

Анисимова А.В., Галкин С.С., Гунченко. А.С.

Динамика параметров тромбоцитарного звена гемостаза у пациентов с ишемическим инсультом после проведения системной тромболитической терапии

ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва

Anisimova A.V., Galkin S.S., Gunchenko A.S.

Dynamics of the parameters of platelet hemostasis in patients with ischemic stroke after systemic thrombolytic therapy

Резюме

В Региональном сосудистом центре ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова были обследованы 89 пациентов с ишемическим инсультом (ИИ) (средний возраст 58,5), из них 42 пациента с проведенной системной тромболитической терапией (ТЛТ) (средний возраст 64,3) и 47 пациентов с ИИ без ТЛТ (средний возраст 54,5). В подгруппу средней степени тяжести (от 7 до 14 баллов по NIHSS) с ТЛТ вошло 13 пациентов, тяжелой степени тяжести (более 15 баллов по NIHSS) вошло 29 пациентов. Определение тромбоцитарного гемостаза проводилось с определением агрегации, размеров агрегатов тромбоцитов на адреналин, АДФ, ристомидин, спонтанной агрегации и концентрации фибриногена на 1, 7 и 14 сутки. Клиническая оценка тяжести состояния проводилась по шкале NIHSS. Выявлены особенности изменений тромбоцитарного гемостаза на индукторы (адреналин, ристомидин, АДФ) у пациентов с ИИ после проведения системной ТЛТ на 1, 7 и 14 сутки в сопоставлении с показателями пациентов без ТЛТ и их взаимосвязь с динамикой неврологического дефицита, которые позволяют уточнить особенности течения сосудистого процесса, его прогноз.

Ключевые слова: системная тромболитическая терапия, гемостаз, прогноз, ишемический инсульт

Summary

89 patients with ischemic stroke (IS) (mean age 58.5) were examined, 42 of them were with systemic thrombolytic therapy (TLT) (mean age 64.3) and 47 patients - with IS without TLT (mean age 54.5). The subgroup of moderate severity (from 7 to 14 points in NIHSS) included 13 patients after TLT, the subgroup of severe severity (more than 15 points for NIHSS) included 29 patients after TLT. The determination of platelet hemostasis was carried out on days 1, 7 and 14 by the method of Born and O'Brien with the determination of aggregation, sizes of platelet aggregates for adrenaline, adenosine diphosphate (ADP), ristomycin, spontaneous aggregation and fibrinogen concentrations. Clinical evaluation of the severity of the condition was carried out according to the NIHSS scale. Specific features of changes in platelet hemostasis in inducers (adrenaline, ristomycin, ADP) in patients with IS after TLT at 1, 7 and 14 days in comparison with the indices of patients without TLT and their relationship with the dynamics of neurologic deficit were revealed, which allow to clarify the features of the vascular flow process, its forecast.

Keywords: systemic thrombolytic therapy, hemostasis, prognosis, ischemic stroke

Введение

В настоящее время, основной причиной смертности и инвалидизации в развитых странах являются сердечно - сосудистые заболевания. Частота инсультов в мире возрастает и приобретает критическую эпидемиологическую ситуацию с тенденцией к омоложению. Разработка дополнительных прогностических критериев течения ишемического инсульта после проведенной системной тромболитической терапии позволит подобрать соответствующую терапию и тем самым снизить процент неблагоприятных исходов [1, 2].

Материалы и методы

В Региональном сосудистом центре ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова были обследованы 89 пациентов с ишемическим инсультом (средний возраст 58,5), из них 42 пациента с проведенной ТЛТ (средний возраст 64,3) и 47 пациентов с ИИ без ТЛТ (средний возраст 54,5). В подгруппу средней степени тяжести (от 7 до 14 баллов по NIHSS) с ТЛТ вошло 13 пациентов, тяжелой степени тяжести (более 15 баллов по NIHSS) вошло 29 пациентов. Определение тромбоцитарного гемостаза проводилось с

определением агрегации, размеров агрегатов тромбоцитов на адреналин, АДФ, ристомидин, спонтанной агрегации на 1,7 и 14 сутки. Клиническая оценка тяжести состояния проводилась по шкале NIHSS [3]. Статистическая обработка данных исследования проведена с использованием программного обеспечения Statistica 10, Microsoft Excel. Описательная статистика непрерывных количественных данных представлена в виде медианы (Me) при ненормальном распределении, и значений 25% нижнего и 75% верхнего квартилей (через точку с запятой). Аналитическая статистика выполнялась с использованием критерия суммы рангов/знаков Уилкоксона, Манна-Уитни для количественных данных с распределением отличным от нормального и коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У 42 пациентов с ишемическим инсультом после проведения системной ТЛТ динамика восстановления была достоверно ($p_{\text{итв}} < 0,05$) выше чем у пациентов без ТЛТ - 6 [4; 7] баллов у пациентов с ТЛТ и 3 [2; 4] балла по шкале NIHSS у пациентов без ТЛТ. У пациентов как средней, так и тяжелой степени по шкале NIHSS после ТЛТ наблюдалась наибольшая степень восстановления к четырнадцатым суткам (7 [5,46; 8,12] баллов у пациентов средней степени тяжести, и 6 [5,32; 7,22] баллов у пациентов тяжелой степени) по сравнению с пациентами, которым ТЛТ не проводилась (3 [2; 3] баллов у пациентов средней степени тяжести, и 3,5 [2; 5] баллов у пациентов тяжелой степени), что можно связать с результатом проведенной системной ТЛТ; лизисом тромба, восстановлением перфузии и, как следствие, уменьшение очага поражения.

На первом этапе были изучены показатели агрегации тромбоцитов на ристомидин. Выявлено достоверное снижение показателей агрегации тромбоцитов на ристомидин у пациентов после ТЛТ, которые были в пределах нормы (50-70%) до 14 суток наблюдения, чего не наблюдалось у пациентов без ТЛТ (1 – е сутки: с ТЛТ – 58,03 [55,5; 61,23] %, без ТЛТ – 72,85 [57,6; 86,1] % $p < 0,001$; 7 – е сутки: с ТЛТ – 58,9 [57,42; 61,45] %, без ТЛТ – 73,88 [61,8; 83,1] % $p < 0,00001$; 14 – е сутки: с ТЛТ – 57,27 [48,67; 60,12] %, без ТЛТ – 74,48 [69,19; 78,8] % $p < 0,000001$).

Выявленные изменения показателей агрегации тромбоцитов на ристомидин у пациентов после проведения ТЛТ имеют важное значение для прогнозирования течения сосудистого процесса и возможных осложнений. Данные изменения агрегации тромбоцитов на ристомидин могут рассматриваться как дополнительные маркеры дисфункции эндотелия и оценки эффективности проведения системной тромболитической терапии и связаны с ранним лизисом тромба, восстановлением перфузии, уменьшением степени гипоксии, как следствие, снижением объема циркулирующих свободных радикалов и степени повреждения ими эндотелия. Ристомидин связывается с фактором Виллебранда, который, взаимодействуя с гликопротеиновыми рецепторами I ν и I ν B/IIIa на

мембранах тромбоцитов, вызывает их агрегацию. Фактор Виллебранда синтезируется эндотелиальными клетками, которые высвобождают его как в кровотоке, так и в субэндотелиальное пространство. Выявленные особенности динамики показателей агрегации тромбоцитов на ристомидин у пациентов после ТЛТ указывают на коррекцию функции эндотелия сосудов после проведения системного тромболитика.

У 85% ($n=11$) пациентов после ТЛТ средней степени тяжести преобладали нормальные показатели индуцированной агрегации тромбоцитов на адреналин (в 1 сутки - Me-50,25% [47,13; 51,86], на 7 сутки - Me-48,42 [48,01; 48,57] % и на 14 сутки - Me-50,12 % [49,09; 50,51]) а у пациентов без ТЛТ имели тенденцию к повышению (в 1 сутки составила Me-52,8 % [47,5; 64,65], на 7 сутки - Me-62,85 % [60,0; 64,7] и на 14 сутки - Me-65,5,12 % [63,27; 69,4]. Показатели спонтанной агрегации тромбоцитов не имели четких различий у пациентов после ТЛТ и без ТЛТ и оставались в пределах нормы на всем этапе мониторинга, что может свидетельствовать о сохранности регуляторных механизмов гемостаза (в 1 сутки Me-0,10 [0,0; 0,75], на 7 сутки - Me-0,30 % [0,26; 0,33] и на 14 сутки - Me-0,31 % [0,29; 0,35]) так и у пациентов без ТЛТ (в 1 сутки Me-0,03 % [0,0; 0,02], на 7 сутки - Me-0,27 % [0,0; 0,34] и на 14 сутки - Me-1,42 % [0,44; 1,45]). Можно полагать, что выявленные особенности тромбоцитарного звена у пациентов после проведения системного тромболитика обусловлены достаточно ранним восстановлением гемодинамики и микроциркуляции а также доставки метаболических субстратов в зону пенумбры, что способствует быстрому срабатыванию ауторегуляторных механизмов, структурно-функциональных процессов, улучшению активности эндотелия со стимуляцией синтеза простациклина, трансформации проагрегантного простагландина H2 в антиагрегантный простагландин I2, снижению образования тромбоксана A2. В пользу данного предположения могут свидетельствовать выявленные в процессе исследования нормальные показатели агрегации тромбоцитов на ристомидин (ристоциклин) у пациентов, получавших ТЛТ и достоверно повышенные цифры этого параметра у пациентов без ТЛТ на протяжении всего периода наблюдения.

В основе механизма агрегации тромбоцитов на адреналин лежит фактор взаимодействия адреналина с α_2 -адренорецепторами тромбоцитов, что вызывает ингибирование аденилатциклазы. Вероятно, этот механизм связан со способностью аденилатциклазы изменять проницаемость клеточной мембраны для ионов Ca $^{2+}$. Вторичная агрегация при индукции процесса адреналином возникает как результат реакции высвобождения и продукции тромбоксана A2. Тромбоксан A2 в свою очередь синтезируется активированными тромбоцитами. Он так же активирует новые тромбоциты и их агрегацию. Агрегация тромбоцитов достигается путем повышения уровня экспрессии гликопротеинового комплекса GP I ν B/IIIa на мембранах клеток.

Достоверное снижение показателей агрегации тромбоцитов на адреналин у пациентов после ТЛТ, вероятно,

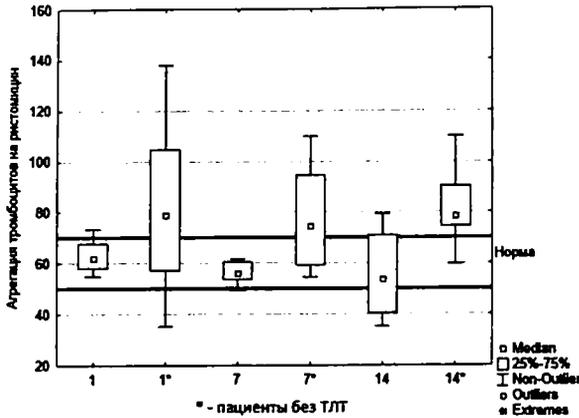


Рисунок 1. Динамика показателей агрегации тромбоцитов на ристоцинии (%) у пациентов средней степени тяжести (от 7 до 14 баллов по NIHSS) с ТЛТ (n-13) и без ТЛТ (n-10) на 1,7 и 14 сутки.

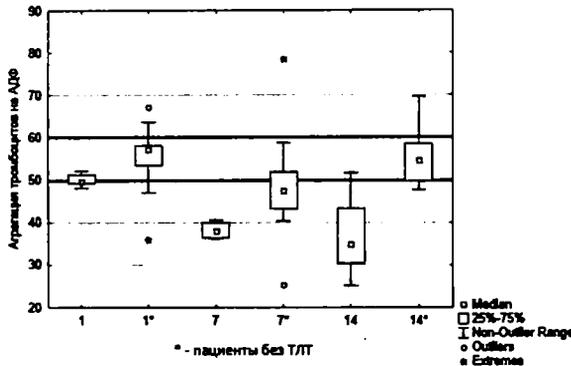


Рисунок 2. Динамика агрегации тромбоцитов на АДФ (%) у пациентов средней степени тяжести (от 7 до 14 баллов по NIHSS) с ТЛТ (n-13) и без ТЛТ (n-10) на 1,7 и 14 сутки.

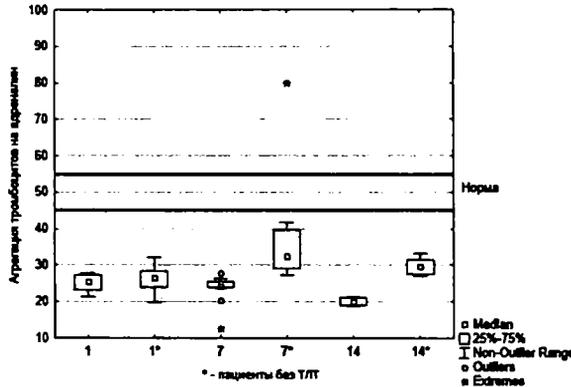


Рисунок 3. Динамика агрегации тромбоцитов на адреналин (%) у пациентов тяжелой степени (более 14 баллов по NIHSS) с ТЛТ (n-29) и без ТЛТ (n-37) на 1,7 и 14 сутки.

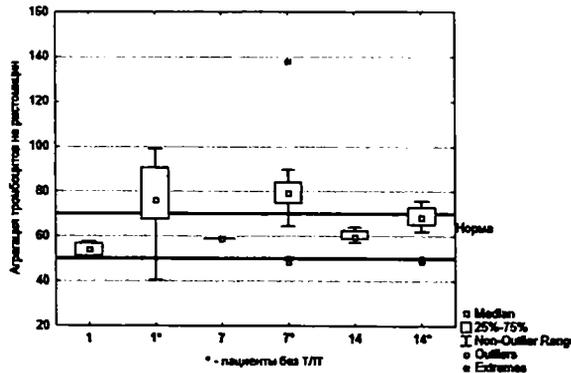


Рисунок 4. Динамика показателей агрегации тромбоцитов на ристоцинии (%) у пациентов тяжелой степени (более 14 баллов по NIHSS) с ТЛТ (n-29) и без ТЛТ (n-37) на 1,7 и 14 сутки.

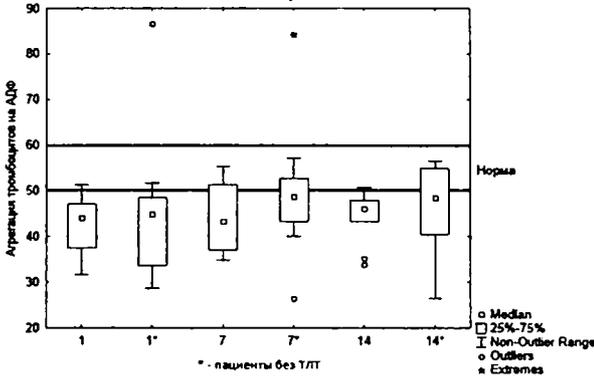


Рисунок 5. Динамика показателей агрегации тромбоцитов на АДФ (%) у пациентов тяжелой степени (более 14 баллов по NIHSS) с ТЛТ (n-29) и без ТЛТ (n-37) на 1,7 и 14 сутки.

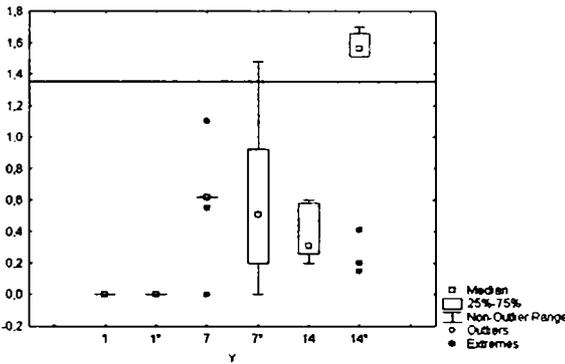


Рисунок 6. Динамика показателей спонтанной агрегации (%) у пациентов тяжелой степени (более 14 баллов по NIHSS) с ТЛТ (n-29) и без ТЛТ (n-37) на 1,7 и 14 сутки.

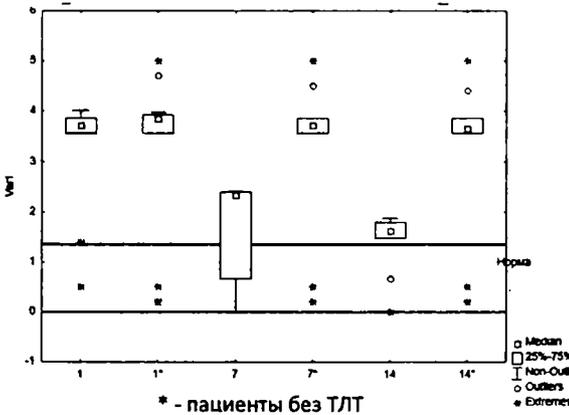


Рисунок 7. Динамика спонтанной агрегации у пациентов с ТЛТ (n-13) с наименьшей степенью восстановления и без ТЛТ на 1, 7 и 14 сутки тяжелой степени (более 14 баллов по NIHSS).

связано с влиянием системной ТЛТ на микроциркуляцию и, как следствие, на эндотелиоциты. Эндотелиоцитами сосудов продуцируется множество веществ, обладающих антиагрегантными свойствами и одним из них является оксид азота (NO), который уменьшает циркуляцию свободных радикалов, при этом NO расходуется на связывание свободных радикалов, с уменьшением вазодилатирующих и антиагрегантных функций. Это подтверждается ранее проведенными нами исследованиями – исследование микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии: у пациентов в остром периоде ишемического инсульта после проведения тромболитической тера-

пии наблюдалось усиление притока крови в микроциркуляторное русло с активацией миеогенной активности мышечно-содержащих артериол.

Таким образом, эти механизмы могут свидетельствовать о достаточной сохранности регуляции системы гемодинамики и гемостаза (в том числе морфофункциональных свойств тромбоцитов) у пациентов с ИИ и в большей степени после проведения системной ТЛТ.

Показатели агрегации тромбоцитов на ристомидин у пациентов средней степени тяжести после ТЛТ снижались до нормальных показателей ($p < 0,05$) и были в пределах нормы (50-70%) до конца периода наблюдения (1

сутки - 61,94 % [58,18; 67,62], на 7 сутки - 56,08 % [53,73; 60,61] и на 14 сутки - 53,63 % [40,43; 71,0]), а у пациентов средней степени тяжести без ТЛТ выше нормы (1 сутки - 79,07 % [57,3; 104,86], на 7 сутки - 74,52 % [59,3; 94,64], и на 14 сутки - 78,68 % [74,43; 90,08], рисунок 1).

Данные изменения показателей агрегации тромбоцитов на ристомидин у пациентов средней степени тяжести после ТЛТ (нормализация до 14 суток наблюдения) по сравнению с пациентами, которым ТЛТ не проводилась может рассцениваться как восстановление регуляторной функции эндотелия после проведения системной ТЛТ.

Показатели агрегации тромбоцитов на АДФ у пациентов средней степени тяжести после проведения ТЛТ имели тенденцию к достоверному снижению к концу периода наблюдения и с седьмых суток были достоверно ниже нормы (50-60%) - 1 сутки - 49,69 % [49,2; 51,2], 7 сутки - 37,91 % [36,47; 39,91], на 14 сутки - 34,85 % [30,49; 43,29]. У пациентов без ТЛТ были в пределах нормы до четырнадцатых суток - 1 сутки - 57,15 % [53,55; 58,0], на 7 сутки - 47,5 % [43,27; 51,85], на 14 сутки - Ме-54,47 % [49,66; 58,61] (рисунок 2). Эти изменения объясняются активацией тромбоцитов АДФ, тромбином, тромбоксаном А2, и другими проагрегирующими факторами. Через рецепторы тромбоцитов, связанные с G-белком, дополнительно активируется и GPIIb/IIIa-зависимая агрегация тромбоцитов. Конгломерат тромбоцитов постоянно увеличивается за счет выброса новых порций АДФ из вовлекаемых в процесс интактных тромбоцитов. Этот процесс мог бы продолжать распространяться по кровотоку, если бы не был ограничен простагландином I2. В ответ на выделение из агрегирующих тромбоцитов АДФ и тромбоцитарного фактора 3, стимулирующего «внутренний путь» образования тромбина, в неповрежденных эндотелиоцитах и тромбоцитах включается арахидоновый каскад, с образованием простагландина H2, который трансформируется в простагландин I2, препятствующий дальнейшей агрегации тромбоцитов, чем и ограничивает размер агрегата тромбоцитов.

Проведение системной ТЛТ способствует улучшению функции эндотелиоцитов и тромбоцитов, в результате чего концентрация простагландина I2 увеличивается, что ведет к достоверному снижению показателей агрегации тромбоцитов на АДФ у пациентов после проведения ТЛТ. У 29 пациентов после ТЛТ тяжелой степени (более 14 баллов по шкале NIHSS), выявлялось достоверное ($p < 0,05$) снижение показателей индуцированной агрегации тромбоцитов на адреналин (в 1,5 - 2 раза) ниже нормы. В 1 сутки - 25,61 [23,16; 27,37], на 7 сутки - Ме-24,3 [23,83; 25,4], 14 сутки - Ме-20,02 [18,94; 21,05]. У пациентов без ТЛТ ($n=37$) показатели агрегации тромбоцитов на адреналин так же были ниже нормы (45-55) до 14 суток наблюдения: в 1 сутки - 26,5 [24; 28,2], на 7 сутки - Ме-32,35 [29,0; 39,65] и на 14 сутки - Ме-29,66 [27,5; 31,5], однако они не достигали уровня снижения показателей пациентов после ТЛТ (рисунок 3).

Вероятно, эти изменения у пациентов после ТЛТ связаны с повышением продукции тромбоцитами и сосудистой стенкой антиагрегантных веществ. В отличие

от пациентов средней степени тяжести с меньшим очагом поражения ткани мозга в данном случае в механизме агрегации NO играет меньшую роль, так как у пациентов тяжелой степени с большими размерами очага поражения мозговой ткани, гораздо выше степень гипоксии и концентрация свободных радикалов, при этом NO в большей мере расходуется на связывание свободных радикалов.

Показатели агрегации тромбоцитов на ристомидин у пациентов после ТЛТ тяжелой степени были в пределах нормы (50-70%) до конца периода наблюдения так же, как и у пациентов средней степени тяжести после ТЛТ (1 сутки - 54,11 [51,16; 56,98] %, на 7 сутки - Ме-58,9 [55,19; 60,31] %, на 14 сутки - Ме-59,63 [58,98; 62,5] %), а у пациентов тяжелой степени без ТЛТ выше нормы (1 сутки - 76,3 [67,75; 90,65] %, на 7 сутки - Ме-79,25 [74,59; 84,38] %, на 14 сутки - Ме-68,25 [65,51; 73,13] %) (рисунок 4).

Таким образом, нормальные показатели агрегации тромбоцитов у пациентов тяжелой степени заболевания (более 14 баллов по NIHSS) на ристомидин могут рассматриваться как благоприятные прогностические критерии исходов ишемического инсульта.

Показатели агрегации тромбоцитов на АДФ у пациентов с тяжелой степенью заболевания (более 14 баллов) после проведения ТЛТ были достоверно ниже нормы (50-60%) - 1 сутки 44,1 [37,47; 47,04] %, на 7 сутки - Ме-43,18 [37,0; 51,2] %, на 14 сутки - 46,02 [43,33; 47,87] %. Эти данные представлены на рисунке 5. У пациентов без ТЛТ тяжелой степени (более 14 баллов) показатели агрегации тромбоцитов на АДФ были ниже нормы до 7 суток, но имели тенденцию к повышению показателей на четырнадцатые сутки - 1 сутки - 44,9 [33,66; 48,51] %, на 7 сутки - 48,72 [43,18; 52,67] %, на 14 сутки - Ме-48,54 [40,48; 54,98] % (рисунок 5). Динамика показателей агрегации тромбоцитов на АДФ пациентов с ТЛТ и без ТЛТ тяжелой степени (свыше 14 баллов) имела определенную направленность с тенденцией к снижению особенно у пациентов после ТЛТ.

Выявлены особенности динамики показателей спонтанной агрегации тромбоцитов у пациентов тяжелой степени (более 14 баллов по NIHSS) после ТЛТ, что проявлялось повышением спонтанной агрегации тромбоцитов к 7 суткам с последующим снижением к 14 суткам. У большинства пациентов с ТЛТ спонтанная агрегация в 1 сутки не регистрировалась или была в пределах нормы, на 7 сутки - Ме-0,62 [0,57; 0,63] % и на 14 сутки - Ме-0,31 [0,26; 0,32] %. У пациентов без ТЛТ также в 1 сутки спонтанная агрегация не регистрировалась или была в пределах нормы, на 7 сутки - Ме-0,51 [0,2; 0,92] % и на 14 сутки - Ме-1,43 [1,51; 1,66] % (рисунок 6).

У пациентов без проведения ТЛТ повышение спонтанной агрегации на 7 сутки сохранялось до 14 суток наблюдения.

Полученные результаты мониторинга показателей спонтанной агрегации можно рассматривать как дополнительные маркеры тяжести течения сосудистого процесса у больных без проведения ТЛТ.

Среди пациентов тяжелой степени после ТЛТ (более 14 баллов по NIHSS), наблюдалось 13 пациентов

степень восстановления которых была достоверно ниже остальных (Δ NIHSS - 2 [1,72; 2,01] балла). У пациентов после ТЛТ обращали на себя внимание высокие показатели спонтанной агрегации тромбоцитов (1 сутки 3,72 [3,56; 3,87] %, на 7 сутки - 2,33 [0,66; 2,39] % и на 14 сутки - 1,62 [1,47; 1,79] % при норме в 1,25%), которые имели тенденцию к достоверному снижению к четырнадцатым суткам наблюдения. А у пациентов без ТЛТ повышение показателей спонтанной агрегации тромбоцитов сохранялось до конца периода наблюдения - 1 сутки - 3,80 [0,28; 1,87] %, на 7 сутки - 3,73 [0,39; 3,51] % и на 14 сутки - 3,68 [3,39; 3,64] % (рисунок 7). Динамика показателей спонтанной агрегации коррелировала с регрессом клинической симптоматики у пациентов после ТЛТ (от 18 до 16 баллов по NIHSS) с практическим отсутствием регресса

у пациентов без ТЛТ.

Заключение

Таким образом, полученные данные изменений гемостаза на индукторы (адреналин, АДФ, ристомидин) в динамике у пациентов с ишемическим инсультом после проведения системной тромболитической терапии являются маркерными характеристиками тяжести (от 7 и более 14 баллов по шкале NIHSS), и прогноза течения заболевания после тромболитической терапии. ■

А.В. Анисимова, С.С. Галкин, А.С. Гунченко.
ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова
Минздрава России, г. Москва

Литература:

1. Шпрах В.В., Стаховская Л.В., Ключихина О.А. Повторные инсульты: распространенность и летальность. - *Забайкальский медицинский вестник*. 2017. № 2. С. 41-50.
2. Шамалов Н.А., Стаховская Л.В., Тихонова М.А., Анисимов К.В., Царева Н.С. Развитие реперфузионной терапии при ишемическом инсульте в Российской Федерации: достижения и перспективы. - *Фарматека*. 2017. № 9 (342). С. 66-70.
3. Brott T. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale / T. Brott, H.P. Adams, C.P. Olinger, J.R. Marler, W.G. Barsan, J. Biller, J. Spilker, R. Holleran, R. Eberle, V. Hertzberg, M. Rorick, C.J. Moomaw, M. Walker // *Stroke*. -1989. - № 20. - P. 864-870.