

И. А. Гончар<sup>1</sup>, Л. М. Шишло<sup>2</sup>, Т. Ю. Бончковская<sup>1</sup>

## ИМПЕДАНСНАЯ АГРЕГОМЕТРИЯ ТРОМБОЦИТОВ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ИСХОД ОСТРОГО ИНФАРКТА МОЗГА

Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии<sup>1</sup>,

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова

Министерства здравоохранения Республики Беларусь<sup>2</sup>

Цель исследования – определение взаимосвязи между выраженностью нарушений сосудисто-тромбоцитарного гемостаза по данным импедансной агрегометрии тромбоцитов (ИАТ) и функциональным исходом острого инфаркта головного мозга (ИГМ). В исследование включили 72 пациента с острым ИГМ и 14 здоровых человек из группы контроля. Анализ агрегационных свойств кровяных пластинок методом импедансной агрегометрии тромбоцитов (ИАТ) на 10-е сутки инсульта показал достоверное замедление скорости ( $p = 0,040$ ) и степени агрегации ( $p = 0,002$ ), удлинение времени задержки ИАТ ( $p < 0,001$ ) по сравнению с группой контроля. Истощение энергетических запасов кровяных пластинок и снижения их способности к агрегации у лиц с неудовлетворительным функциональным исходом ИГМ объясняет взаимосвязь параметров ИАТ с тяжестью неврологических проявлений инсульта.

**Ключевые слова:** гемостаз, инфаркт мозга, ишемический инсульт, импедансная агрегометрия тромбоцитов, функциональный исход.

I. A. Gontschar, L. M. Shishlo, T. Ju. Banchkouskaya

## IMPEDANCE AGREGOMETRIYA OF PLATELETS AND FUNCTIONAL OUTCOME OF THE SHARP HEART ATTACK OF THE BRAIN

The purpose of investigation – to determine the relationship between the severity of primary hemostasis disturbance according to platelet impedance aggregometry and functional outcome of acute ischemic stroke (IS). The study included 72 patients with acute IS and 14 healthy persons from the control group. Analysis of platelet aggregation properties by impedance aggregometry on the 10<sup>th</sup> day of stroke showed significant reduction of Slope ( $p = 0.040$ ) and of Amplitude of aggregation ( $p = 0.002$ ), prolongation of Lag time ( $p < 0.001$ ) compared with the control group. Energy depletion of platelets and reduce their ability to aggregate in patients with poor functional outcome of IS explains the relationship of impedance aggregometry parameters with the severity of neurological symptoms of stroke.

**Key words:** functional outcome, hemostasis, brain infarct, ischemic stroke, platelet impedance aggregometry.

В этиологии и патогенезе инфаркта головного мозга (ИГМ) значительная роль принадлежит дисрегуляции системы гемостаза [1, 3]. Последнее десятилетие характеризуется пристальным вниманием исследователей к изучению функциональной активности тромбоцитов крови как центрального звена сосудисто-тромбоцитарного гемостаза [1, 5, 9]. Первичная и вторичная профилактика ишемического инсульта основывается на рациональном

применении широкого арсенала лекарственных средств с анти-тромботической активностью [3, 4, 7–9]. На смену оптической агрегометрии приходят новые лабораторные методы исследования функции кровяных пластинок – импедансная агрегометрия тромбоцитов (ИАТ) [2, 7]. В доступной литературе мы не нашли исследований, затрагивающих вопросы прогностической роли определения параметров ИАТ в отношении клинического исхода инфаркта мозга.

**Цель** исследования – определение взаимосвязи между выраженностью нарушений сосудисто-тромбоцитарного гемостаза по данным ИАТ и функциональным исходом острого ИГМ.

**Материал и методы.** В исследование включили 72 пациента с острым ИГМ (средний возраст – 71,5 ± 3,6 г.). Группу контроля составили 14 добровольцев (средний возраст 67,1 ± 7,9 г.), не имеющих клинически значимых кардиоваскулярных, инфекционных, онкологических заболеваний. Возраст пациентов основной и контрольной групп не отличался ( $p = 0,142$ ).

Диагноз ИГМ основывали на клинических и нейрорадиологических данных. Взятие крови для проведения ИАТ осуществляли в 1-е и 10-е сутки лечения в пробирки, содержащие в качестве антикоагулянта 3,8% раствор цитрата натрия при соотношении крови и антикоагулянта 9:1.

Импедансную агрегометрию тромбоцитов в цельной крови выполняли с помощью импедансного люми-агрегометра Chrono-log 700 («CHRONO LOG», США). Принцип метода ИАТ заключается в графическом отображении изменения сопротивления (импеданса) во времени после формирования монослоя кровяных пластинок на открытых частях электрода и стимуляции агрегации на монослое тромбоцитов при добавлении к цельной крови индуктора – раствора аденозиндифосфата (АДФ) в концентрации 10,0 мкмоль/л («Helena», Англия). При проведении ИАТ оценивали 4 показателя: Amplitude Curve – амплитуда кривой (степень) агрегации тромбоцитов, Ом; Slope Curve – наклон кривой (скорость) агрегации, Ом/мин; Lag time – время задержки агрегации, с; Area Under Curve (AUC) – площадь под кривой агрегации, Ом\*мин. Импедансный метод позволяет исследовать тромбоцитарную функцию в присутствии форменных элементов крови цельной крови и сохранении лабильных модуляторов гемостаза. Методические основы проведения ИАТ изложены в опубликованных работах [2, 4].

Протокол исследования одобрен этическим комитетом. Взятие образцов крови для исследования выполняли с соблюдением процедуры добровольного информированного согласия на участие в исследовании.

Статистический анализ данных выполняли с использованием SPSS Statistics 21. Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью критерия Манна-Уитни,  $t$ -критерия Стьюдента, точного критерия Фишера. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Клинические характеристики пациентов с ИГМ, включенных в исследование ИАТ, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Клинические характеристики пациентов с ИГМ (n = 72)

Характеристики	Значения
Мужской пол, чел.	32 (44,4%)
ИГМ в левом КБА	35 (48,6%)
Патогенетический вариант ИГМ: макроангиопатия	40 (55,6%)
кардиоэмболия	15 (20,8%)
микроангиопатия	12 (16,7%)
неуточненная / смешанная этиология	5 (6,9%)
Прогрессирующий инсульт	23 (31,9%)
Транзиторная ишемическая атака или инсульт в анамнезе	18 (25,0%)
Постинфарктный кардиосклероз	7 (9,7%)
Фибрилляция предсердий	27 (37,5%)
Застойная сердечная недостаточность	42 (58,3%)
Артериальная гипертензия 3 ст.	16 (22,2%)
Сахарный диабет	16 (22,2%)

У пациентов с ИГМ выраженность неврологических симптомов инсульта по шкале инсульта Национальных институтов здравоохранения (NIHSS) составила при поступлении 6 {4; 10} баллов, по окончании лечения – 5 {2; 7} баллов. Среднее значение функционального дефицита при выписке соответствовало 3 {2; 4} баллам модифицированной шкалы Рэнкина (МШР). В качестве антиромботической терапии пациентам с острым ИГМ назначали АСК (62 чел.; 86,1%), прямые антикоагулянты (30 чел.; 41,7%), непрямые антикоагулянты (6 чел.; 8,3%).

В таблице 2 сопоставлены данные ИАТ пациентов с ИГМ в сравнении с группой контроля. Инсульт в 1-е сутки характеризовался увеличением времени задержки агрегации тромбоцитов до 47 {34; 73} с, что достоверно превышало аналогичный показатель здоровых лиц - 26 {20; 38} с;  $p < 0,001$ .

Таблица 2. Параметры ИАТ пациентов с острым ИГМ в 1-е сутки госпитализации по сравнению с контролем

Параметры	ИГМ (n = 72)	Контроль (n = 14)	p
Наклон кривой агрегации, Ом/мин	7 {5; 10}	10 {6; 12}	НЗ
Амплитуда кривой агрегации, Ом	5 {3; 8}	8 {5; 10}	НЗ
Время задержки агрегации, с	47 {34; 73}	26 {20; 38}	< 0,001
Площадь под кривой агрегации, Ом*мин	21,8 {10; 37}	32 {20; 37}	НЗ

Примечание. Данные представлены в виде: Медиана (Q1; Q3). НЗ – различия статистически незначимы.

При инсульте анализ данных ИАТ на 10-е сутки лечения демонстрировал уменьшение наклона кривой (7 {3; 10} и 10 {6; 12} Ом/мин соответственно;  $p = 0,040$ ) и амплитуды (5 {2; 7} и 9 {6; 10} Ом соответственно;  $p = 0,002$ ) агрегации тромбоцитов с раствором АДФ высокой концентрации по сравнению с группой контроля (табл. 3). Одновременно наблюдалось удлинение времени задержки агрегации: 47 {34; 73} и 26 {20; 38} с соответственно;  $p < 0,001$ , свидетельствующее об истощении запасов собственных агонистов в гранулах тромбоцитов и снижении их способности к агрегации.

Таблица 3. Параметры ИАТ пациентов с острым ИГМ на 10-е сутки госпитализации по сравнению с контролем

Параметры	ИГМ (n = 46)	Контроль (n = 14)	p
Наклон кривой агрегации, Ом/мин	7 {3; 10}	10 {6; 12}	0,040
Амплитуда кривой агрегации, Ом	5 {2; 7}	9 {6; 10}	0,002
Время задержки агрегации, с	47 {31; 80}	34 {22; 39}	0,005
Площадь под кривой агрегации, Ом*мин	21 {10; 35}	32 {20; 40}	НЗ

Примечание. Данные представлены в виде: Медиана (Q1; Q3). НЗ – различия статистически незначимы.

У пациентов с ИГМ скорость, степень и площадь под кривой агрегации были ниже, чем у добровольцев из группы контроля. Снижение скорости и степени ИАТ является закономерными изменениями на фоне удлинения времени задержки, что свидетельствует о снижении порога чувствительности рецепторного аппарата и замедлении ответной секреторной реакции тромбоцитов в остром периоде ИГМ на индуктор АДФ высокой концентрации.

Проведен анализ показателей ИАТ пациентов, скончавшихся в течение 30 суток после развития симптомов инсульта. Различия достигали статистической значимости в группах умерших и выживших пациентов при сравнении площади под кривой агрегации в 1-е сутки ИГМ: 6 {4; 6} и 21 {10; 37} Ом\*мин соответственно;  $p = 0,041$ .

Данные ИАТ в 1-е сутки обследования у пациентов с различным функциональным исходом инсульта значимо не различались (табл. 4). Однако на 10-е сутки в группе пациентов с оценкой 5–6 баллов МШР выявлено состояние гиперагрегации тромбоцитов, проявляющееся достоверным увеличением скорости агрегации по сравнению с пациентами с оценкой 0–4 балла МШР: 9 {8; 18} и 6 {2; 9} Ом / мин соответственно;  $p = 0,035$ . Одновременно отмечалось сокращение времени задержки агрегации тромбоцитов: 27 {20; 44} и 50 {35; 97} с соответственно;  $p = 0,019$ .

Таблица 4. Параметры ИАТ в зависимости от функционального исхода ИГМ при выписке (n = 72)

Параметры	Клинический исход ИГМ		p
	МШР 0–4 балла (n = 61)	МШР 5–6 баллов (n = 11)	
Наклон кривой агрегации, Ом/мин, 1-е сутки	7 {5; 10}	6 {5; 10}	НЗ
Амплитуда кривой агрегации, Ом, 1-е сутки	5 {3; 8}	4 {3; 6}	НЗ
Время задержки агрегации, с, 1-е сутки	45 {34; 79}	55 {35; 66}	НЗ
Площадь под кривой агрегации, Ом*мин, 1-е сутки	22 {10; 37}	14 {6; 26}	НЗ
Наклон кривой агрегации, Ом/мин, 10-е сутки	6 {2; 9}	9 {8; 18}	0,035
Амплитуда кривой агрегации, Ом, 10-е сутки	4 {2; 7}	6 {3; 14}	НЗ
Время задержки агрегации, с, 10-е сутки	50 {35; 97}	27 {20; 44}	0,019
Площадь под кривой агрегации, Ом*мин, 10-е сутки	20 {10; 34}	32 {13; 75}	НЗ

Примечание. Данные представлены в виде: Медиана (Q1; Q3). НЗ – различия статистически не значимы.

В ходе исследования установлена взаимосвязь показателей ИАТ с выраженностью неврологической симптоматики. В 1-е сутки обследования выраженный неврологический дефицит (NIHSS  $\geq 15$  баллов), соответствующий обширному очагу инфаркта мозга, характеризовался сокращением площади на агрегационной кривой по сравнению с легким или умеренным нарушением неврологических функций: 8 [5; 17] и 22 [11; 39] Ом  $\times$  мин соответственно;  $p = 0,007$ .

Параметры ИАТ в 1-е сутки пребывания в клинике были взаимосвязаны с выраженностью неврологических симптомов инсульта

по окончании лечения (табл. 5). Так, пациенты с оценкой  $\geq 15$  баллов NIHSS при выписке характеризовались снижением скорости (наклона кривой) ИАТ (5 [3; 6] и 8 [5; 10] Ом/мин соответственно;  $p = 0,046$ ) и площади под агрегационной кривой (6 [5; 11] и 22 [10; 38] Ом  $\times$  мин соответственно;  $p = 0,008$ ) по сравнению с пациентами с оценкой  $< 15$  баллов NIHSS. Необходимо отметить, что взаимосвязь с выраженностью неврологических симптомов инсульта при выписке была обнаружена лишь для показателей ИАТ в 1-е сутки лечения; параметры ИАТ, измеренные на 10-е сутки, подобных ассоциаций с исходом инсульта не продемонстрировали.

Таблица 5. Параметры ИАТ в зависимости от выраженности неврологического дефицита при выписке (n = 46)

Параметры ИАТ	NIHSS 0–14 баллов (n = 66)	NIHSS $\geq 15$ баллов (n = 6)	p
Наклон кривой агрегации, Ом/мин, 1-е сутки	8 [5; 10]	5 [3; 6]	0,046
Амплитуда кривой агрегации, Ом, 1-е сутки	5 [3; 8]	3 [3; 4]	НЗ
Время задержки агрегации, с, 1-е сутки	43 [34; 74]	65 [56; 82]	НЗ
Площадь под кривой агрегации, Ом $\times$ мин, 1-е сутки	22 [10; 38]	6 [5; 11]	0,008
Наклон кривой агрегации, Ом/мин, 10-е сутки	7 [2; 10]	6 [3; 6]	НЗ
Амплитуда кривой агрегации, Ом, 10-е сутки	5 [2; 7]	2 [2; 2]	НЗ
Время задержки агрегации, с, 10-е сутки	47 [31; 82]	41 [4; 57]	НЗ
Площадь под кривой агрегации, Ом $\times$ мин, 10-е сутки	22 [10; 37]	3 [4; 8]	НЗ

Примечание. Данные представлены в виде: Медиана (Q1; Q3). НЗ – различия статистически не значимы.

По данным ИАТ, в 1-е и 10-е сутки инсульта время задержки агрегации статистически значимо превосходило аналогичный параметр контрольной группы:  $p < 0,001$  и  $p = 0,005$  соответственно. Данный параметр импедансной агрегатометрии тромбоцитов демонстрирует быстроту реакции высвобождения из секреторных гранул кровяных пластинок собственных агонистов, которая является функциональным ответом тромбоцитов на действие внешнего индуктора ИАТ [2, 10]. На 10-е сутки инфаркта мозга скорость и степень ИАТ с раствором АДФ высокой концентрации (10 мкмоль/л) были достоверно ниже, чем аналогичные показатели группы контроля:  $p = 0,040$  и  $p = 0,002$  соответственно.

Грубый неврологический дефицит в дебюте ИГМ сопровождался достоверным сокращением площади ИАТ при поступлении в стационар ( $p = 0,007$ ). Неудовлетворительный функциональный исход инсульта, сопровождающийся тяжелой степенью неврологического дефицита на момент выписки (15–42 баллов по NIHSS), был ассоциирован со снижением скорости ( $p = 0,046$ ) и площади под кривой агрегации ИАТ ( $p = 0,008$ ), определенным в 1-е сутки госпитализации. Уменьшение площади под кривой агрегации отмечено также при обследовании в 1-е сутки пациентов, скончавшихся в течение 30 суток наблюдения после инсульта, по сравнению с выжившими ( $p = 0,041$ ). Снижение площади под кривой ИАТ в случае неблагоприятного клинического исхода ИГМ демонстрирует замедление ответной секреторной реакции тромбоцитов в остром периоде инсульта на индуктор АДФ высокой концентрации. Известно, что у пациентов с инфарктом мозга кровяные пластинки обладают низкой чувствительностью к высоким дозам АДФ, используемой в качестве индуктора агрегации, вследствие хронической стимуляции их функциональной активности на фоне атероматоза церебральных артерий и эндотелиальной дисфункции [1, 2, 7].

Японские авторы выполнили исследование ИАТ в остром (1–7-е сутки, 14–21-е сутки), подостром (4–5-я неделя) периодах инсульта (n = 22 чел.) [10]. При первом (20,5  $\pm$  4,4 Ом) и втором (21,6  $\pm$  7,3 Ом) заборах крови степень агрегации кровяных пластинок пациентов с ИГМ была достоверно ниже, чем в контрольной группе (25,7  $\pm$  5,5 Ом;  $p < 0,05$  в обоих случаях). В то же время по прошествии 4–5 недель агрегационная активность тромбоцитов восстанавливалась практически до уровня здоровых лиц (25,5  $\pm$  11,3 Ом;  $p < 0,05$  при сравнении с контролем). Наши данные также выявили снижение степени ИАТ в 1-е и 10-е сутки инсульта по сравнению с контрольной группой (табл. 2, 3).

Проведенное исследование показало, что показатели ИАТ, отражающие состояние первичного гемостаза, демонстрируют клинически значимую взаимосвязь с функциональным исходом инсульта. Сохранение агрегационных свойств кровяных пластинок на фоне антитромботических лекарственных средств свидетельствует о недостаточной эффективности проводимой терапии. В этом контексте необходимо отметить, что целью медикаментозного воздействия в остром периоде ИГМ является не достижение полной нормализации параметров ИАТ, а перевод системы гемостаза на безопасный

уровень, позволяющий, с одной стороны, обеспечить профилактику повторного инсульта, а с другой, снизить риск геморрагических осложнений. С учетом данных аспектов была разработана и внедрена в клиническую практику учреждений здравоохранения инструкция по применению [4], включающая алгоритм диагностики нарушений первичного и вторичного гемостаза, ассоциированных с неудовлетворительным исходом лечения пациентов с ИГМ.

Таким образом, анализ агрегационных свойств тромбоцитов в цельной крови на 10-е сутки инсульта показал снижение скорости ( $p = 0,040$ ) и степени агрегации ( $p = 0,002$ ) по сравнению с группой контроля. Одновременно наблюдалось удлинение времени задержки ИАТ ( $p < 0,001$ ), свидетельствующее об истощении способности кровяных пластинок к агрегации. В результате исследования определена взаимосвязь параметров ИАТ с тяжестью неврологических проявлений и функциональным исходом острого ИГМ, информация о чем в ранее проведенных исследованиях отсутствовала.

#### Литература

- Андросюк, Н. Г. Неоптическая импедансная агрегатометрия в оценке эффективности двойной антитромботической терапии у пациентов с ишемической болезнью сердца / Н. Г. Андросюк, Е. А. Попов // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2014. – № 4 (60). – С. 34–37.
- Возможности импедансной агрегатометрии тромбоцитов у пациентов с сердечно-сосудистыми и цереброваскулярными заболеваниями / Ю. И. Степанова, Л. М. Шишло, И. А. Гончар, Л. И. Алехнович // Военная медицина. – 2011. – № 4 (21). – С. 95–99.
- Гончар, И. А. Критерии диагностики и некоторые аспекты лечения основных патогенетических вариантов ишемического инсульта при артериальной гипертензии / И. А. Гончар, Г. К. Недзьведь, С. А. Лихачев // Медицинская панорама. – 2005. – № 11. – С. 73–75.
- Методы диагностики и лечения нарушений сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза при остром инфаркте мозга: Инструкция по применению № 228-1213, утв. 27.12.2013 / И. А. Гончар [др.] // Минск. – 2014. – 15 с.: www.slideshare.net.
- Показатели оптической агрегатометрии тромбоцитов в остром периоде инфаркта мозга / И. А. Гончар [и др.] // Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа. – 2011. – № 3. – С. 76–85.
- Столяр, М. А. Диагностическое значение определения агрегационной активности тромбоцитов методом импедансометрии / М. А. Столяр, И. А. Ольховский // Бюллетень лабораторной службы. – 2012. – Вып. 15. – С. 27–42.
- Столяр, М. А. Определение аспиринорезистентности тромбоцитов in vitro по данным оптического и импедансометрического методов / М. А. Столяр, И. А. Ольховский // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2012. – Т. 10, Вып. 5. – С. 36–42.
- Global stroke statistics / A. G. Triff [et al.] // Int J Stroke. – 2014. – Vol. 9 (1). – P. 6–18.
- Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/ American Stroke Association / E. C. Jauch [et al.] // Stroke. – 2013. – Vol. 44 (3). – P. 870–947.
- Platelet Volume, Aggregation, and Adenosine Triphosphate Release in Cerebral Thrombosis / H. Tohgi, H. Suzuki, K. Tamura, B. Kimura // Stroke. – 1991. – Vol. 22, N 1. – P. 17–21.

Поступила 9.02.2015 г.