

На правах рукописи

ГАФАРОВА МАРИНА ЭДУАРДОВНА

**Гемостатические и гемореологические факторы
при тромболитической терапии острого ишемического инсульта**

14.01.11 – нервные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр неврологии»

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук

Домашенко Максим Алексеевич

Научный консультант:

доктор биологических наук

Соколова Ирина Анатольевна

Официальные оппоненты:

Дамулин Игорь Владимирович, доктор медицинских наук, профессор кафедры нервных болезней лечебного факультета Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Виноградов Олег Иванович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой неврологии с курсом нейрохирургии Факультета усовершенствования врачей Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского

Защита состоится «27» октября 2015 г., в 11.00 часов на заседании диссертационного совета Д.001.006.01 при ФГБНУ НЦН по адресу: 125367, Москва, Волоколамское шоссе, 80

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ НЦН. 125367, Москва, Волоколамское шоссе, 80 и на сайте www.neurology.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д.001.006.01,
кандидат медицинских наук

Е.В. Гнедовская

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Цереброваскулярные заболевания представляют собой широкий спектр состояний, характеризующихся нарушением кровоснабжения ткани мозга и связанным с этим развитием разнообразной клинической симптоматики. Согласно официальным статистическим данным Министерства Здравоохранения Российской Федерации, в 2012 году заболеваемость цереброваскулярными заболеваниями составила 794,4 человек на 100 000 населения, а заболеваемость ишемическими нарушениями мозгового кровообращения – 207,3 человек на 100 000 населения [Александрова Г.А., 2013]. Распространённость и социально-экономическая значимость острых нарушений мозгового кровообращения определяет огромный и неослабевающий интерес к данной проблеме [Суслина З.А., Пирадов М.А., 2008].

Ишемический инсульт составляет до 80% всех случаев острого нарушения мозгового кровообращения [Гусев Е.В. и соавторы, 2007]. Единственным доказанным методом лечения ишемического инсульта (ИИ) на настоящий момент считается реперфузионная терапия, направленная на быстрое восстановление нарушенного кровотока. Наиболее часто применяемым методом достижения реперфузии является внутривенное введение рекомбинантного тканевого активатора плазминогена в течение 4,5 часов от момента появления неврологической симптоматики [Jauch E.C. et al., 2013].

Одной из первоочередных задач помощи пациентам с инсультом в настоящее время считают поиск прогностических факторов, определяющих эффективность и безопасность реперфузионной терапии при ИИ. При любом подтипе ИИ отмечается нарушение процесса циркуляции крови по микрососудам [del Zorro G.J., Mabuchi T., 2003]. Высказывается мнение, что эффект тромболитической терапии может определяться не только восстановлением просвета крупного окклюзированного сосуда, но и сопутствующим улучшением микроциркуляции [Ginsberg M.D., 2011], состояние которой во многом зависит от свойств крови [Pries A.R. et al., 1996]. Показатели гемостаза, параметры кинетики агрегации и дезагрегации

эритроцитов и их деформируемости связаны с кровотоком по микрососудам при разных патологических состояниях, в том числе, в условиях ишемии мозга [Суслина З.А. и соавт., 2005, Dalkara T., Arsava E.M., 2012].

Тем не менее, на настоящий момент в литературе практически не представлены экспериментальные и клинические работы, посвященные комплексному анализу гемостатических и гемореологических факторов с оценкой их влияния на микроциркуляцию при тромболитической терапии ИИ, а также на функциональный исход заболевания. Таким образом, представляется актуальным исследование данных показателей крови в остром периоде ИИ, в том числе, на фоне проведения внутривенной тромболитической терапии.

В связи с этим была поставлена **цель исследования:** экспериментальными и клиническими методами изучить гемостатические и гемореологические факторы, оказывающие влияние на течение ишемического инсульта, в том числе, на фоне проведения внутривенной тромболитической терапии.

Задачи исследования:

1. Экспериментально исследовать гемореологические параметры, а также характеристики очага ишемии на тромбоэмболической модели ишемического инсульта.
2. Изучить клинические особенности течения и функциональный исход у пациентов с различными подтипами ишемического инсульта при проведении тромболитической терапии.
3. Изучить динамику гемостатических и гемореологических показателей у пациентов с острым ишемическим инсультом на фоне тромболитической терапии.
4. Изучить возможную связь гемостатических и гемореологических изменений с данными нейровизуализации и клиническим течением ишемического инсульта на фоне тромболитической терапии.
5. На основании полученных данных уточнить прогностическую значимость маркеров неблагоприятного исхода при ишемическом инсульте на фоне проведения тромболитической терапии.

Научная новизна

Впервые изучены гемореологические параметры на экспериментальной модели тромбоэмболического инсульта и их связь с показателями неврологического статуса и нейровизуализационными данными. Впервые оценена клиническая и прогностическая значимость гемостатических и гемореологических нарушений у больных с острым ишемическим инсультом на фоне тромболитической терапии. Впервые определена связь между гемостатическими и гемореологическими показателями и нейровизуализационными характеристиками у больных с острым ишемическим инсультом на фоне тромболитической терапии. Впервые проведена комплексная оценка течения ишемического инсульта на фоне тромболитической терапии на основании динамического изучения гемостатических и гемореологических показателей, а также клинических и нейровизуализационных показателей.

Практическая значимость

Полученные данные позволяют уточнить прогностическую значимость изменения гемостатических и гемореологических показателей, а также таких феноменов, как реперфузия и реканализация, в качестве предикторов наступления благоприятного исхода у пациентов с острым ишемическим инсультом, в том числе, на фоне проведения тромболитической терапии.

Полученные данные могут быть использованы для расширения представлений о механизмах улучшения микроциркуляции при тромболитической терапии у пациентов с ишемическим инсультом, а также о клинической значимости этого эффекта.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Тромбоэмболическая модель инсульта у крыс позволяет воспроизвести характерную для ишемического инсульта неврологическую симптоматику и сопровождается определенными гемореологическими изменениями.
2. Системная тромболитическая терапия сопряжена с более высокими темпами восстановления неврологических функций у пациентов с ишемическим инсультом вне зависимости от его патогенетического подтипа.

3. Выраженность неврологической симптоматики у пациентов с ишемическим инсультом коррелирует с размерами области необратимых ишемических изменений при диффузионно-взвешенной МРТ и гипоперфузии по КТ-перфузии. Реканализация и реперфузия сопряжены с благоприятным исходом у пациентов, получивших тромболитическую терапию, в отличие от пациентов, получивших базисную терапию, у которых спонтанная реканализация и реперфузия, наступающие в более поздние сроки (более 48 часов), не влияют на функциональный исход.
4. Совокупность гемостатических и гемореологических изменений может оказать влияние на эффективность системной тромболитической терапии.
5. Клинические, нейровизуализационные и лабораторные маркеры дают возможность прогнозировать благоприятный исход у пациентов с ишемическим инсультом как на фоне тромболитической терапии, так и без нее.

Апробация работы

Работа апробирована и рекомендована к защите на совместном заседании сотрудников 1,2,3,5,6 неврологических отделений, научно-консультативного отделения, отделения лучевой диагностики, научно-координационного отдела, отделения нейрореабилитации и физиотерапии, лаборатории клинической нейрофизиологии, лаборатории эпидемиологии и профилактики заболеваний нервной системы, лаборатории патологической анатомии, лаборатории гемореологии и нейроиммунологии, лаборатории клинической фармакокинетики, лаборатории нейрохимии ФГБНУ НЦН от 2 июля 2015 года. Материалы диссертации были представлены и обсуждены на XXII-м съезде физиологического общества имени И.П. Павлова (Волгоград, 2013), Международной научной конференции «Микроциркуляция и гемореология» (Ярославль, 2013), 10-м международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2014), IX World Stroke Congress (Istanbul, 2014), III Российском Международном Конгрессе «Цереброваскулярная патология и инсульт» (Казань, 2014), Joint Congress of European Neurology (Istanbul, 2014), 1st European Academy of Neurology Congress (Berlin, 2015).

Внедрение результатов работы

Полученные результаты внедрены в практику работы 2 неврологического отделения, лаборатории гемореологии и нейроиммунологии с клинической лабораторной диагностикой ФГБНУ НЦН.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 7 печатных работ в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Личный вклад автора

Автору принадлежит определяющая роль в постановке целей и задач исследования, а также в обосновании выводов и практических рекомендаций. Проводились сбор анамнеза, подробный неврологический осмотр пациентов, оценка их по клиническим шкалам, тромболитическая и другая медикаментозная терапия. Самостоятельно проводилось лабораторное исследование гемостатических и гемореологических параметров. Самостоятельно выполнена экспериментальная часть работы с постановкой модели тромбоэмболического инсульта. Самостоятельно проведен статистический анализ полученных данных.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 169 страницах машинописного текста, содержит 39 таблиц и иллюстрирована 37 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, общей характеристики обследованных лиц и методов исследования, 2 глав собственных результатов, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы. Библиографический указатель содержит 185 источника литературы, из которых 40 отечественных и 145 иностранных авторов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика экспериментальной части исследования

В экспериментальное исследование были включены лабораторные инбредные крысы (самцы) линии Wistar из питомника ГНЦ РФ Институт

медико-биологических проблем Российской академии наук. Средний вес крыс на момент эксперимента варьировал от 215 до 460 грамм, составляя, в среднем, 330 [250;372] грамм. Животных содержали в стандартных условиях вивария при смене цикла день/ночь 12 часов/12 часов, с постоянным доступом к еде и воде, как до проведения операции, так и после нее. Тромбоэмболическая модель фокального ишемического инсульта аутологичным тромбом была выполнена в соответствии с описанием Zhang Z. et al. (1997), в ходе чего тромб доставляли к основанию средней мозговой артерии крысы, что вызывало её закупорку и развитие очагового ишемического поражения головного мозга.

Девять животных были включены в экспериментальную группу (истинная операция), в которой проводилось введение аутологичного тромба; 10 животных вошли в контрольную группу (ложная операция), которым вместо тромба во внутреннюю сонную артерию вводили 50 мкл физиологического раствора. После операции животным, наркотизированным дыхательной смесью 2% изофлурана и кислорода, проводилось МРТ-исследование головного мозга (индукция магнитного поля 7 Тл, мощность градиентной системы 200 мТл/м, BioSpec 70/30 USR, Bruker, Германия) с целью оценки объема очага, в режимах T1-ВИ, T2-ВИ, а также диффузионно-взвешенная МРТ (ДВ-МРТ). У 6 из 19 животных проводили морфометрический анализ цифровых изображений объема очага при сканировании срезов головного мозга, окрашенных 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом. Неврологический статус у животных до и после операции оценивали по шкале оценки инсульта Макгроу и шкале Бендерсона. Кроме того, проводили тест ходьбы по решетке в течение 2 минут, отмечая количество проваливаний лапы крысы. Далее у животных, наркотизированных внутрибрюшинным введением хлоральгидрата в дозе 400 мг/кг, проводили забор крови из подключичной вены для определения гематокрита (гематокритная микроцентрифуга CM-70 (ELMI Ltd, Латвия) и измерения гемореологических параметров – кинетики агрегации и дезагрегации, а также деформируемости эритроцитов (агрегометр-деформометр "LADE", ReoMedLab, Россия).

Общая характеристика клинической части исследования

Всего в клинической части исследования приняли участие 133 пациента в остром периоде ИИ, из которых 59% составили мужчины (79 человек) и 41% – женщины (54 человека), в возрасте от 27 до 80 лет (средний возраст 64 [57;71] года).

Основными критериями включения в исследование являлись: 1) ишемический инсульт, верифицированный при нейровизуализации (в том числе, отсутствие внутримозговых кровоизлияний); 2) время поступления – первые 4,5 часа от появления неврологической симптоматики для группы больных, которым проводилась системная тромболитическая терапия (ТЛТ), и первые 48 часов – для контрольной группы; 3) отсутствие противопоказаний для проведения системной ТЛТ в соответствии с отечественными методическими рекомендациями (2014), рекомендациями Американской ассоциации кардиологов и специалистов по инсульту (American Heart and Stroke Association), а также Европейской организации по изучению инсульта (European Stroke Organisation) [Jauch E.C. et al., 2013, European Stroke Organisation, 2009]; 4) отсутствие противопоказаний к проведению МРТ или КТ головного мозга.

Всем пациентам проводилась терапия в соответствии с международными и отечественными рекомендациями: гемодилюция, гипотензивная терапия, антиагрегантная терапия препаратами ацетилсалициловой кислоты (у пациентов после системной ТЛТ – спустя 24 часа от начала развития симптоматики, в группе сравнения – с момента поступления), антикоагулянтная терапия препаратами из группы низкомолекулярных гепаринов (всем пациентам с выраженными двигательными нарушениями спустя 48 часов от начала ИИ для профилактики венозных тромбоэмболических осложнений) и пероральными антикоагулянтами (пациентам с кардиоэмболическим инсультом спустя 7-14 суток, в зависимости от величины инфаркта мозга), нейрометаболическая терапия, гиполипидемическая терапия (статины), ранняя реабилитация.

Определение патогенетического подтипа ИИ проводилось в соответствии с классификацией и отечественными методическими рекомендациями [Суслина З.А., Пирадов М.А., 2008]. Степень выраженности неврологической

симптоматики оценивали при поступлении, на 7-е и 21-е сутки заболевания у пациентов обеих групп. Для этого использовали шкалу инсульта Национальных институтов здоровья США (NIHSS, National Institutes of Health Stroke Scale). Функциональную активность оценивали при поступлении и на 21-е сутки после инсульта по индексу уровня бытовой активности Бартель. Функциональный исход оценивали через 3 месяца после развития инсульта по модифицированной шкале Рэнкина (mRS, modified Rankin Scale). Благоприятным исходом инсульта считали достижение оценки 2 и менее баллов по mRS.

Лабораторные методы обследования

Для проведения лабораторных исследований у пациентов производился забор крови из локтевой вены в момент поступления до тромболитической терапии, далее натощак с утра на 1-е, 7-е и 21-е сутки (в группе контроля – при поступлении, на 7-е и 21-е сутки). Исследование агрегации тромбоцитов (под воздействием индукторов – адреналина и аденозиндифосфата (АДФ)) проводилось по методу Born G., 1962 [Born G., 1962], усовершенствованном O'Brien J., 1964 [O'Brien J., 1964], при воздействии АДФ в конечной концентрации $1,2 \cdot 10^{-6}$ мМ (АТ-АДФ) и адреналина в концентрации $6,2 \cdot 10^{-6}$ мМ (АТ-Адр) на агрегометре Алат 2 (Biola Ltd., Россия). Исследование основных показателей гемостаза – уровня фибриногена по методу Клауса, международного нормализованного отношения (МНО), протромбинового индекса, активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) – проводили иммунотурбидиметрическим методом с помощью автоматического коагулометра ACL 9000 (Instrumentation Laboratory, США, реагенты той же фирмы). Гематокрит определяли путем центрифугирования на гематокритной центрифуге Heraeus pico, Thermo Fisher (Германия). Кинетику агрегации и дезагрегации эритроцитов, а также их деформируемость исследовали с помощью лазерного оптического ротационного клеточного анализатора LORCA (Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer, Mechatronics the Netherlands, Нидерланды). Оценивали такие показатели, как характерные времена первой и второй фаз агрегации (Ts и Tf), амплитуду агрегации (Amp), индекс агрегации

(AI), прочность эритроцитарных агрегатов (γ -dis), а также максимальную деформируемость эритроцитов в сдвиговом потоке ID_{max} .

Нейровизуализационные методы исследования: пациентам обеих групп при поступлении, а также на 2-3-и и 21-е сутки проводили МРТ головного мозга в режимах T2-ВИ, T1-ВИ, T2-FLAIR, T2*-ВИ и диффузионно-взвешенную МРТ (ДВ-МРТ) (магнитно-резонансный томограф с величиной магнитной индукции 1,5 Тл Magnetom Symphony, Siemens, Германия). Оценивали площадь очага инфаркта, то есть необратимых ишемических изменений вещества головного мозга, при поступлении, на 2-3-и сутки и на 21-е сутки на срезе с максимальным диаметром очага, с последующим вычислением его площади. Для оценки площади области гипоперфузии (ядра ишемии и ишемической полутени) и определения ее состояния в динамике проводилась КТ-перфузия головного мозга при поступлении, на 2-3-и и 21-е сутки (компьютерный томограф Philips Brilliance 16P, Royal Philips Electronics, Голландия).

Определяли наличие нарушения проходимости интракраниальных и экстракраниальных артерий на основании сопоставления данных МР- и/или КТ-ангиографии, а также при цветовом дуплексном сканировании экстракраниальных артерий (приборы Logiq 9, «GE», США, и iU 33, «Phillips», Голландия).

Статистический анализ проводили с применением пакетов компьютерных прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft, 2011) и MedCalc 11.5.0.0 (MedCalc Software, 2014). Для количественной оценки данных вычислялись описательные статистические показатели – абсолютное и относительное (проценты) количество пациентов; медиана, 25% и 75%-й квартили (Me [25%; 75%]). При сравнении групп пациентов применялись следующие непараметрические критерии: критерий Вилкоксона для сравнения двух зависимых признаков, критерий Фридмана для сравнения трех и более зависимых признаков, критерий Манна-Уитни для сравнения двух независимых признаков, критерий Краскелла-Уоллеса для сравнения трех и более независимых признаков. Для сравнения частот бинарного признака в двух независимых группах проводился анализ таблиц 2x2 с вычислением критерия χ^2 -квадрат. Для анализа связи признаков

применялся непараметрический метод Спирмена с определением коэффициента корреляции ρ .

Для выявления маркеров неблагоприятного исхода острого периода инсульта (оценка по mRS 3 балла и более), проводили расчет отношения шансов (для бинарных показателей) и ROC-анализ (Receiver Operating Characteristic) по методу De Long, 2014 (для количественных показателей). Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол №11/13 от 13.11.13 г.). Все участники перед выполнением исследования прошли процедуру подписания информированного согласия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментальная часть работы

Экспериментальная и контрольная группы не различались по массе тела (ни до, ни после операции), по длительности операции и по времени пробуждения после наркоза. В экспериментальной группе объем инфаркта мозга крысы составил в среднем $281 [182; 306] \text{ мм}^3$. В контрольной группе животных не было выявлено поражения вещества головного мозга (рис. 1).

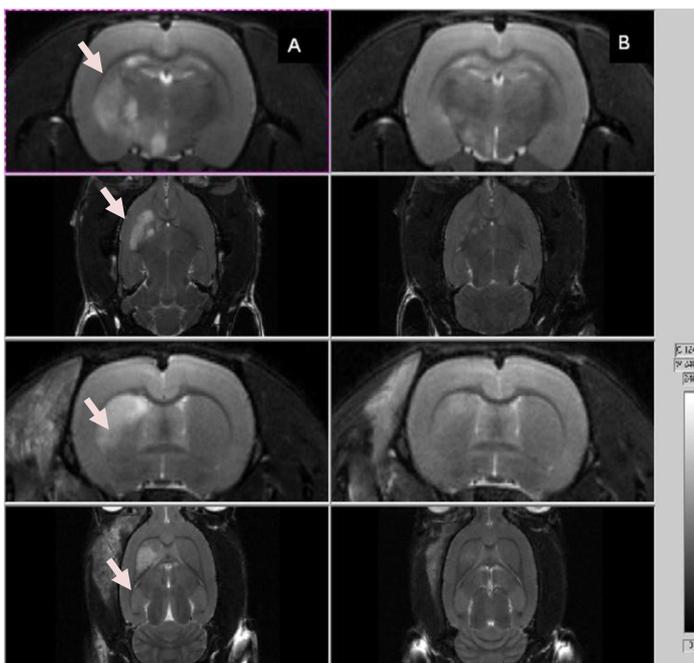


Рисунок 1. Магнитно-резонансная томография головного мозга крысы (T1-ВИ) в экспериментальной группе («А», область инфаркта указана светлыми стрелками) и в контрольной группе («В») на 2-е сутки после операции.

Выраженность неврологической симптоматики, оцененная по шкале Бендерсона, оказалась прямо связана с объемом очага поражения ($p=0,810$, $p=0,008$). Большинство показателей крови не различались у животных контрольной и экспериментальной групп, однако оказалось, что у крыс с тромбоэмболическим инсультом снижена гидродинамическая прочность эритроцитарных агрегатов – $36,9[30,9; 46,4]$ сек⁻¹ в сравнении с $50,6[43,8;54,8]$ сек⁻¹ в контрольной группе ($p=0,022$). При оценке корреляционных связей оказалось, что в экспериментальной группе выраженность неврологической симптоматики по шкале Макгроу коррелирует с ускорением начальных этапов образования агрегатов эритроцитов ($p=0,771$, $p=0,025$).

Таким образом, при тромбоэмболической модели инсульта воспроизводились характерные неврологические проявления, сопровождавшиеся гемореологическими изменениями, в частности, ускорением агрегации эритроцитов и уменьшением прочности эритроцитарных агрегатов.

Клиническая часть работы

В *основную группу* вошло 70 пациентов с ИИ в возрасте от 32 до 76 лет (средний возраст $61[54;69]$ год), из них 48 мужчин (69%) и 22 женщины (31%), которые поступили в первые 4,5 часа от момента развития неврологической симптоматики. Пациентам проводили тромболитическую терапию (ТЛТ) препаратом альтеплаза (рекомбинантным тканевым активатором плазминогена) в дозе 0,9 мг/кг (не более 90 мг) в разведении 1 мг/мл раствора для инъекций; при этом 10% препарата вводилось внутривенно струйно в течение 1 минуты, далее внутривенно капельно вводили остальные 90% препарата в течение 1 часа.

В *контрольную группу* вошли 63 пациента с ИИ в возрасте от 27 до 80 лет (средний возраст $67[58;73]$ лет), из них 31 мужчина (49%) и 32 женщины (51%), которые поступили в клинику в период более 4,5 часов, но менее 48

часов от момента развития неврологической симптоматики, и которым не проводилась ТЛТ.

В *основной группе* в 29 случаях (41%) был диагностирован атеротромботический инсульт (АТИ), в 33 (47%) – кардиоэмболический инсульт (КЭИ), лакунарный инсульт (ЛИ) – у 3 (4%) больных и у 5 (7%) больных – инсульт вследствие коагулопатии (КИ). В *контрольной группе* в 23 случаях (37%) был диагностирован АТИ, в 25 (40%) – КЭИ, ЛИ – у 12 (19%) больных и у 3 (5%) больных – КИ. По соотношению подтипов инсульта группы были сопоставимы между собой. В таблице 1 приведено сравнение выраженности неврологической симптоматики у пациентов обеих групп в зависимости от подтипа инсульта.

Таблица 1

Выраженность неврологической симптоматики у обследованных пациентов при поступлении (по шкале NIHSS)

NIHSS при поступлении	Все подтипы инсульта	АТИ	КЭИ	ЛИ	КИ	*р
Основная группа, баллы	15 [11; 17]	15 [13;17]	15 [11;17]	8 [8; 10]	15[14;18]	0,350
Контрольная группа, баллы	9 [6; 13]	9 [6; 12]	11 [8;15]	7 [5;10]	10[6;17]	0,293
#р	<0,001	<0,001	0,059	0,531	0,252	

Примечание: АТИ – атеротромботический подтип инсульта, КЭИ – кардиоэмболический подтип инсульта, ЛИ – лакунарный инсульт, КИ – инсульт вследствие коагулопатии. *р – при сравнении показателей внутри группы. #р – при сравнении показателей между группами.

Таким образом, пациенты основной группы с АТИ и КЭИ отличались большей выраженностью неврологической симптоматики, чем аналогичные пациенты контрольной группы. В основной группе уменьшение выраженности неврологической симптоматики отмечалось уже в пределах 24 часов после начала заболевания ($p < 0,001$). В то же время, в контрольной группе регресс неврологической симптоматики наблюдался позже, только на 7-е сутки ($p < 0,001$) (рис. 2). Таким образом, пациенты основной группы отличались

большей выраженностью неврологической симптоматики, чем пациенты контрольной группы, однако темпы их восстановления оказались выше, что можно объяснить эффектом ТЛТ.

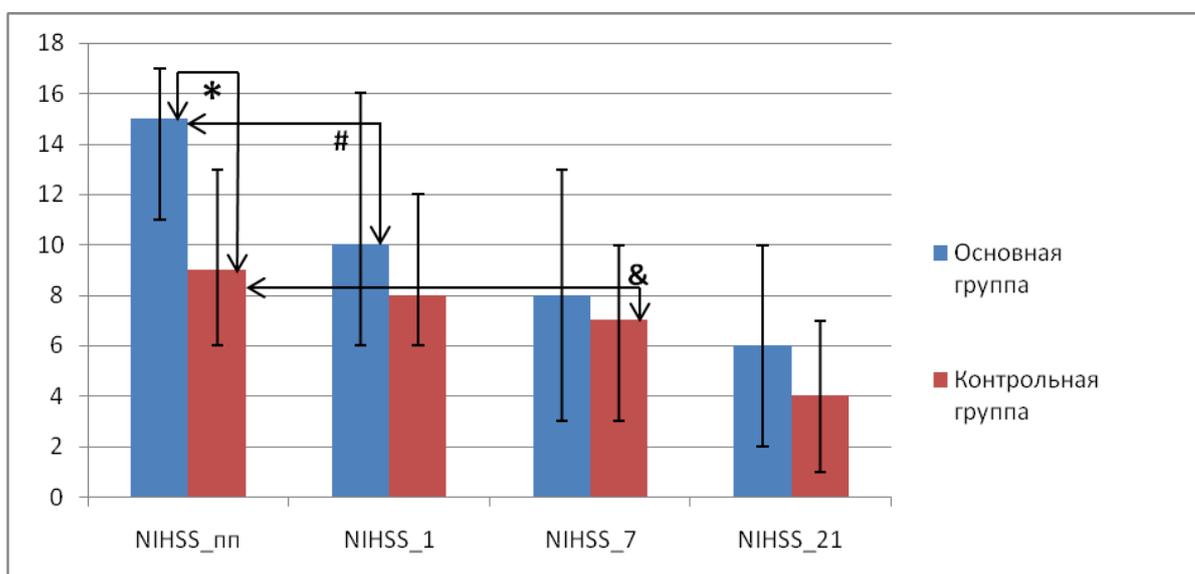


Рисунок 2. Выраженность неврологической симптоматики в основной и контрольной группах в динамике (по шкале NIHSS).

Примечание: NIHSS_пп – оценка по шкале NIHSS при поступлении. NIHSS_1 – оценка по шкале NIHSS на 1-е сутки. NIHSS_7 – оценка по шкале NIHSS на 7-е сутки. NIHSS_21 – оценка по шкале NIHSS на 21-е сутки. * $p < 0,001$ при сравнении основной и контрольной групп. # $p < 0,001$ при сравнении показателей основной группы при поступлении и на 1-е сутки. & $p < 0,001$ при сравнении показателей контрольной группы при поступлении и на 7-е сутки.

По данным ROC-анализа, оптимальным пороговым значением оценки по шкале NIHSS для прогнозирования наступления неблагоприятного функционального исхода при проведении ТЛТ явилась оценка более 12 баллов (чувствительность 94%, специфичность 57%), в то время как для контрольной группы этот уровень оказался более 10 баллов (чувствительность 76,9%, специфичность 89,2%).

В контрольной группе вероятность развития благоприятного исхода у пациентов с сахарным диабетом была ниже, чем у пациентов без него. Отношение шансов (ОШ) благоприятного и неблагоприятного исходов составило 1,93 (95% доверительный интервал (ДИ) 1,05-3,59; $p = 0,045$). В основной группе подобных различий не отмечалось.

Наличие сопутствующих воспалительных состояний в остром периоде заболевания (пневмонии, инфекции мочевыводящих путей и/или тромбоза, выявленных при клиническом и лабораторно-инструментальном обследовании) наблюдалось у более тяжелых при поступлении пациентов и ассоциировалось с более выраженной неврологической симптоматикой на 1-е, 7-е и 21-е сутки у пациентов контрольной группы. У пациентов с такими состояниями также оказалась выше вероятность развития неблагоприятного исхода (ОШ 1,57; 95% ДИ 1,11-3,13; $p=0,043$). В основной группе такой закономерности не отмечалось.

Восстановление кровотока в окклюзированной артерии (реканализация) в первые 2-3 суток заболевания отмечалось у 46 (72%) пациентов основной группы, еще у четырех (6%) пациентов реканализация произошла на 21-е сутки. В основной группе при наличии ранней реканализации чаще, чем в ее отсутствие, отмечался благоприятный исход (ОШ 6,5; 95%ДИ 1,59-26,45; $p=0,003$). В контрольной группе реканализация наступала значительно реже, чем в основной группе – только в 5 случаях (18%). Однако в контрольной группе наступление реканализации не влияло на динамику выраженности неврологической симптоматики и исход заболевания. Частота реканализации нами оценивалась у пациентов с атеротромботическим и кардиоэмболическим подтипами инсульта (таблица 2).

Таблица 2

**Частота реканализации на 2-3 сутки
при атеротромботическом и кардиоэмболическом подтипах инсульта**

	Основная группа		Контрольная группа		*p
	P+	P-	P+	P-	
АТИ	21	6	1	11	<0,001
КЭИ	25	5	4	7	0,003
#p	0,156		0,255		

Примечание: P+ – наличие реканализации, P- – отсутствие реканализации, АТИ – атеротромботический подтип инсульта, КЭИ – кардиоэмболический подтип инсульта. *p – при сравнении показателей внутри группы. #p – при сравнении показателей между группами.

Нами проводилась качественная оценка изменения характеристик перфузии на 3-и сутки и на 21-е сутки заболевания, на основании чего пациентов разделили на подгруппы: 1) с улучшением перфузии или ее нормализацией относительно здорового полушария (регрессом площади ядра ишемии и/или площади ишемии более чем на 20% от исходных данных); 2) с усугублением нарушений перфузии (увеличением ядра ишемии и/или всей области ишемии на 20% от исходного значения) или без их изменений (динамические изменения ядра ишемии и всей площади ишемии – не более 20% от исходного значения); 3) с гиперперфузией («роскошной перфузией» – увеличением показателя СВФ в два раза в пораженной области по сравнению с симметричной областью другого полушария). В таблице 3 приведены данные, согласно которым наблюдалась выраженная тенденция к большему количеству случаев улучшения перфузии у пациентов основной группы по сравнению с пациентами контрольной группы ($p=0,053$).

Таблица 3

Количество пациентов основной и контрольной групп в зависимости от динамики показателей перфузии на 3-и и на 21-е сутки

	3-и сутки			21-е сутки		
	P_В	P_W	P_Н	P_В	P_W	P_Н
Основная группа	11	5	2	14	7	0
Контрольная группа	7	14	0	12	18	0
p	0,053			0,061		

Примечание: P_В – улучшение показателей перфузии или их нормализация относительно здорового полушария; P_W – усугубление показателей перфузии или отсутствие их изменений; P_Н – гиперперфузия.

У пациентов основной группы благоприятный функциональный исход чаще был сопряжен с улучшением показателей перфузии на 3-и сутки (ОШ 4,71; 95%ДИ 1,21-10,23; $p=0,017$). У пациентов контрольной группы наличие реперфузии не влияло на вероятность благоприятного исхода.

**Гемостатические и гемореологические показатели и их связь с
клиническими и нейровизуализационными параметрами.**

Гемостатические показатели у обследованных пациентов основной и контрольной групп в динамике представлены в таблице 4.

Таблица 4

Показатели гемостаза в динамике у обследованных пациентов.

Показатель		При поступлении	1-е сутки	21-е сутки	$p_{\text{пн-21}}$
Гематокрит, %	ОГ	43[42;46]	42 [39;45]	40[37;44]	0,125
	КГ	43[41;47]	43 [42;47]	41[39;46]	0,054
	p	0,943	0,133	0,163	
Фибриноген, г/л	ОГ	3,4[2,7;3,7]	3,14[2,71;3,82]	4,04[3,62;4,58]	0,229
	КГ	4,4[3,7;5,2]	4,22[3,42;4,84]	3,75[3,42;4,88]	0,085
	p	0,003	<0,001	0,856	
МНО	ОГ	1,1[1,0;1,3]	1,13[1,04;1,22]	1,24[1,09;1,88]	0,245
	КГ	1,1[1,0;1,1]	1,05[1,00;1,08]	1,04[1,00;1,20]	0,163
	p	0,124	<0,001	0,002	
ПТВ, сек	ОГ	13,3[12,1;14,7]	14,0[13,1;15,3]	15,3[13,6;22,2]	0,572
	КГ	12,5[11,9;13,2]	12,5[11,9;12,9]	12,4[11,8;14,2]	0,163
	p	0,201	<0,001	0,006	
АЧТВ, сек	ОГ	24,9[23,8;27,7]	27,4[25,1;30,7]	30,3[26,0;33,4]	0,084
	КГ	29,1[26,5;31,0]	29,3[27,2;31,2]	31,1[28,9;33,1]	0,121
	p	0,003	0,086	0,462	
АТ-АДФ, %	ОГ	51 [42;62]	32 [21;48]	14[11;27]	0,076
	КГ	34[20;50]	32[22;44]	37[14;46]	0,435
	p	0,005	0,932	0,118	
АТ-Адр, %	ОГ	53[45;62]	38[20;53]	27[16;40]	0,406
	КГ	36[21;47]	36[21;44]	37[18;47]	0,432
	p	0,019	0,559	0,769	

Примечание: ОГ – основная группа, КГ – контрольная группа, МНО – международное нормализованное отношение, ПТВ – протромбиновое время, АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, АТ-АДФ – агрегация тромбоцитов под влиянием аденозинтрифосфата, АТ-Адр – агрегация тромбоцитов под влиянием адреналина. $p_{\text{пн-21}}$ – сравнение зависимых показателей при поступлении, на 1-е, 7-е и 21-е сутки. p – сравнение показателей между группами.

Пациенты основной группы при поступлении имели значимо меньший уровень фибриногена и АЧТВ по сравнению с контрольной группой. При аналогичном анализе в зависимости от подтипа инсульта оказалось, что эти различия определялись подгруппой с атеротромботическим инсультом. Кроме

того, в отношении тромбоцитарного звена гемостаза было выявлено повышение активности агрегации тромбоцитов в основной группе по сравнению с контрольной группой. В основной группе на 1-е сутки после ТЛТ сохранялось снижение уровня фибриногена, повышалось значение МНО и протромбинового времени, а имевшиеся различия в значениях АЧТВ и активности агрегации тромбоцитов в сравнении с группой контроля нивелировались (таблица 4).

К 21-м суткам ИИ активность агрегации тромбоцитов под воздействием АДФ несколько снижалась в основной группе, хотя статистической значимости это снижение не достигло. Тем не менее, подобной тенденции не отмечалось в контрольной группе (рис. 3).

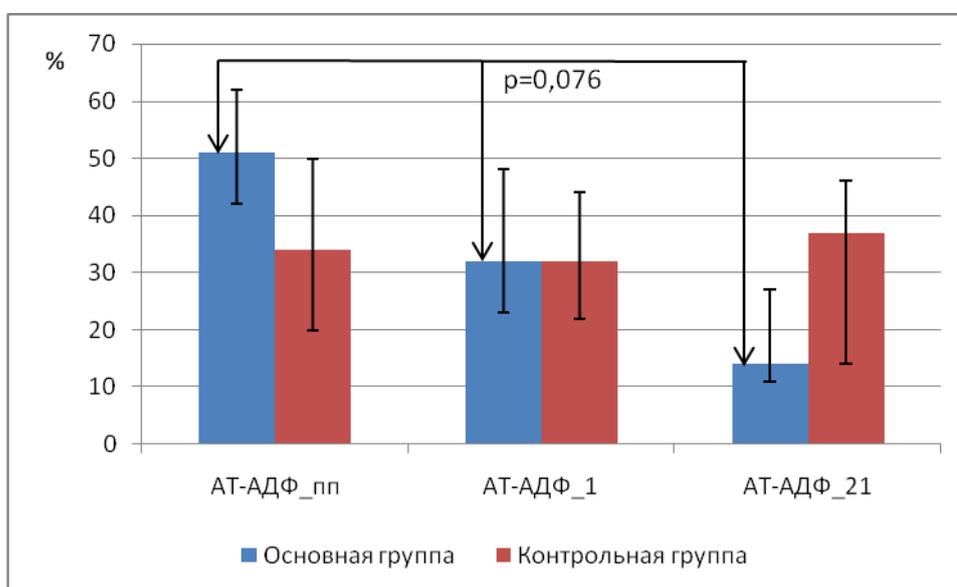


Рисунок 3. Динамика активности агрегации тромбоцитов под влиянием АДФ в основной и контрольной группах.

Примечание: AT-ADP_пп – активность агрегации тромбоцитов под воздействием АДФ при поступлении. AT-ADP_1 – активность агрегации тромбоцитов под воздействием АДФ на 1-е сутки. AT-ADP_21 – активность агрегации тромбоцитов под воздействием АДФ на 21-е сутки.

При оценке корреляционных связей между показателями гемостаза и клиническими показателями была выявлена положительная связь между уровнем фибриногена на 1-е сутки и выраженностью неврологической симптоматики на 1-е сутки у пациентов основной ($p=0,498$, $p=0,018$) и контрольной ($p=0,685$, $p=0,001$) групп с атеротромботическим подтипом ИИ (рис. 4).

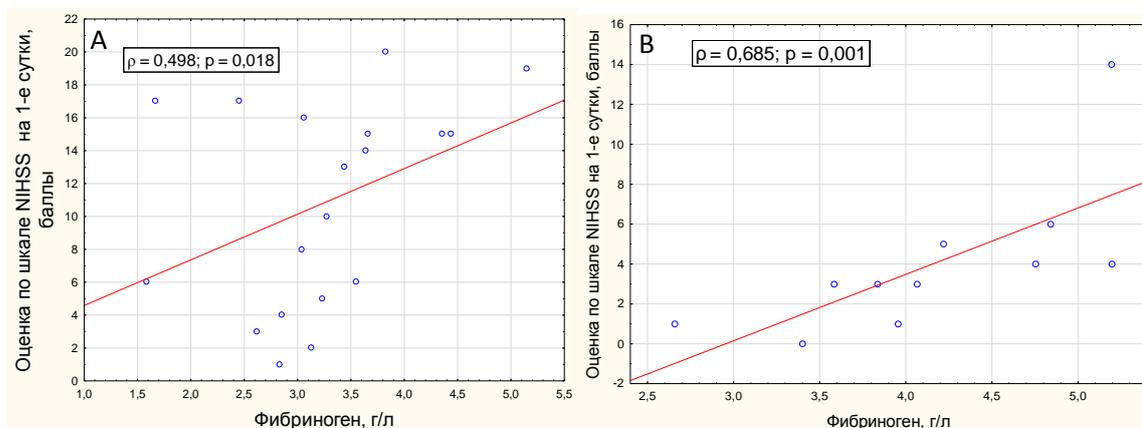


Рисунок 4. Корреляционная связь между уровнем фибриногена и оценкой по NIHSS на 1-е сутки (атеротромботический подтип инсульта, «А» - основная группа, «В» - контрольная группа).

Для всех пациентов основной группы была выявлена значимая отрицательная связь средней силы между показателем АТ-Адр на первые сутки и индексом Бартель как на 1-е сутки ($\rho = -0,349$, $p = 0,028$), так и на 21-е сутки ($\rho = -0,447$, $p = 0,015$).

Дополнительно было проведено сравнение параметров гемостаза у пациентов с реканализацией после тромболитической терапии. Оказалось, что уровень фибриногена на 7-е сутки при благоприятном исходе заболевания (4,44 [3,61;4,95] г/л) был значимо ниже, чем при неблагоприятном исходе (4,97 [4,52;5,59] г/л; $p = 0,023$). Подобная закономерность прослеживалась и при атеротромботическом, и при кардиоэмболическом инсульте, однако не наблюдалась в контрольной группе.

В контрольной группе можно было отметить зависимость между функциональным исходом и параметрами гемостаза. Так, выявлялась отрицательная корреляционная связь между значением АЧТВ при поступлении и на 1-е сутки и функциональной активностью по индексу Бартель на 1-е сутки ($\rho = 0,488$, $p = 0,007$ и $\rho = 0,522$, $p = 0,005$, соответственно) и на 21-е сутки ($\rho = 0,683$, $p = 0,001$ и $\rho = 0,569$, $p = 0,002$, соответственно). У пациентов с благоприятным

исходом АЧТВ на 1-е сутки оказалось значимо выше, чем у пациентов с неблагоприятным исходом (30[29;33] сек и 28[25;29] сек, соответственно; $p=0,035$).

Таким образом, при поступлении у пациентов основной группы выявлялись повышенная агрегационная активность тромбоцитов (при атеротромботическом подтипе инсульта) и сниженные значения АЧТВ. Повышенный уровень фибриногена на 1-е и 7-е сутки соответствовал инсульту более тяжелого течения в контрольной группе. Гиперфибриногенемия также была характерна в течение всего острого периода атеротромботического инсульта в основной группе. Повышенная активность агрегации тромбоцитов была сопряжена с инсультом более тяжелого течения, причем для контрольной группы эта связь оказалась более жесткой. Значения АЧТВ были сопряжены с клиническими показателями только в контрольной группе. Примечательно, что после проведения тромболитической терапии в основной группе (исходно отличавшейся от контрольной более выраженной симптоматикой) произошло некоторое нивелирование предшествующих различий гемостатических показателей с контрольной группой – снизился уровень фибриногена и активности агрегации тромбоцитов, увеличились АЧТВ и МНО.

При рассмотрении показателей кинетики агрегации и дезагрегации эритроцитов, а также их деформируемости нами не отмечено различий данных параметров у пациентов основной и контрольной групп при поступлении, как в случае атеротромботического, так и кардиоэмболического подтипов инсульта.

Указанные показатели также исследовались в динамике – на 1-е, 7-е и 21-е сутки от начала заболевания (таблица 5). Сравнение данных для основной и контрольной групп выявило некоторое улучшение гемореологических показателей в основной группе в динамике. Так, их исходное сходство между группами сменилось относительным уменьшением индекса агрегации и увеличением характерных времен агрегации у пациентов после ТЛТ.

Показатели гемореологии в динамике у обследованных пациентов

	При поступлении		1-е сутки	7-е сутки	21-е сутки	$p_{\text{III-21}}$
Amp, усл. ед.	ОГ	13,6[11,0;14,5]	12,8[10,3;14,2]	10,4[9,4;13,9]	9,7[8,8;10,9]	0,896
	КГ	11,5[7,5;13,1]	13,9[11,1;15,0]	11,2[9,5;13,6]	8,9[7,7;14,9]	0,119
	p	0,091	0,653	0,795	0,798	
Ts, сек	ОГ	4,3[2,3;6,4]	5,2[3,4;6,4]	5,2 [3,4;6,4]	9,0 [5,3;10,5]	0,615
	КГ	4,2[2,2;8,6]	3,7[2,1;5,1]	4,2 [2,1;5,8]	5,2 [1,9;9,2]	0,240
	p	0,897	<0,001	0,132	0,045	
Tf, сек	ОГ	33[31;42]	39 [33;47]	49 [33;59]	47 [34;57]	0,494
	КГ	28 [17;45]	28 [17;35]	25 [13;34]	32 [16;43]	0,852
	P	0,483	0,132	0,023	0,031	
AI	ОГ	49 [33;60]	44 [29;48]	44 [29;48]	32 [22;42]	0,896
	КГ	54 [45;63]	46 [41;64]	60 [46;71]	62 [50;67]	0,276
	p	0,623	0,281	<0,001	0,008	
γ-dis, сек⁻¹	ОГ	165 [140;210]	140 [120;180]	155 [100;320]	105 [100;140]	0,753
	КГ	145 [100;185]	100 [100;200]	195 [100;250]	140 [100;200]	0,391
	p	0,262	0,511	0,835	0,505	
IDmax	ОГ	0,47[0,45; 0,52]	0,47[0,43; 0,52]	0,49[0,46; 0,57]	0,47[0,45; 0,50]	0,658
	КГ	0,48[0,46; 0,53]	0,48[0,46; 0,53]	0,50[0,45; 0,58]	0,50[0,47; 0,53]	0,874
	p	0,810	0,465	0,789	0,277	

Примечание: ОГ – основная группа, КГ – контрольная группа, Amp – амплитуда агрегации, Ts – характерное время первой фазы агрегации, Tf – характерное время второй фазы агрегации, AI – индекс агрегации, γ -dis – прочность эритроцитарных агрегатов, IDmax – показатель максимально возможной деформации эритроцитов, $p_{\text{III-21}}$ – сравнение зависимых показателей при поступлении, на 1-е, 7-е и 21-е сутки, p – сравнение показателей между группами.

Для основной группы была выявлена отрицательная корреляционная связь между показателем прочности эритроцитарных агрегатов γ -dis и функциональным исходом по mRS ($\rho=-0,685$, $p=0,020$). Оптимальным пороговым значением γ -dis для прогнозирования неблагоприятного функционального исхода в основной группе явился уровень не более 140 сек-1 (чувствительность 100%, специфичность 66,7%). Кроме того, повышение показателя γ -dis у пациентов основной группы при поступлении коррелировало

со степенью уменьшения размеров очага инфаркта с момента поступления до 3-х суток ($\rho=0,639$, $p=0,034$).

Для контрольной группы была выявлена связь между A_{mp} и T_s при поступлении и оценкой по шкале NIHSS на 21-е сут ($\rho=0,667$, $p=0,004$ и $\rho=0,543$, $p=0,045$, соответственно), а также отрицательная корреляционная связь между γ -dis при поступлении и баллом по шкале mRS ($\rho=-0,531$, $p=0,034$).

В контрольной группе пациенты с благоприятным исходом отличались от пациентов с неблагоприятным исходом более низкими показателями амплитуды агрегации: 11,1 [8,8;11,7] усл. ед. и 15,0 [13,9;15,3] усл. ед. соответственно, ($p=0,015$), а также более высокими показателями γ -dis: 200 [100; 200] сек⁻¹ и 100 [100;100] сек⁻¹, соответственно ($p=0,029$). Отмечалась положительная корреляционная связь между уровнем фибриногена и амплитудой агрегации эритроцитов для пациентов как основной, так и контрольной групп ($\rho=0,532$, $p=0,041$ и $\rho=0,611$, $p=0,016$, соответственно).

Мы не получили значимых различий в гемореологических показателях в зависимости от наличия или отсутствия окклюзии. В то же время, у пациентов контрольной группы со спонтанной реканализацией на 3-и сутки отмечалась тенденция к повышенным значениям показателя деформируемости эритроцитов на момент поступления – 0,51 [0,49;0,54] в сравнении с 0,39 [0,38;0,42] при ее отсутствии; $p=0,058$.

Таким образом, были выявлены определенные изменения гемореологических параметров, коррелирующие с клиническим течением заболевания. Так, повышение прочности эритроцитарных агрегатов у пациентов после ТЛТ не сопровождалось увеличением очага инфаркта мозга и сопутствовало благоприятному функциональному исходу.

ВЫВОДЫ

1. Впервые в условиях тромбоэмболической модели инсульта у крыс выявлены изменения гемореологических показателей (ускорение агрегации эритроцитов, изменение прочности эритроцитарных агрегатов) на фоне характерной для ишемического инсульта неврологической симптоматики.
2. Тромболитическая терапия ассоциирована с большей частотой реканализации, реперфузии и хорошим функциональным исходом, а в её отсутствие функциональный исход не зависит от наличия спонтанной реканализации и реперфузии (в сроки более 48 часов).
3. При соблюдении строго сформулированных критериев отбора частота реканализации, а также темпы восстановления неврологических функций при проведении тромболитической терапии не различаются у пациентов с атеротромботическим и кардиоэмболическим подтипами ишемического инсульта.
4. На фоне тромболитической терапии отмечается снижение уровня фибриногена, нормализация изначально повышенной агрегационной активности тромбоцитов, удлинение активированного частичного тромбопластинового времени, а также уменьшение индекса агрегации эритроцитов и увеличение характерных времен агрегации эритроцитов. Совокупность указанных изменений может отражать «системный» эффект внутривенной тромболитической терапии.
5. Повышение прочности эритроцитарных агрегатов у пациентов после тромболитической терапии не сопровождается увеличением размеров инфаркта мозга и сопряжено с благоприятным течением заболевания.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для экспериментальных разработок новых методов лечения ишемического инсульта целесообразно использовать тромбоэмболическую модель ишемического инсульта, так как ее релевантность заболеванию высока и она позволяет воспроизвести изменения гемореологических параметров, характерные для ишемического инсульта.
2. В план обследования пациентов с острым ишемическим инсультом после проведения тромболитической терапии, помимо стандартных методов клинического и лабораторно-инструментального обследования, целесообразно включать исследование реологических свойств крови, что позволит уточнить прогноз в отношении функционального исхода.

СПИСОК ПЕЧАТНЫХ РАБОТ

1. Соколова И.А., Рыкова С.Ю., Шахназаров А.А., Гафарова М.Э., Краснова Т.Н., Хохлова М.Д., Любин Е.В., Скрябина М.Н., Жданов А.Г., Федянин А.А. Агрегация эритроцитов: некоторые вопросы и гипотезы // **Российский журнал биомеханики**. – 2011. – Т. 15. № 1. – С. 7-22.
2. Домашенко М.А., Максимова М.Ю., Коробкова Д.З., Гафарова М.Э. Опыт применения дабигатрана в первичной и вторичной профилактике кардиоэмболического инсульта // **Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика**. – 2013. – № 2. – С. 69-77.
3. Sokolova I.A., Muravyov A.V., Khokhlova M.D., Rikova S.Y., Lyubin E.V., Gafarova M.A., Skryabina M.N., Fedyanin A.A., Kryukova D.V., Shachnazarov A.A. An effect of glycoprotein IIb/IIIa inhibitors on the kinetics of red blood cells aggregation // **Clinical Hemorheology and Microcirculation**. – 2014. – 57 (3). – P. 291-302.
4. Гафарова М.Э., Наумова Г.М., Гуляев М.В., Кошелев В.Б., Соколова И.А., Домашенко М.А. Агрегация-деагрегация и деформируемость эритроцитов при моделировании ишемического инсульта у крыс // **Регионарное кровообращение и микроциркуляция**. – 2015. – Том 14. № 2 (54). – С. 63-69.
5. Гафарова М.Э., Домашенко М.А., Коробкова Д.З., Максимова М.Ю., Лоскутников М.А., Шабалина А.А., Костырева М.В., Коновалов Р.Н. Гемореология и гемостаз у пациентов с ишемическим инсультом при проведении тромболитической терапии // **Анналы клинической и экспериментальной неврологии**. – 2015. – Том №9. (1). – С. 4-11.
6. Максимова М.Ю., Домашенко М.А., Лоскутников М.А., Гафарова М.Э. Гемостазиологические и гематологические изменения и клинический исход у пациентов с острым ишемическим инсультом на фоне внутривенной тромболитической терапии // **Здравоохранение Таджикистана**. – 2014. – №1. – С. 87-94.
7. Домашенко М.А., Лоскутников М.А., Гафарова М.Э., Максимова М.Ю. Интракраниальный атеросклероз: клинические проявления и подходы к терапии // **Фарматека**. – 2014. – № 19 (292). – С. 68-73.

8. Гафарова М.Э., Наумова Г.М., Кошелев В.Б., Гуляев М.В., Соколова И.А. Агрегация и дезагрегация эритроцитов при тромбоэмболической модели инсульта у крыс // В сборнике «Нейронаука для медицины и психологии». Десятый международный междисциплинарный конгресс, место издания Судак, Россия, 2014. – С. 115-115
9. Maximova M, Domashenko M, Loskutnikov M, Gafarova M. Hemostatic changes and outcome in patients treated with i.v. thrombolysis for ischemic stroke // IX World Stroke Congress, Istanbul, Turkey. International Journal of Stroke, 2014. – V. 9. – Supplement S3. – P.79.
10. Домашенко М.А., Гафарова М.Э., Максимова М.Ю. Тромбоцитарно-сосудистый гемостаз и особенности антиагрегантной терапии у пациентов с ишемическим инсультом после внутривенной тромболитической терапии // Материалы III Российского международного конгресса «Цереброваскулярная патология и инсульт», Казань, Россия, 2014. Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова, 2014. – Том 114, №8. – С. 239-240.
11. Домашенко М.А., Максимова М.Ю., Гафарова М.Э., Костырева М.В., Шабалина А.А. Состояние тромбоцитарно-сосудистого звена гемостаза у пациентов с ишемическим инсультом после системного тромболизиса // Нервные болезни. – 2014. – № 2. – С. 15-19.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ	аденозиндифосфат
АТИ	атеротромботический инсульт
АТ-Адр	агрегация тромбоцитов под влиянием адреналина
АТ-АДФ	агрегация тромбоцитов под влиянием аденозинтрифосфата
АЧТВ	активированное частичное тромбопластиновое время
ВС	воспалительные состояния
ДВ-МРТ	диффузионно-взвешенная МРТ
ДИ	доверительный интервал
ИИ	ишемический инсульт
КГ	контрольная группа
КИ	инсульт на фоне коагулопатии
КТ	компьютерная томография
КЭИ	кардиогенный эмболический инсульт
ЛИ	лакунарный инсульт
МНО	международное нормализованное отношение
МРТ	магнитно-резонансная томография
ОГ	основная группа
ОШ	отношение шансов
ПТИ	протромбиновый индекс
СОЭ	скорость оседания эритроцитов
ТЛТ	тромболитическая терапия
NIHSS	National Institutes of Health Stroke Scale (шкала инсульта Национальных институтов здоровья)
T1-ВИ	T1-взвешенные изображения
T2-ВИ	T2-взвешенные изображения
T2-FLAIR	Fluid Attenuated Inversion Recovery, режим с подавлением сигнала от свободной жидкости