

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

«22» сентября 2013 г.

Регистрационный № 228-1213



**МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ
СОСУДИСТО- ТРОМБОЦИТАРНОГО И ПЛАЗМЕННОГО
ГЕМОСТАЗА ПРИ ОСТРОМ ИНФАРКТЕ МОЗГА**

Инструкция по применению

Учреждения-разработчики:

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии»; Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»; Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»; Учреждение здравоохранения «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Минска

Авторы: к.м.н. И.А. Гончар; к.м.н., доцент Ю.И. Степанова; д.м.н, профессор С.А. Лихачев; к.б.н. Л.М. Шишло; И.С. Прудывус; С.Я. Свиридович

Минск 2013

Настоящая инструкция по применению (далее - инструкция) предназначена для врачей-специалистов, оказывающих лечебно-диагностическую помощь пациентам с инфарктом головного мозга (ИГМ) – врачей-неврологов, врачей-терапевтов, врачей-кардиологов, врачей лабораторной диагностики, и содержит методы диагностики и коррекции нарушений сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза при остром ИГМ.

Показания к применению: нарушения сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза при остром инфаркте мозга.

Противопоказания к применению: неустановленный характер инсульта; терминальные состояния; острая сердечно-сосудистая недостаточность; острые психозы; хронические специфические и неспецифические воспалительные заболевания центральной нервной системы.

Перечень необходимого оборудования:

1. Гематологический анализатор, коагулометр, фотооптический агрегометр, импедансный агрегометр, центрифуга, биохимический анализатор, иммуноферментный анализатор, реактивы.
2. Расходные материалы для забора крови из вены, стабилизации крови, хранения, транспортировки.
3. Индуктора агрегации тромбоцитов: раствор аденозиндифосфата (АДФ) в концентрациях 0,5; 1,5; 10,0 мкмоль/л, раствор коллагена в концентрации 2,0 г/л.
4. Компьютерный томограф (КТ), магнитно-резонансный томограф, электрокардиограф.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗУЕМОГО МЕТОДА

Диагностика нарушений сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза у пациентов с ИГМ включает:

- общий анализ крови с определением уровня гемоглобина, эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, лейкоцитарной формулы, скорости оседания эритроцитов, гематокрита;
- оптическую агрегатометрию тромбоцитов (ОАТ) или импедансную агрегатометрию тромбоцитов (ИАТ);
- коагулограмму с определением активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), протромбинового времени (ПВ), международного нормализованного отношения (МНО), фибриногена, Д-димеров (ДД), Тех-Полимер-теста (ТПТ);
- определение маркеров дисфункции эндотелия в крови: сосудистый эндотелиальный фактор роста (СЭФР), фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- α), эндотелин-1 (ЭТ-1), предсердный натрийуретический пептид (ПНУП), активность антигена фактора Виллебранда (ФВ), высокочувствительный С-реактивный белок (вСРБ).

Оптическая агрегатометрия тромбоцитов

Принцип метода основан на регистрации с помощью фотооптического агрегометра изменения светопропускания обогащенной тромбоцитами плазмы при длине волны 500-700 нм после добавления индуктора агрегации и формирования тромбоцитарных агрегатов.

Определяют следующие параметры ОАТ: степень агрегации - максимальное светопропускание в процентах; скорость агрегации - процент светопропускания в минуту; время агрегации в минутах. Процесс индуцированной агрегации тромбоцитов регистрируется графически и визуализируется в виде агрегатограмм, которые имеют определенные особенности в зависимости от применяемого индуктора и уровня функциональной активности кровяных пластинок (рисунки 1-4).

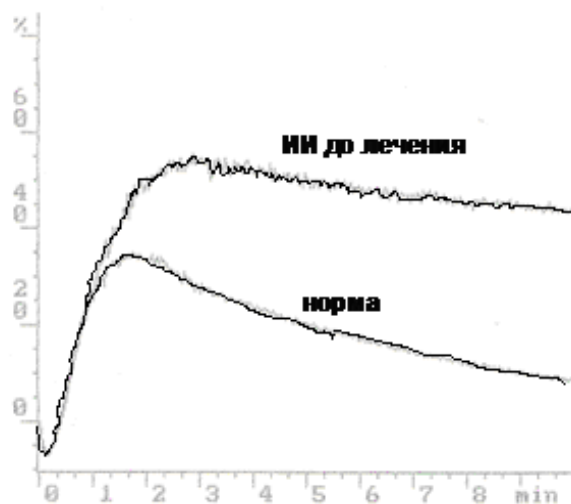


Рисунок 1

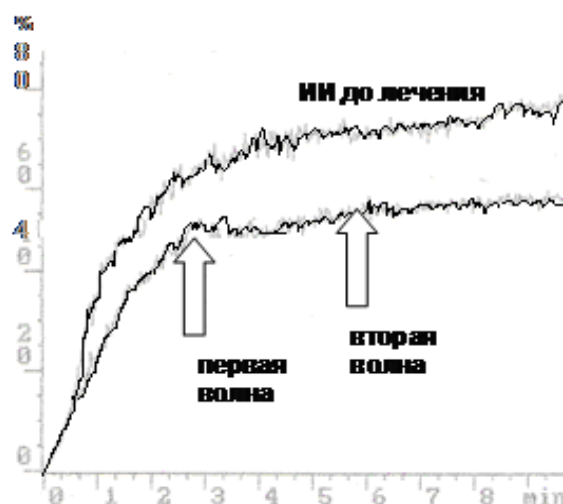


Рисунок 2

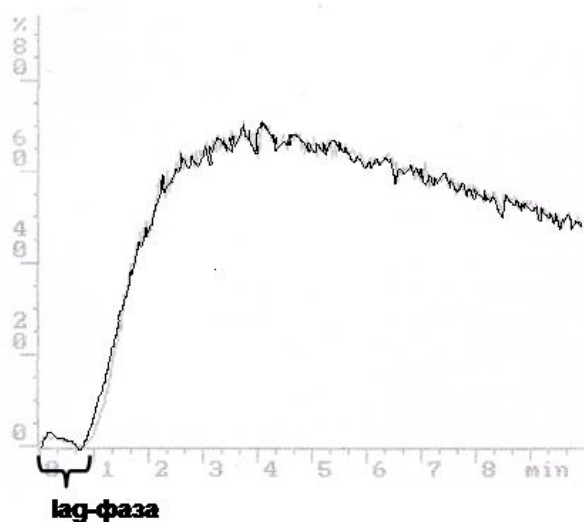


Рисунок 3

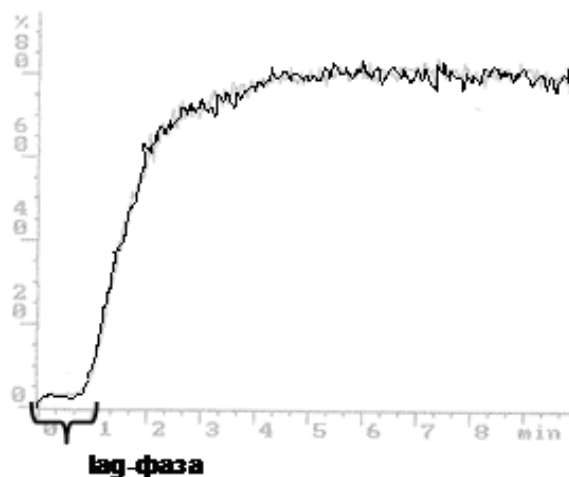


Рисунок 4

Технический результат разработанного метода диагностики состояния тромбоцитарного звена свертывания крови при ИГМ состоит в том, что выполняют комплексное исследование функционального состояния тромбоцитов в остром периоде инфаркта мозга, позволяющее диагностировать нарушения в системе сосудисто-тромбоцитарного гемостаза на уровне:

- первой фазы агрегации (фаза обратимой агрегации и частичной секреции);
- второй фазы агрегации (фаза необратимой агрегации и полной дегрануляции);
- состояния секреторной функции тромбоцитов.

Используют индуктора агрегации: растворы коллагена и раствор АДФ в концентрации 0,5 мкмоль/л. Дополнительное использование раствора АДФ в концентрации 1,5 мкмоль/л рекомендуется при тромбоцитопатиях различной этиологии (дефицит пула хранения, синдром Бернара-Сулье, тромбастения Гланцмана), когда тромбоциты слабо реагируют на низкие дозы АДФ.

Метод позволяет получить объективную информацию о функциональных свойствах тромбоцитов у пациентов с ИГМ с учетом возрастных особенностей обследованных лиц (табл. 1 Приложения).

Информация о скорости, степени и времени агрегации тромбоцитов позволяет назначать конкретному пациенту медикаментозную терапию с использованием лекарственных средств, снижающих агрегацию тромбоцитов пациентов в остром периоде инсульта для профилактики повторного инфаркта мозга.

Импедансная агрегатометрия тромбоцитов

Принцип метода импедансной агрегатометрии тромбоцитов заключается в графическом отображении изменения импеданса (сопротивления) во времени после формирования монослоя тромбоцитов на открытых частях электрода и стимуляции агрегации на монослое тромбоцитов при добавлении индуктора агрегации к цельной крови. Определяют следующие параметры ИАТ, нормальные диапазоны которых представлены в таблице 2 Приложения: Amplitude – степень агрегации (Ом); Slope – скорость агрегации (Ом/мин); Lag time – время

задержки агрегации (с); Area – площадь под кривой (Ом×мин).

В качестве метода выбора для оценки функционального состояния тромбоцитов в остром периоде ИГМ рекомендуется ИАТ, если в плазме пациента имеется хилез или гипербилирубинемия.

Коагулограмма

Исследование коагуляционного гемостаза проводят с помощью гемокоагулометра унифицированным клоттинговым методом, который основан на моделировании процесса свертывания крови *in vitro*. Оценка состояния вторичного гемостаза проводится по алгоритму, позволяющему разграничить фазы свертывания крови и паракоагуляционные параметры (табл. 3 Приложения). ТПТ используется при диагностике дисфибриногенемии, предрасположенности к внутрисосудистому свертыванию крови для определения нарушений фибринообразования, связанных с замедлением или ускорением полимеризации фибрин-мономеров.

При наличии отклонений от нормативных значений тестов и подозрении на тромбофилию выполняются дополнительные исследования в специализированных лабораториях:

- антикоагулянтной системы: активность антитромбина, содержание протеинов С и S, тест на резистентность к активированному протеину С (АПС-резистентность);
- фибринолитической системы: снижение активности плазминогена и его активаторов, повышение активности PAI-1 и α_2 -антиплазмина;
- диагностика антифосфолипидного синдрома: содержание антифосфолипидных антител (кардиолипиновые антитела, антитела к фосфатидилсерину, фосфатидилинозитолу и фосфатидилэтаноламину), выявление волчаночного антикоагулянта;

- определение содержания в крови гомоцистеина;
- ПЦР – диагностика: наличие мутации V фактора Лейдена, протромбина G20210A или мутации метилтетрагидрофолатредуктазы (МТГФР) C677T.

Исследование маркеров дисфункции эндотелия

На основании исследования содержания в крови пациентов с ИГМ маркеров дисфункции эндотелия, представленных в таблице 4 Приложения, разработаны методы, позволяющие стратифицировать пациентов с ИГМ с высокой вероятностью развития летального исхода в группу риска.

Метод прогнозирования выживаемости пациентов, перенесших инфаркт мозга, основан на сравнении уровня ПНУП в крови пациента с ИГМ с пороговым значением, равным 27 нг/л. При этом, если уровень ПНУП меньше 27 нг/л, прогнозируют 81,9%-ную годовичную выживаемость пациентов после ИГМ, а при уровне ПНУП, равном или превышающем 27 нг/л, прогнозируют 59,5%-ную годовичную выживаемость.

Метод прогнозирования клинического исхода инфаркта мозга основан на определении уровня СЭФР в крови с помощью иммуноферментного анализа, сравнении с пороговым значением, равным 222 нг/л, при этом, если уровень СЭФР меньше или равен 222 нг/л, прогнозируют к моменту выписки из стационара (на 12 ± 2 сутки от начала заболевания) развитие умеренного или выраженного неврологического дефицита (от 7 до 42 баллов шкалы инсульта Национальных институтов здравоохранения - NIHSS), если уровень СЭФР больше 222 нг/л, прогнозируют развитие легкого неврологического дефицита (от нуля до 6 баллов шкалы NIHSS). Также прогнозируют риск развития летального исхода в постинсультном

периоде в течение 180 суток после ИГМ - при уровне СЭФР меньше или равном 222 нг/л прогнозируют неблагоприятный – летальный исход, при уровне СЭФР в крови больше 222 нг/л прогнозируют благоприятный исход (вероятность летального исхода равна нулю).

Метод прогнозирования исхода инсульта основан на сравнении данных об уровне ФНО- α в крови пациента с ИГМ с пороговым значением уровня ФНО- α , равным 44 нг/л, если уровень ФНО- $\alpha \leq 44$ нг/л, прогнозируют неблагоприятный функциональный исход острого ИГМ (от 4 до 6 баллов модифицированной шкалы Рэнкина (МШР) и развитие летального исхода в течение 180 суток после ИГМ.

Метод прогнозирования исхода инсульта с использованием уровня фактора фон Виллебранда основан на сравнении уровня антигена ФВ в крови пациента с ИГМ с пороговым значением, равным 244 %, при этом, если уровень антигена ФВ ≥ 244 %, прогнозируют развитие неудовлетворительного функционального исхода острого ИГМ (от 4 до 6 баллов МШР) к моменту выписки из стационара, если уровень антигена ФВ < 244 %, то прогнозируют развитие удовлетворительного функционального исхода острого ИГМ (от нуля до 3 баллов МШР). Затем данные об уровне антигена ФВ в крови пациента с ИГМ сравнивают с пороговым значением уровня антигена ФВ, равным 312 % и прогнозируют риск развития летального исхода в постинсультном периоде в течение одного года наблюдения, причем при уровне ФВ ≥ 312 % прогнозируют неблагоприятный (летальный исход), при уровне ФВ в крови < 312 % прогнозируют благоприятный исход заболевания.

Метод прогнозирования клинического исхода острого инфаркта головного мозга основан на сравнении уровня вСРБ в крови пациента с ИГМ с пороговым значением уровня вСРБ, равным 14 мг/л, при этом, если уровень вСРБ $\geq 14,0$ мг/л, прогнозируют развитие неудовлетворительного функционального исхода острого ИГМ (от 4 до

6 баллов МШР к моменту выписки из стационара (на 12 ± 2 сутки от начала заболевания)), если уровень вСРБ $< 14,0$ мг/л, то прогнозируют развитие удовлетворительного функционального исхода ИГМ (от нуля до 3 баллов МШР). Также прогнозируют риск развития летального исхода в постинсультном периоде в течение одного года наблюдения, причем при уровне вСРБ в крови $\geq 14,0$ мг/л прогнозируют неблагоприятный (летальный) исход, при уровне вСРБ $< 14,0$ мг/л – благоприятный исход заболевания.

Метод прогнозирования клинического исхода инфаркта головного мозга с использованием Д-димеров основан на сравнении уровня ДД в крови пациента с ИГМ с пороговым значением, равным $0,450$ мг/л, при этом, если уровень ДД больше $0,450$ мг/л, прогнозируют развитие неудовлетворительного функционального исхода острого ИГМ (от 4 до 6 баллов МШР) к моменту выписки из стационара, если уровень ДД в крови меньше или равен $0,450$ мг/л, то прогнозируют развитие удовлетворительного функционального исхода острого ИГМ (от нуля до 3 баллов МШР). Также прогнозируют риск развития летального исхода в постинсультном периоде в течение одного года наблюдения, причем при уровне ДД в крови больше $0,450$ мг/л прогнозируют неблагоприятный (летальный исход), при уровне ДД меньшим или равном $0,450$ мг/л прогнозируют благоприятный исход заболевания.

Алгоритм выбора антитромботической терапии у пациентов с острым инфарктом головного мозга

1. Длительная антиагрегантная терапия ацетилсалициловой кислотой (АСК) в дозе от 75 до 150 мг в сутки показана всем пациентам с ИГМ, при этом предпочтительны кишечнорастворимые формы АСК, обладающие меньшим ulcerогенным эффектом в отношении желудочно-кишечного тракта.

2. Пациентам с ИГМ с сопутствующим атеросклерозом церебральных артерий (стенозы $\geq 50\%$ просвета) рекомендована антиагрегантная монотерапия АСК (75–150 мг ежедневно), или клопидогрелем (75 мг ежедневно), или комбинированное лечение АСК в сочетании с дипиридамолом (25 и 200 мг дважды в день, соответственно), что является более предпочтительным, чем комбинация АСК с клопидогрелем. Выбор схемы антиагрегантной терапии индивидуален и зависит от стоимости лечения, имеющихся факторов риска и комплаентности пациента к проводимой терапии.

3. Клопидогрель предпочтителен у пациентов с ИГМ на фоне мультифокального атеросклероза, сахарного диабета, повторного некардиоэмболического ИГМ, при непереносимости АСК, а также у пациентов с однократным ИГМ, развившимся на фоне постоянного приема АСК.

4. В остром периоде ИГМ при отсутствии снижения параметров ОАТ или ИАТ на фоне лечения АСК целесообразно дополнительно назначить низкие дозы нефракционированного гепарина (НФГ), низкомолекулярных гепаринов (НМГ) либо заменить АСК на клопидогрель с последующим контролем агрегационной активности тромбоцитов.

5. Назначение клопидогреля в комбинации с АСК не показано в течение 3 месяцев после ИГМ в связи с высоким риском геморрагических осложнений. Исключением являются ситуации, когда имеются абсолютные показания к двойной антиагрегантной терапии: недавний эпизод острого коронарного синдрома, выполненное чрескожное коронарное вмешательство, а также операция эндоваскулярного стентирования экстракраниальных артерий.

6. В остром периоде ИГМ интенсивная парентеральная антикоагулянтная терапия НФГ или НМГ не показана пациентам с ИГМ

на фоне атеросклероза церебральных артерий. Низкие дозы гепарина, НМГ назначают с целью профилактики тромбоза глубоких вен (ТГВ) у обездвиженных пациентов, при варикозной болезни нижних конечностей, при тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) в анамнезе.

7. В остром периоде инсульта в случае прогрессирующего клинического течения ИГМ некардиоэмболической этиологии, наличии стенозирующего атеросклероза коронарных артерий, атеросклероза периферических артерий, сахарного диабета терапия АСК может быть дополнена низкими дозами НФГ, НМГ.

8. Пациентам с ИГМ и сопутствующим риском эмболии из кардиального источника (фибрилляция предсердий (ФП), тромбы в полостях сердца, искусственные клапаны сердца) с целью вторичной профилактики инсульта показаны оральные антикоагулянты (ОА) варфарин или фенилин с достижением целевого уровня МНО 2,0-3,0.

9. При кардиоэмболическом ИГМ в случае обширного очага инфаркта мозга (занимающего по данным КТ более 1/3 бассейна средней мозговой артерии), тяжелого состояния пациента, выраженного неврологического дефицита целесообразна замена варфарина бридж-терапией гепарином или НМГ с последующим переходом в подостром периоде ИГМ на ОА.

10. При невозможности использования непрямых антикоагулянтов целесообразно рассмотреть вопрос о назначении новых оральных антикоагулянтов (НОА) для профилактики повторных тромбоэмболических ишемических событий.

11. У пациентов с ИГМ при ФП монотерапия АСК, так же как и двойная антиагрегантная терапия (АСК+клопидогрель), расцениваются как недостаточно эффективные средства профилактики повторных кардиоэмболических событий и могут быть альтернативой оральным

антикоагулянтам только в случае категорического отказа пациента от приема антикоагулянтов.

12. Пациенты с ИГМ и такими маркерами тромбофилических состояний, как спонтанный венозный тромбоз, установленный дефицит протеинов С, S, антитромбина, гипергомоцистеинемия, а также с выявленными при генотипировании мутациями Лейдена, протромбина, МТГФР нуждаются в длительной антитромботической терапии.

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ) - форма тромбоцитопении, вызванная применением НФГ (1,9-5,0% пациентов, получающих гепарин) или НМГ (0,4%). При развитии ГИТ 1 типа происходит прямое (неиммунное) взаимодействие молекул гепарина с мембраной тромбоцитов, проявляющееся на 1-3 сутки после введения гепарина изолированным падением числа тромбоцитов до $100 \times 10^9/\text{л}$. ГИТ 2 типа является редкой иммуноопосредованной реакцией, возникающей на 4-15 сутки от первого введения гепарина. Под действием специфических антител к комплексу гепарин/тромбоцитарный фактор 4 (ТФ4) происходит падение уровня тромбоцитов ниже $100 \times 10^9/\text{л}$, выделение в кровь прокоагулянтных веществ, повышается синтез тромбина, развиваются ТГВ нижних конечностей, тромбоэмболии, церебральные синус-тромбозы, тромбозы артерий нижних конечностей, инфаркты головного мозга, инфаркты миокарда.

Алгоритм лечебных мероприятий при ГИТ:

1. Отменить НФГ или НМГ.
2. Назначить альтернативные антикоагулянты из группы прямых ингибиторов тромбина или селективных ингибиторов фактора Ха (ривароксабан, фондапаринукс).

3. Лабораторные тесты на обнаружение антител к комплексу гепарин/ТФ4.

4. Не рекомендовано переливание тромбоцитарной массы из-за повышенного тромбообразования.

5. Не рекомендовано назначение варфарина ранее 6 недель, пока количество тромбоцитов не возрастет до $150 \times 10^9/\text{л}$ из-за риска развития варфарин-ассоциированной гангрены конечностей и некроза кожи.

6. НОА, рекомендованные при неклапанной ФП, обладают сравнимой с варфарином эффективностью. Замена варфарина и фениндиона на НОА целесообразна при возникновении проблем с приемом ОА (невозможность достижения, поддержания и лабораторного контроля терапевтического уровня МНО).

Возможные ошибки и осложнения:

1. Нарушения преаналитического этапа ОАТ, ИАТ: неправильное соотношение крови и цитрата; наличие видимых сгустков фибрина в образце для исследования; наличие гемолиза пробы; нарушение правил приготовления и хранения реагентов.

2. Нарушения аналитического этапа ОАТ, ИАТ: несвоевременное добавление индуктора при проведении агрегатометрии, неисправность прибора, исследование нестандартизированной по количеству тромбоцитов пробы.

3. Развитие ГИТ, ДВС-синдрома.

Приложение

Таблица 1 - Возрастные границы параметров оптической агрегатометрии тромбоцитов

Параметры	Средний возраст (45-59 лет)	Пожилой возраст (60-74 лет)	Старческий возраст (≥ 75 лет)
Индуктор АДФ в концентрации 0,5 мкмоль/л			
Скорость агрегации, % в мин	19,3-29,3	22,4-35,6	29,0-41,0
Степень агрегации, %	40,4-56,4	45,0-59,0	49,0-61,0
Время агрегации, мин	2,4-5,6	3,1-5,9	4,46-5,94
Индуктор АДФ в концентрации 1,5 мкмоль/л			
Скорость агрегации, % в мин	22,5-34,5	25,0-40,2	32,0-40,0
Степень агрегации, %	50,0-59,2	54,8-65,2	56,4-70,4
Время агрегации, мин	2,1-5,3	3,4-5,8	4,56-5,84
Индуктор коллаген			
Скорость агрегации, % в мин	27,9-37,1	33-40,6	35,1-43,9
Степень агрегации, %	46,1-60,9	52,8-60,0	51,8-65,0
Время агрегации, мин	3,3-4,5	3,2-6,4	4,5-6,5

Таблица 2 - Параметры импедансной агрегатометрии тромбоцитов

Параметры	Контроль
Скорость агрегации, Ом/мин	10 {6; 12}
Степень агрегации, Ом	8 {5; 10}
Время задержки агрегации, с	26 {21; 38}
Площадь под кривой, Ом×мин	32 {20; 38}

Таблица 3 - Параметры коагуляционного гемостаза

Фаза коагуляции крови	Тесты	Показатели в зависимости от уровня коагуляции		
		Гипер-коагуляция	Норма (контроль)	Гипо-коагуляция
I фаза протромбиназообразования	АПТВ (активированное парциальное тромбопластиновое время), сек.	< 30	30 – 42	> 42
II фаза тромбинообразования	ПВ (протромбиновое время), сек.	< 12	12 – 14	> 14
	ПТИ* (протромбиновый индекс), %	> 100	75 – 100	< 75
	МНО (международное нормализованное отношение), ед.	< 0,8	0,8 – 1,2	> 1,2
III фаза фибринообразования	Фибриноген, г/л	< 4,5	1,8 – 4,5	< 1,8
	ТПТ (Тех-Полимер-тест), ед.	< 0,81	0,81-1,19	> 1,19
Маркер тромбинемии и плазминемии	Д-димеры, мг/л	-	≤ 0,25	-

Примечание. В таблице представлены усредненные значения нормального диапазона параметров, так как их уровень зависит от вида используемой аппаратуры, реагентов, а также от метода исследования. При интерпретации параметров АПТВ, ПВ значение времени свертывания исследуемой плазмы сравнивают с временем свертывания контрольной плазмы, поэтому в бланке коагулограммы вместо нормы указывается значение контроля и рассчитывается R (отношение времени свертывания плазмы пациента к времени свертывания контрольной плазмы, в норме 0,8-1,2).

*- определение ПТИ не рекомендуется в связи с отсутствием стандартизации теста.

Таблица 4 - Маркеры дисфункции эндотелия

Параметры	Контроль
Эндотелин-1, нг/л	1,46 {1,18; 1,75}
Фактор Виллебранда, % активности антигена	102 {78; 156}
Предсердный натрийуретический пептид, нг/л	6 {5; 7}
Сосудистый эндотелиальный фактор роста, нг/л	57 {46; 69}
Фактор некроза опухоли-альфа, нг/л	7 {5; 9}
Высокочувствительный С-реактивный белок, мг/л	≤ 1,0