

УДК 616.831-005.4/8:616.155.2

Ю. И. СТЕПАНОВА<sup>1</sup>, И. А. ГОНЧАР<sup>2</sup>, С. А. ЛИХАЧЕВ<sup>2</sup>, В. С. КАМЫШНИКОВ<sup>1</sup>

### АГРЕГАТОМЕТРИЯ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ИНФАРКТЕ МОЗГА

<sup>1</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск,

<sup>2</sup>Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 20.07.2011)

**Введение.** Основными причинами развития острых и хронических ишемических нарушений мозгового кровообращения являются атеросклеротические поражения церебральных артерий, артериальная гипертензия и нарушение сердечного ритма [1, 2]. Прогрессирование атеросклеротического процесса вызывает повреждение структурной целостности интимы стенки церебральных артерий, активацию сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и изменение реологических свойств крови [3, 4].

В отечественной и зарубежной литературе отражена роль реологических и гемостазиологических сдвигов при основных патогенетических подтипах инфаркта головного мозга (ИГМ) [5, 6]. Метод оптической агрегатометрии тромбоцитов в настоящее время является «золотым стандартом» исследования первичного гемостаза [7, 8]. Он позволяет выявлять большинство видов тромбоцитопатий, в том числе диагностировать болезнь Виллебранда, тромбастению Гланцмана, а также проводить контроль эффективности антитромбоцитарной терапии [9]. Вместе с тем результаты ранее проведенных исследований состояния сосудисто-тромбоцитарного гемостаза при остром ишемическом инсульте достаточно противоречивы [2, 4, 10]. Можно полагать, что различия в полученных отдельными авторами данных обусловлены множеством причин, в том числе: обследованием больных в разные сроки развития ишемического инсульта, несоблюдением требуемых условий взятия крови, использованием разных параметров агрегации и вызывающих ее индукторов.

Цель работы – изучение агрегационной способности тромбоцитов в динамике острого периода ИГМ с использованием отечественного оборудования для оптической агрегатометрии и с соблюдением необходимых условий стандартизации выполнения всего цикла клинико-лабораторного исследования.

**Материалы и методы исследования.** В период с января по май 2011 г. обследовано 20 пациентов (11 мужчин, 9 женщин) с острым ИГМ, поступивших в течение 48 ч от развития симптоматики в 1-е неврологическое (инсультное) отделение Городской клинической больницы скорой медицинской помощи г. Минска. Средний возраст пациентов составил  $76,4 \pm 4,69$  года. В контрольную группу были включены 10 здоровых добровольцев (средний возраст  $65,8 \pm 3,73$  года) без неврологических, онкологических, воспалительных заболеваний, не принимавших анти-тромбоцитарные препараты за 10 сут до лабораторного исследования.

По данным компьютерной томографии и/или магнитно-резонансной томографии головного мозга, у всех пациентов с ишемическим инсультом наблюдался стойкий неврологический дефицит без признаков внутричерепного кровоизлияния.

В ходе исследования выясняли жалобы, анамнез, а также факторы риска развития острого нарушения мозгового кровотока. Проводили физикальное обследование больных с оценкой неврологического дефицита по Шкале инсульта Национального института здоровья (NIHSS) и мо-

дифицированной Шкале Рэнкина (мШР). Пациентам выполняли общий и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, коагулограмму, 12-канальную ЭКГ, рентгенографию грудной клетки, осмотр глазного дна.

Степень атеротромботического поражения артерий устанавливали с помощью дуплексного исследования на системе Acuision Cypress<sup>TM</sup> (производитель Siemens Medical Solutions, США), оснащенной линейным датчиком с частотой 3–7 МГц. При оценке мозговой гемодинамики использовали транскраниальный доплер INTRA-View<sup>TM</sup> фирмы Rimed Ltd с датчиками частотой 2 и 4 МГц.

Оптическую агрегатометрию тромбоцитов проводили до лечения (в 1-е сутки поступления в стационар) и на 10-е сутки лечения и осуществляли по методике G. Vorn [11] с применением агрегометра AP-2110 («Солар», Беларусь). В качестве индуктора агрегации использовали раствор аденозиндифосфата (АДФ) в концентрации 0,5 и 2,0 мкмоль/л, а также коллаген. Для проведения агрегатометрии с 8.00 до 8.30 ч больным натошак выполнялся забор крови, которую стабилизировали 3,8%-ным раствором цитрата натрия в соотношении 1:9. Время от развития инициальных симптомов ИГМ до первого забора крови не превышало 48 ч.

После поступления в инсультное отделение пациентам назначали гипотензивные препараты – ингибиторы АПФ (эналаприл 5–10 мг 2 раза в сутки, лизиноприл 5–10 мг 2 раза в сутки) и мочегонные (гипотиазид 12,5–25,0 мг утром, индапамид 2,5 мг утром). Четверем больным дополнительно назначали бета-блокаторы (метопролол 25 мг 2 раза в сутки или бисопролол 2,5–5,0 мг в сутки). Пациентам в 1-е сутки лечения назначали препараты ацетилсалициловой кислоты в невысоких дозировках: кардиомагнил 75 мг, полокард 75 мг, аспаргит 50 мг. Ни один из пациентов не получал тромболитической терапии.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом РНПЦ неврологии и нейрохирургии; все пациенты или их представители дали информированное согласие на участие в его выполнении.

Статистический анализ данных проводили с помощью критерия хи-квадрат с поправкой Йетса. Непрерывные переменные, имевшие нормальное распределение, выражали как среднее значение ± стандартное отклонение и сравнивали с помощью критерия Стьюдента. Если полученные показатели не соответствовали нормальному распределению, их выражали в виде медианы и квартилей и сравнивали у лиц основной и контрольной группы с помощью критерия Вилкоксона–Манна–Уитни. Сопоставление данных агрегатометрии тромбоцитов в 1-е и 10-е сутки госпитализации проводили с использованием критерия Вилкоксона для повторных измерений. При  $P < 0,05$  исходное предположение о равенстве двух средних отвергалось и выборки считались достоверно отличающимися друг от друга.

**Результаты и их обсуждение.** По данным ультразвукового исследования, начальное атеросклеротическое субстенотическое поражение артерий диагностировано у 7 (35%) человек, что проявлялось умеренным уплотнением стенок магистральных артерий мозга, наличием плоских кальцинированных атеросклеротических бляшек в устье общих сонных артерий. В двух наблюдениях отмечались S-образная деформация левой позвоночной артерии и C-образный изгиб правой внутренней сонной артерии с локальным гемодинамическим сдвигом, сопровождавшиеся возрастанием линейной скорости кровотока до 90 см/с. Легкая степень стенозирования церебральных артерий, не превышавшая 50% их просвета, обнаружена в 3 (15,0%) случаях, умеренная – стеноз от 50 до 69% – у 2 (10%) пациентов. Выраженный стеноз, в том числе окклюзия одной из магистральных артерий головного мозга, визуализированы с помощью дуплекснографии у 6 (30%) пациентов с ИГМ.

Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1. Как видно из таблицы, больные с инсультом в каротидном бассейне артерий (КБА) составили большинство – 95%. Прогрессирующее течение острого ишемического повреждения мозга с нарастанием неврологической симптоматики и снижением уровня сознания на 2 балла и более по шкале NIHSS в течение первых 7 дней пребывания в стационаре зарегистрировано в 35% случаев. Постоянная форма фибрилляции предсердий наблюдалась у 25% больных, пароксизмальная – еще у 15%.

Т а б л и ц а 1. Клиническая характеристика пациентов ( $n = 20$ ) с ИГМ

Возраст, лет	76,4 ± 4,69
Инсульт в КБА	19 (95%)
Инсульт в правом КБА	5 (25%)
Прогрессирующее течение ИГМ	7 (35%)
Мерцательная аритмия	8 (40%)
Перенесенный инсульт или ТИА	5 (25%)
АГ 3-й ст.	5 (25%)
Постинфарктный кардиосклероз	2 (10%)
Сердечная недостаточность ≥ II2а ст.	9 (45%)
Заболевания периферических артерий	2 (10%)
Сахарный диабет	7 (35%)
Ожирение	3 (15%)
Оценка по шкале NIHSS 7 баллов и выше:	
на момент госпитализации	9 (45%)
на момент выписки	4 (20%)
Оценка по мШПР 4 балла и выше:	
на момент госпитализации	8 (40%)
на момент выписки	6 (30%)

П р и м е ч а н и е. КБА – каротидный бассейн артерий; ТИА – транзиторная ишемическая атака.

В табл. 2 представлены результаты оптической агрегатометрии тромбоцитов в 1-е сутки госпитализации в сравнении с аналогичными показателями контрольной группы. Степень агрегации тромбоцитов по всем трем тестам у больных с ИГМ была выше, чем у здоровых лиц ( $P < 0,05$ ). При индуцировании тромбоцитарной агрегации раствором АДФ в концентрации 0,5 и 2,0 мкмоль/л скорость агрегации у пациентов также была достоверно выше, чем у здоровых лиц: 34,8 и 37,8%/мин по сравнению с 28,8%/мин ( $P = 0,0016$ ) и 30,3%/мин ( $P = 0,0408$ ) соответственно.

Т а б л и ц а 2. Показатели оптической агрегатометрии тромбоцитов у пациентов с острым ИГМ (при поступлении в стационар) и у лиц контрольной группы

Параметр	ИГМ ( $n = 20$ ) Med {Q1; Q3}	Контроль ( $n = 10$ ) Med {Q1; Q3}	$P$
<i>АДФ в концентрации 0,5 мкмоль/л</i>			
Скорость агрегации, %/мин	34,8 {32,9; 36,9}	28,8 {25,8; 30,6}	0,0016
Степень агрегации, %	68,9 {62,9; 74,9}	51,0 {48,7; 55,2}	0,0021
Время агрегации, мин	5,2 {4,3; 7,8}	3,6 {2,9; 4,6}	0,0123
<i>АДФ в концентрации 2,0 мкмоль/л</i>			
Скорость агрегации, %/мин	37,8 {32,4; 42,4}	30,3 {28,3; 35,4}	0,0408
Степень агрегации, %	71,4 {61,9; 85,4}	58,6 {56,8; 59,3}	0,0101
Время агрегации, мин	5,2 {4,5; 5,8}	4,5 {3,9; 4,7}	0,0243
<i>Коллаген</i>			
Скорость агрегации, %/мин	41,2 {33,5; 49,0}	36,5 {33,7; 37,9}	НЗ
Степень агрегации, %	75,2 {69,1; 84,9}	56,5 {54,6; 58,5}	0,0101
Время агрегации, мин	6,0 {5,0; 6,5}	4,7 {4,1; 4,9}	0,0058

П р и м е ч а н и е. Сравнения между группами проводили с использованием теста Вилкоксона–Манна–Уитни для независимых измерений. НЗ – различия статистически незначимы.

Время агрегации кровяных пластинок в первые сутки инсульта достоверно превышало аналогичный показатель в контрольной группе. Так, в тесте с индуктором АДФ в концентрации 0,5 мкмоль/л время агрегации составило 5,2 и 3,6 мин ( $P = 0,0123$ ), в тесте с индуктором АДФ в концентрации 2,0 мкмоль/л – 5,2 и 4,5 мин ( $P = 0,0243$ ), в тесте с коллагеном – 6,0 и 4,7 мин ( $P = 0,0058$ ) соответственно.

В табл. 3 представлены параметры оптической агрегатометрии тромбоцитов в динамике под влиянием терапии, проводимой в течение 10 дней. Анализ данных показал, что на фоне анти-

тромбоцитарной терапии у пациентов с острым ИГМ наблюдалось повышение агрегационных свойств кровяных пластинок в тестах с индуктором АДФ в низкой и средней концентрации, а также с коллагеном, что характеризовалось отсутствием статистически значимых различий в степени, скорости и времени агрегации тромбоцитов по сравнению с исходным уровнем ( $P > 0,05$ ).

Т а б л и ц а 3. Показатели оптической агрегатометрии тромбоцитов у пациентов с острым ИГМ в 1-е и 10-е сутки госпитализации

Параметр	1-е сутки (n = 20) Me {Q1; Q3}	10-е сутки (n = 20) Me {Q1; Q3}	P
<i>АДФ в концентрации 0,5 мкмоль/л</i>			
Скорость агрегации, %/мин	34,8 {32,9; 36,9}	38,2 {32,2; 44,0}	НЗ
Степень агрегации, %	68,9 {62,9; 74,9}	66,1 {58,4; 73,6}	НЗ
Время агрегации, мин	5,2 {4,3; 7,8}	4,2 {3,0; 5,6}	НЗ
<i>АДФ в концентрации 2,0 мкмоль/л</i>			
Скорость агрегации, %/мин	37,8 {32,4; 42,4}	40,6 {35,0; 54,2}	НЗ
Степень агрегации, %	71,4 {61,9; 85,4}	76,4 {68,9; 95,3}	НЗ
Время агрегации, мин	5,2 {4,5; 5,8}	4,2 {3,6; 5,6}	НЗ
<i>Коллаген</i>			
Скорость агрегации, %/мин	41,2 {33,5; 49,0}	39,0 {25,1; 50,2}	НЗ
Степень агрегации, %	75,2 {69,1; 84,9}	75,2 {60,4; 93,9}	НЗ
Время агрегации, мин	6,0 {5,0; 6,5}	4,9 {3,4; 6,2}	НЗ

П р и м е ч а н и е. Сравнения между группами проводили с использованием теста Вилкоксона для повторных измерений. НЗ – различия статистически незначимы.

Применение антитромбоцитарных препаратов в невысоких дозировках (не более 1 мг/кг веса больного) у большинства пациентов не привело к 20%-ному снижению параметров агрегации тромбоцитов, которое считается достаточным для достижения антиагрегантного эффекта [7]. Анализ данных каждого конкретного больного, включенного в исследование, показал, что в ряде случаев на фоне проводимой терапии наблюдался не антиагрегантный, а проагрегантный эффект, т. е. при сопоставлении результатов исходного и повторного исследований отмечалось не снижение, а увеличение скорости, степени и времени агрегации тромбоцитов.

Рекомендуемое для вторичной профилактики ишемических кардиоцеребральных заболеваний в качестве целевого значения 20%-ное снижение агрегационной способности тромбоцитов было достигнуто под влиянием низких доз ацетилсалициловой кислоты у ограниченного контингента больных. При исследовании обратимой агрегации кровяных пластинок с индуктором АДФ в концентрации 0,5 мкмоль/л подобное снижение степени агрегации зафиксировано в 5 (25%) случаях. Стимулирование агрегации раствором АДФ более высокой концентрации (2,0 мкмоль/л) вызывало гиперактивацию первичного гемостаза, проявлявшуюся развитием необратимой агрегации тромбоцитов у 13 (65%) из 20 больных [9]. Выраженное снижение степени агрегации по результатам данного теста достигнуто в процессе лечения лишь у 3 (15%) пациентов.

Оценка эффективности ингибирования функциональной активности тромбоцитов путем агрегатометрии, индуцированной коллагеном, показала 20%-ное снижение степени агрегации лишь у 4 (20%) из 20 пациентов.

Основными причинами выявленной разнонаправленности антиагрегантного ответа на препараты ацетилсалициловой кислоты может быть как неоднородность сосудистых факторов риска (гиперхолестеринемия, дисфункция эндотелия, возраст, курение и др.) и этиологических подтипов ишемического инсульта, так и изменение функционального состояния тромбоцитов, их генов-рецепторов и ферментов [12–14]. Установлено, что, несмотря на снижение под действием аспирина продукции кровяными пластинками тромбоксана  $A_2$ , в случае аспиринорезистентности происходит ингибирование синтеза простаглицина эндотелиальными клетками на фоне усиления образования метаболитов арахидоновой кислоты по липооксигеназному пути [15].

Вариабельность лабораторной резистентности тромбоцитов к аспирину была выявлена с помощью двойного слепого контролируемого исследования ASPECT у больных с коронарной патологией. Для определения степени ингибирования тромбоцитов под действием различных доз

ацетилсалициловой кислоты (81, 162 или 325 мг) проведено 7 диагностических тестов. Выявляемость аспиринорезистентности при применении в качестве индуктора арахидоновой кислоты была достаточно низкой (от 0 до 6%). В то же время коллаген-индуцированная агрегация тромбоцитов продемонстрировала 27%-ную невосприимчивость тромбоцитов в ответ на действие ацетилсалициловой кислоты [10].

Частота выявления лабораторной резистентности тромбоцитов к аспирину у пациентов, принимающих препараты ацетилсалициловой кислоты, зависит от применяемых индукторов агрегации и составляет, по мнению ряда авторов, от 5 до 60% случаев [4, 8, 12–14].

Первоначальные результаты выполненного исследования, которое будет продолжено на большем количестве больных, заставляют пересмотреть традиционные рекомендации по монотерапии низкими дозами аспирина после первого ИГМ. Предотвращение повторного ишемического инсульта может быть достигнуто путем индивидуализации режима приема антиагрегантных препаратов, а также с учетом степени поражения магистральных церебральных артерий, наличия сопутствующих соматических заболеваний и выраженности агрегации тромбоцитов по данным оптической агрегатометрии.

**Заключение.** Использование в острейшем периоде инфаркта мозга в качестве индуктора агрегации АДФ (в концентрации 0,5 и 2,0 мкмоль/л) и коллагена выявило статистически значимые различия в скорости, степени и времени агрегации тромбоцитов, вызываемой *in vitro*, по сравнению с аналогичными показателями оптической агрегатограммы в группе контроля.

Таким образом, оптическая агрегатометрия тромбоцитов с комплексом индукторов может применяться для тестирования индивидуальной чувствительности тромбоцитов конкретного пациента к назначенному антитромбоцитарному препарату при проведении вторичной профилактики ишемических инсультов.

## Литература

1. Максимова М. Ю., Ионова В. Г., Шабалина А. А., Костырева М. В. // Неотложные состояния в неврологии: тр. Нац. конгр. / Под ред. З. А. Суслиной, М. А. Пирадова. М., 2009.
2. Очерки ангионеврологии / Под ред. З. А. Суслиной. М., 2005.
3. Машигин В. П. Диагностика и оценка риска тромботических осложнений у пациентов в остром периоде ишемического инсульта: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2005.
4. Hankey G. J., Berge E., Sandercock P. // Stroke. 2003. Vol. 34. P. 1571–1574.
5. Домашенко М. А. Функция эндотелия в остром периоде ишемического инсульта: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2006.
6. Нурисова Д. Н. Сравнительный анализ тромбоцитарного звена гемостаза и гормонального состояния у больных с метаболическим синдромом, перенесших ишемический инсульт: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Астана, 2010.
7. Мельникова Е. В., Кадинская М. И., Герасименко Д. В., Шмонин А. А. // Журн. неврологии и психиатрии. 2010. № 12, вып. 2. С. 23–27.
8. Cattaneo M. // Thrombosis Res. 2011. Vol. 127, N 3. P. 61–63.
9. Лухачев С. А., Степанова Ю. И., Гончар И. А. Ишемический инсульт: современные методы лабораторного мониторинга антитромботической терапии: учеб.-метод. пособие. Минск, 2008.
10. Gurbel P. A., Bliden K. P., Di Chiara J. et al. // Circulation. 2007. Vol. 115. P. 3156–3164.
11. Born G. // J. Physiol. 1962. Vol. 162. P. 67–68.
12. Суслина З. А., Танащян М. М., Домашенко М. А. Антитромботическая терапия ишемических нарушений мозгового кровообращения с позиций доказательной медицины. М., 2009.
13. Michelson A. D., Frelinger A. L., Furman M. I. // Eur. Heart J. Suppl. 2006. N 8 (Suppl. G.). P. 53–58.
14. Schrör K. // Br. J. Cardiol. 2010. Vol. 17, N 1. P. 5–9.
15. Frelinger A. L. // Circulation. 2006. N 113. P. 2888–2896.

J. I. STEPANOVA, I. A. GONTSCHAR, S. A. LIKHACHEV, V. S. KAMISHNIKOV

## PLATELET AGGREGOMETRY AT BRAIN INFARCT

### Summary

The functional activity of platelet has been investigated in 20 patients at acute brain infarct (BI) by means of optical aggregometry with adenosine diphosphate of 0.5 and 2.0  $\mu\text{mol/l}$  concentrations, collagen on the 1<sup>st</sup> day before treatment and 10<sup>th</sup> day after it. The hyperactivation of primary hemostasis was established in patients with BI which is displayed by nonreversible platelet aggregation and a significant increase of aggregometry parameters in comparison with the initial level. On the background of treatment, the optimization of blood aggregation is not observed because of the absence of a significant difference between parameters before treatment. Thus, the obtained results prove the necessity of monitoring the sensitivity of individual patients to antiplatelet therapy using optical aggregometry with a complex of inductors complex in secondary prevention of ischaemic strokes.