. Предпосылки развития эндотелиальной дисфункции при ревматоидном артрите // Тер. арх. — 2004. — № 5. — С. 79-85.

11. Яковлев В.М., Новиков А.И. Сосудистый эндотелий и хламидийная инфекция. — М.: Медицина, 2000.

12. Hladovek J. Circulating endothelial cells as a sign of vessel wall lesions // Physiologia bohemoslova. — 1978. — Vol. 27. — P.140-144.

13. Kuryliszyn — Moskal A., Bernacka K., Klimiuk P. A. / Clin. Rheumatol. — 1996. — Vol. 15(4). — P. 367-373.

14. Pincus T., Smolen J.S., eds. Early arthritis. // Clin. Exp. Rheumatol. — 2003. — Vol. 21 (suppl. 31).

15. Vosknyl A.E. Vasculitis in rheumatoid arthritis. — Leiden, 1998.

## HIRUDOTHERAPY INFLUENCE ON ENDOTHELIAL FUNCTION AND BLOOD COAGULATION IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

O.A. Zacharova, V.V. Gorbunov, I.V. Rosin  
(Chita State Medical Academy)

The endothelial function and blood coagulation in patients with rheumatoid arthritis — were investigated. We examined 63 patients (age  $42,3 \pm 3,7$  years). Hirudotherapy contributes to decrease of procoagulation activity of blood, normalizes endothelial function and causes the best clinical effect in these patients.

© УШАКОВА О.В., ШАПИРО И.А. — 2006

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УРОВНЯ КОМПЕНСАЦИИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА НА РИСК РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

О.В. Ушакова, И.А. Шапиро  
(Институт повышения квалификации специалистов здравоохранения,  
ректор — д.м.н., проф. С.Ш. Сулейманов)

**Резюме.** Цель проводимого исследования было установление и описание зависимости между степенью компенсации углеводного обмена у больных СД и частотой развития/прогрессирования диабетических осложнений. Проведенное исследование убедительно продемонстрировало имеющуюся зависимость абсолютного риска развития и прогрессирования хронических сосудистых осложнений в зависимости от уровня HbA1c. В результате математического анализа получены линейные регрессионные уравнения, которые описывают влияние изменений уровня HbA1c на АР развития и прогрессирование диабетической ретинопатии, нефропатии и невропатии и позволяют смоделировать прогноз течения СД в зависимости от степени поддерживаемой компенсации в популяции в целом.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, диабетическая ретинопатия, диабетическая нефропатия, диабетическая невропатия, гликозилированный гемоглобин HbA1c.

Сахарный диабет (СД) представляет собой классическую модель поражения микро- и макро-сосудистого русла, что проявляется в развитии типичных осложнений этого заболевания: диабетической ретинопатии у 80–90% больных, диабетической нефропатии у 35–40% больных, диабетической невропатии у 60–70% больных. Частота, тяжесть и прогрессирование осложнений связаны со степенью гипергликемии и обусловленными ею метаболическими нарушениями [3].

Цель: Разработать математическую модель прогноза развития и прогрессирования осложнений у больных СД в зависимости от степени компенсации углеводного обмена.

### Материалы и методы

Для разработки математического моделирования прогноза развития осложнений у больных СД использовались результаты рандомизированных контролируемых исследований любых вмешательств с длительностью не менее трех лет, направленных на снижение уровня HbA1c, если в них сообщалось о частоте развития и прогрессирования диабетической ретинопатии, нефропатии, невропатии. Выбор данных проводился по характеристике исследований и больных; клиническим исходам.

С этой целью использовалась база данных MEDLINE (с 1990 г. по январь 2005 г.), Cochrane Library, EMBASE, библиографические списки в

статьях по соответствующей тематике.

Разработка математической модели прогноза частоты развития и прогрессирования хронических сосудистых осложнений в зависимости от уровня компенсации углеводного обмена у больных СД1 включала в себя несколько этапов:

— определение по результатам рандомизированных контролируемых исследований частоты развития и прогрессирования диабетической ретинопатии, нефропатии и невропатии в зависимости от уровня HbA1c;

— проведение корреляции между значением HbA1c и частотой развития и прогрессирования хронических сосудистых осложнений;

— расчет коэффициентов зависимости между частотой развития и прогрессирования хронических сосудистых осложнений от уровня HbA1c;

— составление уравнения прогноза частоты развития и прогрессирования хронических сосудистых осложнений в зависимости от уровня HbA1c с последующим построением графического изображения.

Временные параметры развития хронических сосудистых осложнений в проводимых исследованиях были сопоставимы ( $p > 0,1$ ), поэтому были исключены из рассматриваемых факторов, влияющих на частоту развития и прогрессирования хронических осложнений.

Частота развития и прогнозирования хронических сосудистых осложнений (диабетическая