

В.В. Голдобин, Е.Г. Клочева, О.В. Сироткина,
Т.В. Вавилова, А.Б. Ласковец, Б.В. Бибулатов,
Т.М. Лачинова, Н.П. Машкова, М.П. Топузова

Клинические и гемореологические нарушения у пациентов с лакунарными инсультами

Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Резюме. Представлены результаты клинических данных и показателей тромбоцитарного гемостаза у пациентов с лакунарными инсультами. Установлено, что у данной категории больных наблюдается активация тромбоцитарного гемостаза в виде увеличения уровня тромбоцитов, экспрессирующих Р-селектин в ответ на стимуляцию аденозиндифосфорной кислотой, при проточной цитометрии. Уровень экспрессии рецепторов к фибриногену и фактору Виллебранда у пациентов не отличался от значений в контрольной группе. Методика стандартной агрегатометрии оказалась неинформативной для оценки активности тромбоцитов у больных с лакунарными инсультами. Выявлено, что при стимуляции малыми дозами аденозиндифосфата агрегация тромбоцитов меньше, чем у здоровых лиц. У пациентов с нетяжелым лакунарным инсультом и благоприятным течением острого периода наблюдалось уменьшение среднего объема тромбоцитов к 10-му дню течения инсульта. У больных с сопутствующим лейкоцитозом имело место повышение уровня рецепторов к фибриногену на тромбоците. Экспрессия на поверхности тромбоцитов Р-селектина и рецептора к фактору Виллебранда не различалась у пациентов без сопутствующего лейкоцитоза и при его наличии.

Ключевые слова: лакунарный инсульт, тромбоцит, проточная цитометрия, Р-селектин, рецепторы к фибриногену, средний объем тромбоцита, лейкоцитоз.

Введение. Лакунарный инсульт (ЛИ) – инфаркт вещества мозга небольших размеров (до 2 см), возникающий вследствие патологии пенетрирующих артерий. ЛИ составляют до 30% инсультов [1, 4, 5, 7]. Клиническое течение ЛИ характеризуется низкой летальностью, хорошим восстановлением двигательных функций. Особенностью ЛИ является частое возникновение повторных ЛИ – у 23,5% пациентов в год в течение 3 лет [11], несмотря на проводимую вторичную профилактику, основу которой составляют антиагрегантные препараты. ЛИ часто приводит к сосудистой деменции [2, 3, 10]. В клинических исследованиях ЛИ были причиной сосудистой деменции в 36–67% случаев [9]. В проспективных наблюдениях за пациентами с ЛИ было показано развитие сосудистой деменции у 3–5% пациентов в год [12]. Наиболее значимыми факторами риска повторных и множественных ЛИ, по данным литературы [6, 8], являются артериальная гипертензия, сахарный диабет, атеротромбоз ипсилатеральных магистральных артерий головы, наличие лейкоцитоза, высокий уровень гематокрита.

Цель исследования. Изучение клинических данных и показателей тромбоцитарного гемостаза у пациентов с ЛИ для совершенствования вторичной профилактики.

Материалы и методы. В остром периоде ЛИ были обследованы 42 пациента, из них мужчин – 22 (52,4%), женщин – 20 (47,6%) в возрасте от 33 до 84

лет ($63,0 \pm 11,6$ лет), проходивших обследование и лечение в клинике нервных болезней Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова и Городской больницы святой преподобномученицы Елизаветы. Диагноз ЛИ был подтвержден данными компьютерной томографии – у 31 или магнитно-резонансной томографии (МРТ) – у 11 пациентов (рис. 1).

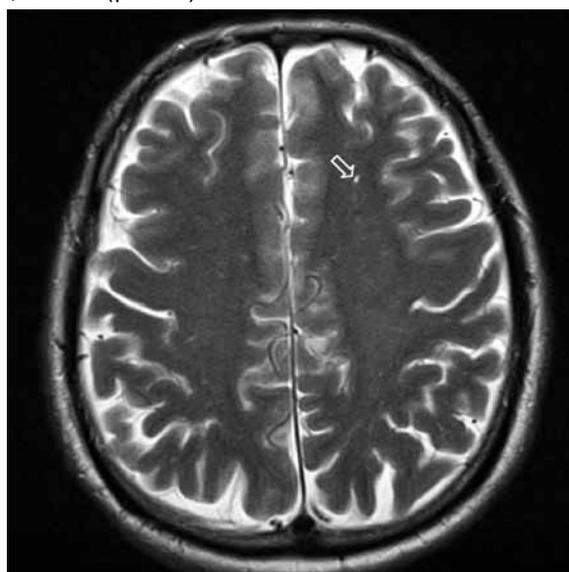


Рис. 1. МРТ головного мозга пациента У.
(стрелкой указан очаг ЛИ)

В исследование не включали пациентов с кардиоэмболическим вариантом инсульта, а также больных с хронической почечной недостаточностью на гемодиализе, больных с идиопатической тромбоцитемией, острым коронарным синдромом, так как активация тромбоцитов при данных состояниях доказана. Кроме того, исключались пациенты, принимавшие антидепрессанты из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина, поскольку у больных, длительно принимающих данные препараты, отмечается снижение агрегации тромбоцитов. В качестве контрольной группы были обследованы 18 человек, не имеющих клинических признаков сосудистой патологии головного мозга.

Комплексное обследование включало: клико-неврологическое обследование, инструментальное, лабораторное исследования. На каждого больного заполнялась специально разработанная карта.

Неврологический осмотр выполнялся по стандартной методике. Также проводилась оценка состояния пациентов на момент поступления и при выписке в баллах по общепринятым шкалам. Шкала инсульта Американского национального института здоровья (NIHSS) характеризует основные функции, нарушающиеся при церебральном инсульте. Шкала Ранкина позволяет оценить степень зависимости в повседневной жизни и функциональную независимость.

Лабораторное исследование включало клинический анализ крови при поступлении и на 10-й день от развития ЛИ, а также аденозиндифосфат (АДФ) индуцированную агрегатометрию и проточную цитометрию на 10-й день от развития инсульта. Венозную кровь забирали в утреннее время натощак. В условиях процедурного кабинета под венозным жгутом проводилась венепункция локтевой вены иглой 21G со свободным током крови через вакутейнер в вакуумные полипропиленовые пробирки, содержащие в качестве антикоагулянта K_2 и K_3 соль этинилдиаминтетрауксусной кислоты (для гематологического анализа) и 3,8% цитрата натрия (для агрегатометрии и проточной цитометрии). Выполнение клинического анализа крови с подсчетом количества тромбоцитов осуществляли кондуктометрическим методом на автоматических гематологических анализаторах «Beckman Coulter LH 500» и «MaxM» (США). Показатель среднего объема тромбоцитов (MPV) рассчитывался прибором автоматически из гистограммы тромбоцитов.

АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов исследовали фотометрическим методом на агрегометре «SOLAR» (Беларусь). Концентрация индуктора составляла 2,5 мкМ, 5 мкМ (АДФ производства «Sigma-Aldrich», США). Результат оценивали по изменению степени светопропускания в точке максимума, а также по скорости агрегации через 30 с после добавления АДФ. Перед исследованием на проточном цитометре проводили центрифугирование полученной крови при 1500 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре для получения плазмы, богатой тромбоцитами (БТП). Плазму, обедненную тромбоцитами

(ОТП), получали путем центрифугирования БТП при 3000 об/мин в течение 15 мин. ОТП использовали для разведения БТП до 300 тысяч кл/мкл, если это было необходимо, а также калибровки агрегометра на уровень $T=100\%$. Содержание GP IIb/IIIa и GP Iba на поверхности тромбоцитов, а также число клеток, экспрессирующих P-селектин, определяли на проточном цитометре «CYTOMICS FC 500» («Beckman Coulter», США). Использовались флуоресцентно меченые моноклональные антитела CD61-FITC, VM16d-FITC и CD62P-PE. Количество GP IIb/IIIa и GP Iba на поверхности тромбоцитов до и после индукции 10 мкМ АДФ оценивали по показателю средней интенсивности флуоресценции. Экспрессию P-селектина на поверхности тромбоцитов оценивали как процент клеток, меченых CD62P-PE до и после индукции 10 мкМ АДФ. Математически рассчитывались параметры:

1) ΔGP IIb/IIIa, который показывает увеличение в % количества рецепторов GP IIb/IIIa на поверхности тромбоцитов после индукции АДФ;

2) ΔP -селектина, показывающий увеличение % тромбоцитов, экспрессирующих P-селектин после индукции АДФ.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета программ Statistica 6,0 for Windows (StatSoft Inc.). Проверка нормальности распределения проводилась по критерию Шапиро – Уилка. Для проверки гипотезы о равенстве средних для двух групп использовались параметрические (t-Стьюдента для независимых выборок; t-Стьюдента для связанных выборок) или непараметрические (Манна – Уитни, Вилкоксона) критерии. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Клиническими проявлениями ЛИ были жалобы на головную боль у 4 (10%) пациентов, головокружение у 1 (2%) и шум в голове у 1 (2%). При объективном осмотре гемипарез наблюдался у 21 (50%) пациентов, атаксия у 16 (38%) больных, гемигипестезия у 5 (12%), дизартрия выявлена у 4 (10%) пациентов, афазия – у 4 (10%) больных и игнорирование наблюдалось у 1 (2%) обследованных.

Показатель шкалы Ранкина при поступлении составил $2,3 \pm 0,1$ балла, а при выписке – $1,4 \pm 0,1$ балла. Результат по шкале NIHSS при поступлении был равен $5,2 \pm 0,5$ балла, при выписке – $2,5 \pm 0,3$ балла. Таким образом, в данной группе пациентов наблюдался нетяжелый инсульт со значимым улучшением состояния за время госпитализации ($p < 0,05$).

Уровень тромбоцитов у больных с ЛИ при поступлении был равен $234,5 \pm 13,9 \times 10^9/\text{л}$, на 10-й день от начала заболевания – $236,4 \pm 9,4 \times 10^9/\text{л}$. MPV при поступлении был $11,0 \pm 0,8$ фл, на 10-й день от начала заболевания – $8,7 \pm 0,1$ фл. Выявлено достоверное ($p < 0,05$) уменьшение показателя MPV в динамике.

Результаты агрегатометрии представлены в таблице 1. Наблюдалось достоверно более высокие показатели агрегации тромбоцитов на стимуляцию 2,5

Показатели агрегатометрии у пациентов с ЛИ и в контрольной группе

Обследуемые	2,5 АДФ		5 АДФ	
	степень, %	скорость, %/мин	степень, %	скорость, %/мин
Пациенты с ЛИ	52,8±3,6*	23,7±1,9*	65,7±3,2	27,8±2,0
Контрольная группа	70,5±6,6*	31,8±3,9*	67,6±5,8	32,6±5,3

Примечание: * – $p < 0,05$.

мкмоль АДФ у лиц контрольной группы ($p < 0,05$), в то время как при стимуляции 5 мкмоль АДФ значимого различия не наблюдалось. Полученные результаты меньших значений агрегации тромбоцитов у пациентов с ЛИ вероятно связаны с действием постоянной антиагрегантной терапии препаратами ацетилсалициловой кислоты.

Количество рецепторов IIb/IIIa на тромбоците до активации АДФ составило $7,3 \pm 0,2$; после активации – $8,1 \pm 0,3$. Коэффициент изменения количества рецепторов IIb/IIIa на тромбоците (Δ IIb/IIIa) был равен $10,0 \pm 1,0\%$, что не отличалось от показателей в контрольной группе – $9,8 \pm 2,1\%$. Известно, что количество рецепторов IIb/IIIa является генетически детерминированным и мало изменяется под воздействием экзо- и эндогенных факторов.

Тромбоциты, экспрессирующие Р-селектин, до стимуляции АДФ составляли $5,1 \pm 0,9\%$, после стимуляции – $31,9 \pm 3,3\%$. Коэффициент изменения % тромбоцитов экспрессирующих Р-селектин (Δ Р-селектина) был равен $80,0 \pm 3,0\%$, что достоверно больше значения Δ Р-селектина в контрольной группе – $61,5 \pm 8,0\%$ ($p < 0,05$). Более высокое значение Δ Р-селектина у пациентов с ЛИ свидетельствовало о более высокой активности тромбоцитов у пациентов данной группы. Таким образом, у пациентов с ЛИ наблюдалось несоответствие данных стандартной агрегатометрии, указывающей на меньшую агрегацию тромбоцитов при стимуляции низкими дозами АДФ, и результатов проточной цитометрии, свидетельствующей о более высокой активности тромбоцитов.

Достоверного различия количества рецепторов 1b α на тромбоците в основной и контрольной группах не наблюдалось ($4,1 \pm 0,1$ и $3,8 \pm 0,3$ соответственно; $p > 0,05$).

По наличию или отсутствию сопутствующего хронического поражения белого вещества в виде лейкоареоза при нейровизуализационных исследованиях пациентов с ЛИ дополнительно разделили на 2 группы. В 1-ю группу вошли пациенты с лейкоареозом ($n=21$, средний возраст $62,2 \pm 2,6$ года). Во 2-ю группу вошли пациенты без лейкоареоза ($n=21$, средний возраст – $63,7 \pm 2,5$ года). Основные неврологические синдромы у пациентов 1-й и 2-й групп представлены на рисунке 2.

Установлено, что у пациентов 1-й группы показатели шкал Ранкина и NIHSS при поступлении составили

$2,6 \pm 0,2$ и $6,0 \pm 0,9$ балла, при выписке – $1,6 \pm 0,2$ и $2,9 \pm 0,5$ балла соответственно. Во 2-й группе показатели шкал Ранкина и NIHSS при поступлении составили $2,3 \pm 0,1$ и $4,9 \pm 0,6$ балла, на 10-е сутки – $1,3 \pm 0,1$ и $2,3 \pm 0,4$ балла соответственно. Достоверное ($p < 0,05$) уменьшение показателей клинических шкал за время госпитализации свидетельствовало о положительной динамике восстановления пациентов 1-й и 2-й групп.

Уровень тромбоцитов при поступлении у пациентов 1-й группы составлял $231,7 \pm 32,4 \times 10^9$ /л, на 10-е сутки – $239,1 \pm 15,0 \times 10^9$ /л. MPV при поступлении был равен $10,2 \pm 0,3$ фл, на 10-е сутки – $8,8 \pm 0,2$ фл. Во 2-й группе уровень тромбоцитов при поступлении был $236,1 \pm 12,5 \times 10^9$ /л, на 10-е сутки – $233,7 \pm 11,7 \times 10^9$ /л. MPV при поступлении составил $11,5 \pm 1,3$ фл, на 10-е сутки – $8,7 \pm 0,2$ фл. В обеих группах наблюдалось достоверное уменьшение MPV на 10-е сутки от развития инсульта по сравнению с поступлением ($p < 0,05$). Достоверного различия уровня тромбоцитов и MPV у пациентов 1-й и 2-й групп выявлено не было ($p > 0,05$).

У пациентов 1-й группы степень агрегации при стимуляции 2,5 мкмоль АДФ составила $50,8 \pm 5,0\%$, скорость агрегации – $23,8 \pm 3,4\%$ /мин, степень агрегации при стимуляции 5 мкмоль АДФ – $68,1 \pm 4,2\%$, скорость – $28,1 \pm 3,3\%$ /мин, степень агрегации при стимуляции 10 мкмоль АДФ – $74,2 \pm 5,2\%$, скорость – $32,4 \pm 4,4\%$ /мин. У пациентов 2-й группы степень агрегации при стимуляции 2,5 мкмоль АДФ была $54,9 \pm 5,3\%$, скорость агрегации – $23,5 \pm 1,6\%$ /мин, степень агрегации при стимуляции 5 мкмоль АДФ – $63,1 \pm 5,0\%$, скорость агрегации – $27,6 \pm 2,4\%$ /мин, степень агрегации при стимуляции 10 мкмоль АДФ – $74,9 \pm 5,6\%$, скорость агрегации – $30,9 \pm 3,1\%$ /мин. Достоверного различия агрегатометрических показателей у пациентов 1-й и 2-й групп не наблюдалось ($p > 0,05$).

Результаты проточной цитометрии у пациентов 1-й и 2-й групп представлены в таблице 2.

У пациентов с лейкоареозом отмечены достоверно ($p < 0,05$) более высокие значения количества рецепторов к фибриногену на тромбоците, чем у пациентов без лейкоареоза. Это указывает на генетически детерминированное повышение агрегантной активности тромбоцитов у больных с лейкоареозом.

Количество рецепторов 1b в 1-й группе было равно $4,0 \pm 0,3$, во 2-й группе $4,2 \pm 0,2$. Достоверного различия экспрессии рецепторов к фактору Виллебранда на тромбоцитах выявлено не было ($p > 0,05$).

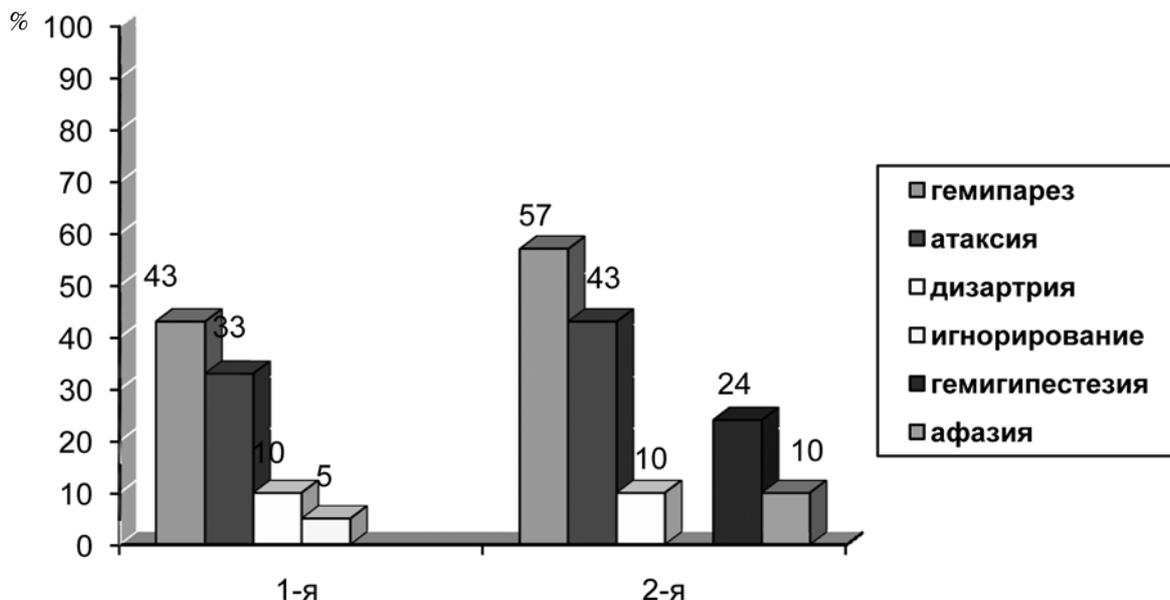


Рис. 2. Клиническая картина пациентов 1-й и 2-й групп

Таблица 2

Показатели проточной цитометрии у пациентов с ЛИ

Группа	IІb/IIIa			P-селектин		
	до стимуляции	после стимуляции	Δ, %	до стимуляции, %	после стимуляции, %	Δ, %
1	8,1±0,4*	8,9±0,4*	11,5±1,0	5,0±1,7	26,0±5,6	71,7±5,9
2	6,6±0,2*	7,5±0,2*	11,9±1,3	5,2±1,2	37,1±3,4	83,8±3,2

Примечание: * – p<0,05.

Выводы

1. У пациентов с ЛИ наблюдается активация тромбоцитарного звена гемостаза, выявляемая методом проточной цитометрии.

2. Методика стандартной агрегометрии неинформативна для оценки активности тромбоцитов у пациентов с ЛИ.

3. У пациентов с нетяжелым ЛИ и благоприятным течением острого периода инсульта выявлено уменьшение показателя MPV к 10-му дню течения инсульта.

4. У пациентов с сопутствующим ЛИ лейкоцитозом имело место генетически детерминированное повышение уровня рецепторов к фибриногену на тромбоците.

5. Характер выявленных изменений тромбоцитарного гемостаза у пациентов с ЛИ предполагает изменение режима антиагрегантной терапии для улучшения вторичной профилактики инсульта.

Литература

1. Гусев, Е.И. Эпидемиология инсульта в России / Гусев Е.И., Скворцова В.И., Стаховская Л.В. // Журн. неврологии и психиатрии. – Прилож. Инсульт. – 2003. – С. 4–9.

2. Емелин, А.Ю. Структурная нейровизуализация в дифференциальной диагностике сосудистых когнитивных нарушений // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. – 2010. – № 3 (31). – С. 97–102.

3. Лобзин, В.Ю. Сосудистая деменция / В.Ю. Лобзин, М.М. Одинак, А.Ю. Емелин // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. – 2004. – № 1(11). – С. 120–124.

4. Одинак, М.М. Сосудистые заболевания головного мозга / М.М. Одинак [и др.] – СПб.: Гиппократ, 1997. – 160 с.

5. Суслина, З.А. Инсульт: диагностика, лечение, профилактика / З.А. Суслина, М.А. Пирадов. – М.: МЕДпресс-информ, 2008. – 288 с.

6. Arboix, A. Recurrent lacunar infarction following a previous lacunar stroke: A clinical study of 122 patients / A. Arboix [et al.] // J. neurol. neurosurg. psychiatry. – 2007. – Vol. 78, № 12. – P. 1392–1394.

7. Bamford, J. The natural history of lacunar infarction: The Oxfordshire community stroke project / J. Bamford [et al.] // Stroke. – 1987. – Vol. 18, № 3. – P. 545–551.

8. Bang, O.Y. The course of patients with lacunar infarcts and a parent arterial lesion. Similarities to large vs small artery disease / O.Y. Bang [et al.] // Arch. neurol. – 2004. – Vol. 61, № 4. – P. 514–519.

9. Chui, H. Dementia due to subcortical ischaemic vascular disease / H. Chui // Clin. cornerstone. – 2001. – Vol. 3, № 4. – P. 40–51.

10. Snowdon, D.A. Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer disease. The Nun Study / D.A. Snowdon, L.H. Greiner, J.A. Mortimer // JAMA – 1997. – Vol. 277, № 10. – P. 813–817.

11. Staaf, G. Pure motor stroke from presumed lacunar infarct: Long-term prognosis for survival and risk of recurrent stroke / G. Staaf, A. Lindgren, B. Norrving // Stroke. – 2001. – Vol. 32, № 11. – P. 2592–2596.
12. Tatemichi, T.K. Risk of dementia after stroke in a hospitalized cohort: results of a longitudinal study / T.K. Tatemichi [et al.] // Neurology. – 1994. – Vol. 44, № 10. – P. 885–1891.
-

V.V. Goldobin, E.G. Klocheva, O.V. Sirotkina, T.V. Vavilova, A.B. Laskovets,
B.V. Bibulatov, T.M. Lachinova, N.P. Mashkova, M.P. Topuzova

Clinical and hemoreologic disorders in patients with lacunar stroke

***Abstract.** Clinical manifestation and platelet homeostasis parameter results in patients with lacunar strokes are presented. There is platelet hemostasis activation in such patients manifested by increasing of platelet count expressing P-selectin on flow-cytometry after adenosindiphosphate induction in patients with lacunar stroke. The level of fibrinogen and von Willebrand factor receptors was not different from such data in control group. Standart agregometry method was not informative for platelet activity estimation in such patients. It is determined that low dose adenosindiphosphate stimulation leads to less intensive platelet aggregation comparing with healthy group. There was significant decreasing of mean platelet volume on 10 day in patients with non-severe lacunar stroke and beneficial course of disease. The increasing of fibrinogen receptors on the platelet took place in patients with concomitant leucoaraiosis. P-selectin and von Willebrand factor expression does not differ in patients with and without leucoaraiosis*

Key words: lacunar stroke, platelet, flow-cytometry, P-selectin, fibrinogen receptors, mean platelet volume, leucoareosis.

Контактный телефон: +7-901-301-66-53; e-mail: vgoldobin@inbox.ru