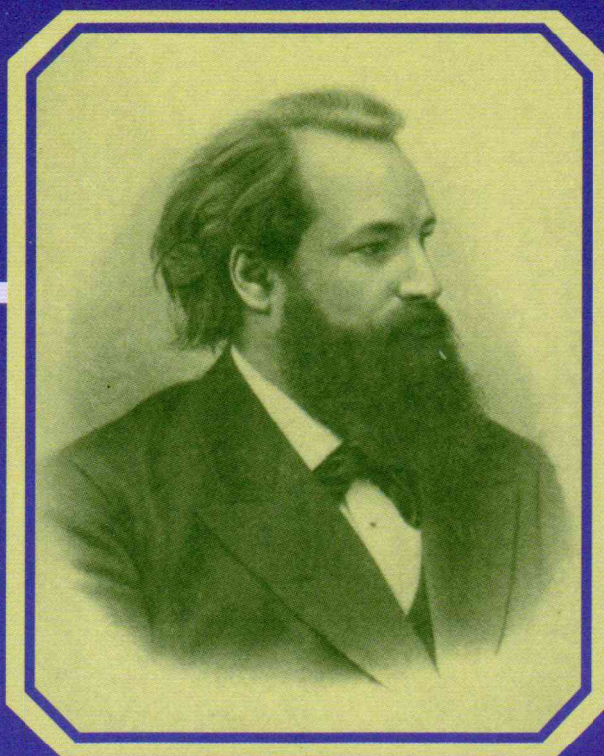


ISSN 1997-7298 (Print)
ISSN 2309-4729 (Online)

ЖУРНАЛ НЕВРОЛОГИИ И ПСИХИАТРИИ

ИМЕНИ С.С. КОРСАКОВА

Том 116



3'2016

Выпуск 2

ИНСУЛЬТ

МЕДИА  СФЕРА

Контракция (ретракция) сгустков крови у больных с острым ишемическим инсультом

А.Д. ПЕШКОВА¹, М.В. САЙХУНОВ², Т.В. ДЕМИН², А.П. ЛОЖКИН¹, М.В. ПАНАСЮК², Р.И. ЛИТВИНОВ¹, Д.Р. ХАСАНОВА^{2,3*}

¹ГБОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань; ²ФГБУ «Межрегиональный клинико-диагностический центр», Казань; ³ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет», Казань

Цель исследования — определение возможной патогенетической роли контракции сгустка крови и ее нарушений в острой фазе ишемического инсульта (ИИ). **Материал и методы.** Был использован новый аппаратный метод изучения динамической контракции сгустков крови *in vitro*, определены параметры контракции (степень и скорость контракции, продолжительность лаг-периода) у 85 больных с острым ИИ. **Результаты и заключение.** Установлено, что в крови больных с ИИ способность сгустков к контракции существенно снижена по сравнению с кровью здоровых. Сопоставление показателей контракции и гемостаза указывает на связь нарушенной контракции с уменьшенным количеством и измененным свойствам тромбоцитов при ИИ, с повышением уровней фибриногена и антитромбина III, а также более высоким гематокритом и содержанием гемоглобина, лейкоцитозом и изменениями биохимического состава крови. Полученные результаты показывают, что снижение контракции сгустков крови может быть новым патогенетическим механизмом, влияющим на течение и исход ИИ.

Ключевые слова: ишемический инсульт, тромбоз, свертывание крови, контракция сгустка, ретракция сгустка.

Contraction (retraction) of blood clots in patients with ischemic stroke

A.D. PESHKOVA, M.V. SAIKHUNOV, T.V. DEMIN, A.P. LOZHKIN, M.V. PANASYUK, R.I. LITVINOV, D.R. KHASANOVA

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan; ²Inter-Region Clinical Diagnostic Center, Kazan; ³Kazan State Medical University, Kazan

Objective: To study a possible pathogenetic role of the blood clot contraction and its disturbances in the acute stage of ischemic stroke (IS). **Material and methods:** Using a new instrumental technique to study the dynamics of clot contraction *in vitro*, the authors have determined quantitative parameters of clot contraction (the extent and rate of contraction, duration of the lag-period) in the blood of 85 patients with acute IS. **Results and Conclusion:** The contractile activity of blood clots was substantially reduced compared to the blood of healthy subjects. Correlations between hemostatic and contractile parameters suggest that the reduced clot contraction in stroke is due to the lower platelet count and impaired platelet functionality, higher levels of fibrinogen and antithrombin III as well as higher hematocrit and hemoglobin contents, leukocytosis, and changes in the biochemical blood composition. The results show that the reduced ability of clots may be a novel pathogenic mechanism that aggravates the course and outcomes of IS.

Keywords: ischemic stroke, fibrillation, clot contraction, clot retraction.

Инсульт является второй по частоте причиной смертности среди населения в Российской Федерации [1, 2] и ведущей причиной инвалидизации в мире [3]. В России ежегодная смертность от инсульта составляет 39% от всех болезней системы кровообращения и 23,4% от общей смертности населения [1], в стране насчитывается более 1 млн пациентов, перенесших ишемический инсульт (ИИ) [1, 4]. Летальность в остром периоде инсульта составляет в среднем 30—35% и возрастает к концу первого года после заболевания еще на 12—15% [2]. Лишь у 20% пациентов после ИИ полностью восстанавливается работоспособность [5]. Постинсультная инвалидизация занимает первое место среди всех причин ин-

валидации и составляет 3,2 на 10 000 населения. Вследствие значительных затрат, связанных с проведением лечебных и реабилитационных мероприятий среди пациентов с ИИ, проблема цереброваскулярной патологии имеет не только медицинскую, но и социальную значимость [6].

Несмотря на большое число исследований, посвященных нарушениям мозгового кровообращения, патогенез инсультов остается еще во многом не ясным, а результаты лечения и профилактики не всегда удовлетворительными [7, 8]. Чаще всего инсульты протекают по типу ишемии и сопровождаются образованием артериальных тромбов в 34% случаев [9], что указывает на важную патогенетиче-

скую роль изменений в системе гемостаза [10]. Одним из центральных механизмов патогенеза ИИ является системное увеличение коагуляционного потенциала и изменение реологических свойств крови в сочетании с локальной дисфункцией и/или деструкцией эндотелия, что в совокупности приводит к ИИ [11, 12]. Наряду с нарушениями плазменного и сосудистого компонентов гемостаза при ИИ происходит активация тромбоцитов. Так, у 57% больных с ИИ наблюдается гиперагрегация тромбоцитов, которая влечет за собой выброс мощного проагреганта — тромбосана A_2 [13] и других веществ, стимулирующих гемокоагуляционный каскад и вторичную активацию тромбоцитов.

Одним из наиболее сильных физиологических активаторов тромбоцитов является фермент тромбин, образующийся в крови при любых вариантах внутрисосудистой активации системы свертывания крови. Одновременно с активацией тромбоцитов тромбин расщепляет белок плазмы крови фибриноген, который превращается в полимерный нерастворимый фибрин. Активированные тромбоциты прилипают к нитям фибрина через интегриновый рецептор $\alpha IIb\beta_3$, образуя фибрино-тромбоцитарную сеть — структурную основу гемостатического сгустка или обтурационного тромба [14—16]. В пробирке после формирования фибрино-тромбоцитарного сгустка наблюдается его спонтанное сжатие (уменьшение в объеме до $1/10$ от исходного) с отделением сыворотки крови [14] — процесс, получивший название контракции (или ретракции) кровяного сгустка [17]. Контракция сгустка крови происходит не только *in vitro*, но и внутри кровеносных сосудов, если там образовался сгусток или тромб [18]. Значение контракции *in vivo* состоит в том, что активное сжатие сгустка восстанавливает кровоток в обход сгустка или тромба, обтурирующего просвет сосуда [17, 18].

Несмотря на потенциальную клиническую значимость контракции сгустка, ее систематическое изучение раньше не проводилось, прежде всего из-за несовершенства существующих методов регистрации и оценки этого процесса. Степень контракции в подавляющем большинстве сравнительно немногочисленных исследований рассчитывалась приблизительно, по отношению объема выделившейся сыворотки к объему забранной крови. Не удивительно, что при этом нормальные показатели степени контракции были плохо сопоставимы, очень разнородны и колебались от 20 до 80%. В данной работе использован оригинальный аппаратный метод [19], который позволяет дать количественную оценку кинетики контракции сгустка крови *in vitro* в норме и при патологии.

Цель настоящей работы — определение возможной патогенетической и клинической роли нарушений контракции сгустка крови в острой фазе ИИ.

Материал и методы

В исследование были включены 85 пациентов с ИИ, 42 (49%) мужчины и 43 (51%) женщины, в возрасте от 45 до 86 лет, средний возраст — 67,6 года, поступивших в неврологическое отделение Межрегионального клинико-диагностического центра (МКДЦ) Казани. При поступлении пациента в специализированное приемное отделение, приближенное к блоку лучевой диагностики, проводились клинический осмотр с оценкой неврологического статуса с использованием шкалы инсульта Национального института здоровья США (NIHSS) и забор крови для лабораторных исследований. При выявлении клинических признаков ИИ осуществлялись рентгеновская компьютерная томография (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга для подтверждения диагноза, уточнения типа и локализации инсульта, вычисления размера очага [20, 21]. Патогенетический подтип инсульта определялся согласно критериям TOAST (Trial Of Org 10172 in Acute Stroke Treatment) [3]. Исход инсульта (степень инвалидизации) определялся в день выписки из стационара по модифицированной шкале Рэнкина (mRs).

Среди включенных в исследование пациентов в 64 (75%) наблюдениях ИИ развился в системе внутренней сонной артерии, в 21 (25%) — в вертебрально-базиллярной системе. Согласно критериям TOAST, у 33 (39%) пациентов выявлен кардиоэмболический инсульт, у 46 (54%) — атеротромботический и у 6 (7%) — лакунарный. Неврологический дефицит по шкале NIHSS составил от 1 до 25 баллов, среднее значение — 9,2 балла, среди обследованных с легким инсультом были 46 (54%) пациентов (NIHSS 1—7 баллов), с инсультом средней степени тяжести — 24 (28%) (NIHSS 8—16 баллов), с тяжелым инсультом — 15 (18%) больных (NIHSS более 16 баллов). Степень инвалидизации по mRs в день выписки из стационара у 3 (4%) больных составила 0 баллов, у 18 (21%) — 1 балл, у 17 (20%) — 2 балла, у 12 (14%) — 3 балла, у 21 (25%) — 4 балла, у 8 (9%) — 5 баллов. Умерли 6 (7%) пациентов.

В качестве группы контроля исследовали кровь 80 условно здоровых, обратившихся в Центр переливания крови МКДЦ, из них 47 (59%) мужчин и 33 (41%) женщины в возрасте от 18 до 57 лет, средний возраст — 35 лет.

Подготовка образцов крови

Забор венозной крови проводили при поступлении пациентов, но не позднее 6 ч от манифестации ИИ, при условии исключения приема препаратов, влияющих на свертывание крови и активность тромбоцитов. Первые две пробы крови брали в вакуйтенеры с 3,2% цитратом натрия BD Vacutainer («Becton, Dickinson and Co.», США) в соотношении

9:1 по объему. Первый образец цитратной крови использовали непосредственно для изучения контракции кровяного сгустка. Второй — центрифугировали при 1500 g в течение 10 мин для получения бедной тромбоцитами плазмы и использовали для оценки состояния гемостаза. Третий — стабилизировали K_3 ЭДТА (1,6 мг/мл конечная концентрация) в BD Vacutainer и использовали для гематологических анализов. Образец с нестабилизированной цельной кровью смешивали с силикатным активатором свертывания BD Vacutainer и оставляли сворачиваться на 20—30 мин, затем центрифугировали при 2000 g 10 мин, чтобы получить сыворотку для биохимических исследований. Образцы крови хранили и обрабатывали при комнатной температуре, исследовали не позднее 4 ч после взятия.

Динамика контракции сгустка крови in vitro

Определение кинетики и степени контракции кровяного сгустка проводили с помощью метода, основанного на оптической регистрации размера сгустка крови во времени, с использованием прибора «Регистратор тромбодинамики» производства компании «ГемаКор» (Москва) [19]. Перед определением двухканальную пластиковую измерительную кювету размером 12×7×1 мм, прилагаемую к прибору, ополаскивали 4% раствором тритона X-100 на 150 mM NaCl, чтобы предотвратить прилипание фибрина к стенкам кюветы и сделать возможным спонтанное, не ограниченное в пространстве сжатие сгустка крови.

Сначала к цитратной крови добавляли $CaCl_2$ 2 mM (конечная концентрация) и инкубировали при 37 °C в течение 3 мин. Затем добавляли 1 U/мл тромбина (конечная концентрация) для инициации свертывания крови и активации тромбоцитов. После этого быстро переносили 80 мкл образца в прозрачную кювету, предварительно прогретую до 37 °C в термостатируемой камере прибора «Регистратор тромбодинамики». Фоторегистрацию размеров сгустка крови проводили автоматически каждые 15 с в течение 20 мин после добавления тромбина.

Обработку результатов и построение кинетической кривой осуществляли с помощью специальной программы, которая определяет такие параметры, как конечная степень контракции — величина, отражающая разницу между начальным и конечным (через 20 мин) размером сгустка в процентах; лаг-период — время, необходимое для уменьшения раз-

мера сгустка менее 95% от исходного, т.е. время, необходимое для инициации процесса контракции (с); средняя скорость контракции — изменение размера сгустка (%) на единицу времени.

Определение параметров гемостаза

Состояние системы гемостаза оценивали с помощью автоматизированного коагулометра Sysmex CA-1500 («Sysmex», Канада). Определяли параметры коагулограммы: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время в единицах международного нормализованного отношения (МНО), протромбиновое время, концентрацию фибриногена по Клауссу, с помощью хромогенного метода концентрацию анти-тромбина III (АТIII), уровень плазминогена, уровень протеина С. Турбидиметрический иммунно-анализ использовали для определения концентрации D-димера.

Гематологические и биохимические исследования

Анализ клеток проводили в цельной крови, стабилизированной ЭДТА, с помощью гематологического анализатора ABX Pentra 60 («Horiba», Япония) по следующим параметрам: количество эритроцитов, средний объем эритроцитов, гематокрит, уровень гемоглобина, среднее содержание гемоглобина в эритроците, цветовой показатель, общее количество лейкоцитов, содержание моноцитов, нейтрофилов, лимфоцитов, эозинофилов, базофилов, тромбоцитов, средний объем тромбоцитов.

Биохимические анализы крови проводили с помощью прибора RX Imola («Randox», Великобритания) и Advia 1200 («Siemens», Германия). Концентрации сывороточного альбумина, общего белка, общего билирубина, глюкозы, активности аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), уровни креатинина, мочевины, ионов магния, натрия и калия были измерены на анализаторе RX Imola. Содержание холестерина, триглицеридов, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) осуществляли на приборе ADVIA 1200. Концентрацию белка сыворотки S-100 определяли с помощью анализатора Cobas E411 («Roche», Швейцария).

Статистический анализ полученных данных осуществляли с использованием программных пакетов GraphPad Prism 5, Statsoft Statistica 10. Для подтверждения гипотезы нормальности распре-

Таблица 1. Параметры контракции сгустка крови у пациентов с острым ИИ и у здоровых доноров

Параметр	Условно здоровые (n=80)	Пациенты с острым ИИ (n=85)
Конечная степень контракции сгустка, %	51,5±0,6	23,1±0,9*
Лаг-период, с	74±5	243±17*
Средняя скорость контракции, 10 ⁻³ %/с	41,0±0,5	18,6±0,7*

Примечание. Здесь и в табл. 2—5: * — достоверные различия по сравнению со здоровыми $p<0,05$.

Таблица 2. Показатели гемостаза у больных с острым ИИ и у здоровых

Параметр	Группа контроля (n=80)	Пациенты с острым ИИ (n=85)
АЧТВ (26—36), с	32,1±0,5	35,4±2,4*
Протромбиновый индекс (70—130)	103,6±1,5	105,8±2,8*
МНО (0,85—1,15)	0,99±0,01	1,00±0,02
Фибриноген (1,8—4,0), г/л	2,7±0,1	3,3±0,2*
Тромбиновое время (14—21), с	17,7±0,2	17,4±0,4
D-димер (0—0,5), мкг/мл	0,23±0,03	1,7±0,4*
Антитромбин III (80—120), %	90,5±1,0	94,1±4,9*
Плазминоген (80—135), %	111,8±2,9	109,8±4,3
Протеин С (70—130), %	104,3±2,1	103,7±2,9
Амплитуда АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов (60—90), %	64,3±1,6	62,0±4,4*
Скорость АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов (30—45), %/мин	36,6±1,0	24,3±2,4*
Количество тромбоцитов в крови (180—320), 10 ⁹ /л	286±10	252±8*
Средний объем тромбоцитов (8,6—12,6), фл	9,5±1,4	8,4±0,1*

Примечание. В скобках указаны пределы нормальных колебаний.

Таблица 3. Коэффициенты корреляции параметров контракции кровяного сгустка и некоторых показателей системы гемостаза у пациентов с острым ИИ

Параметр	Уровень фибриногена	Уровень антитромбина III	Содержание тромбоцитов
Степень контракции	—0,267*	—0,0235	0,231*
Лаг-период	—0,0272	0,635**	—0,182
Скорость контракции	—0,313**	0,262	0,229*

Примечание: Здесь и в табл. 5: * — $p<0,05$; ** — $p<0,01$.

ления статистических признаков использовали критерий нормальности Колмогорова—Смирнова. Различия между двумя независимыми выборками оценивали с помощью критериев Манна—Уитни и Стьюдента; корреляционный анализ проводили на основе вычисления коэффициента корреляции Пирсона, при ненормальном распределении признака использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. При оценке достоверности использовали уровень статистической значимости 95% ($p<0,05$). Данные в таблицах представлены в виде среднего арифметического±стандартная ошибка среднего.

Кластерный анализ проводили с использованием методов иерархической кластеризации и k-средних [22]. Первые (метод полной связи, метод средней связи и метод Уорда) применяли преимущественно для определения объективно существующего числа групп пациентов (величины k). На основе метода k-средних для имеющейся совокупности статистических признаков проводили разбиение за-

данной выборки пациентов на внутренне однородные k-группы (кластеры).

Результаты

Снижение контракции кровяного сгустка у больных в острой фазе ИИ

Анализ параметров контракции кровяного сгустка показывает, что интенсивность этого процесса в крови пациентов в остром периоде ИИ достоверно снижена по сравнению с контролем (табл. 1). Об этом свидетельствуют более чем 2-кратное снижение средней степени и скорости контракции, а также более чем 3-кратное увеличение продолжительности лаг-периода при ИИ. Эти данные показывают, что в крови пациентов тормозятся все стадии процесса контракции сгустка крови, несмотря на высокую концентрацию экзогенного активатора (тромбина), добавляемого при постановке теста. Для выявления возможных механизмов уменьшения контракции при ИИ параметры контракции

Таблица 4. Контроль гематологические и биохимические показатели у больных с острым ИИ и у здоровых

Параметр	Контроль (n=80)	Пациенты с острым ИИ (n=85)
<i>Показатели красной крови</i>		
Эритроциты (3—5), $10^{12}/л$	$4,5 \pm 0,1$	$4,5 \pm 0,1$
Гематокрит (36—48), %	$38,5 \pm 0,5$	$41,6 \pm 0,6^*$
Гемоглобин (120—160), г/л	$134,1 \pm 1,8$	$139,3 \pm 2,2^*$
Цветовой показатель (0,85—1,05)	$0,93 \pm 0,01$	$0,92 \pm 0,01$
Средний объем эритроцита (80—100), фл	$85,6 \pm 0,8$	$92,2 \pm 0,9^*$
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (30—35), пг	$32,1 \pm 0,4$	$30,9 \pm 0,3^*$
<i>Показатели белой крови</i>		
Лейкоциты (4—9), $10^9/л$	$5,8 \pm 0,2$	$7,8 \pm 0,2^*$
Эозинофилы (0,5—5), %	$3,0 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,1^*$
Моноциты (3—11), %	$6,2 \pm 0,2$	$8,1 \pm 0,3^*$
Лимфоциты (19—37), %	34 ± 1	$23 \pm 1^*$
Базофилы (0—1), %	$0,4 \pm 0,1$	$0,49 \pm 0,02$
Нейтрофилы (47—78), %	$58,8 \pm 1,1$	$66,3 \pm 1,0^*$
СОЭ (0—15), мм/ч	$8,5 \pm 1,0$	$19,4 \pm 2,1^*$
<i>Биохимические показатели</i>		
Альбумин (32—50), г/л	$43,7 \pm 0,5$	$42,2 \pm 0,4^*$
Общий белок (64—83), г/л	$72,8 \pm 0,6$	$68,8 \pm 0,7^*$
Билирубин (5—17), ммоль/л	$8,4 \pm 0,5$	$12,4 \pm 0,7^*$
Глюкоза (3,6—6), ммоль/л	$5,1 \pm 0,1$	$8,0 \pm 0,4^*$
АЛТ (5—40), ед/л	$20,6 \pm 1,3$	$20,3 \pm 1,5$
АСТ (7—38), ед/л	$17,6 \pm 0,7$	$26,0 \pm 1,7^*$
Креатинин (44—97), ммоль/л	$87,2 \pm 1,7$	$90,4 \pm 2,2^*$
Мочевина (1,7—8,3), ммоль/л	$4,4 \pm 0,2$	$6,3 \pm 0,25^*$
Mg^{2+} (0,65—1,05), ммоль/л	$0,91 \pm 0,03$	$0,88 \pm 0,02$
Na^+ (136—145), ммоль/л	$136,0 \pm 4,7$	$140,4 \pm 0,6^*$
K^+ (3,5—5,1), ммоль/л	$4,5 \pm 0,1$	$4,0 \pm 0,1^*$
Холестерин (3,6—5,2), ммоль/л	$4,6 \pm 0,1$	$5,0 \pm 0,1$
Триглицериды (0,45—1,8), ммоль/л	$1,1 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,9^*$
ЛПВП (0,78—1,82), ммоль/л	$1,3 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,1$
ЛПНП (1,6—3,4), ммоль/л	$2,8 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,1$
Индекс атерогенности (0—4)	$2,7 \pm 0,1$	$4,1 \pm 0,2^*$
Белок S-100 (0—0,105), мг/л	$0,048 \pm 0,003$	$0,344 \pm 0,226^*$

были сопоставлены с результатами других исследований.

Контракция сгустка крови и показатели гемостаза

Лабораторные исследования показали, что у больных с ИИ наблюдаются разнонаправленные изменения коагулограммы как в сторону снижения коагуляционного потенциала крови (гипокоагулемия), так и в сторону его повышения (гиперкоагулемия) (табл. 2). Гипокоагулемия проявляется удлинением АЧТВ, увеличением уровня антитромбина III,

а также снижением амплитуды и скорости АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов в сочетании с уменьшением концентрации тромбоцитов в крови. В пользу гиперкоагуляции свидетельствуют увеличение протромбинового индекса, повышение уровня фибриногена и существенное увеличение концентрации в крови D-димера — маркера внутрисосудистого отложения фибрина. Такие внешне противоречивые лабораторные данные характерны для патологических состояний, сопровождающихся внутрисосудистым свертыванием крови по типу подострого ДВС-синдрома или тромбоза. Особый

Таблица 5. Параметры контракции сгустков крови и клинические показатели у обследованных пациентов

Параметр	1-я группа (n=32)	2-я группа (n=53)
Степень контракции, %	29,9±1,3*	19,1±0,8
Скорость контракции, ·10 ⁻⁶	24±0,1*	15±0,1
Лаг-период, с	529±29*	264±9
Время от начала инсульта до исследования, мин	963±266*	1040±344
NIHSS при поступлении, баллы	10,3±1,5*	8,9±0,9

интерес представляют обнаруженные нами данные о снижении количества тромбоцитов, уменьшении их среднего объема и агрегационной активности при ИИ, которые могут прежде всего объяснять уменьшение контракции сгустка крови, зависящего от функционального состояния и количества тромбоцитов.

Корреляционный анализ показателей контракции кровяного сгустка и гемокоагуляции выявил две достоверные взаимосвязи (табл. 3). Первая — слабая отрицательная корреляция уровня фибриногена со степенью и скоростью контракции, указывающая на возможное ингибирующее действие фибриногена на контракцию. Вторая — высокая положительная корреляция активности антитромбина III с лаг-периодом, свидетельствующая о возможности частичной нейтрализации тромбина и замедлении процессов клеточной активации и образования фибрина. Эти результаты могут указывать на общность механизмов контракции сгустка и свертывания крови и на вклад, который гиперфибриногемия и повышенный уровень антитромбина III могут вносить в снижение скорости и полноты контракции при ИИ.

Связь контракции сгустка крови с клеточным и биохимическим составом крови

Чтобы установить возможные причины снижения контракции сгустка при ИИ, мы проанализировали связь контракции с лабораторными показателями, которые представлены в табл. 4. Было обнаружено несколько достоверных изменений клеточного и биохимического состава крови при ИИ, которые могут быть связаны с контракцией сгустков. Во-первых, это изменения красной крови, включающие относительное увеличение гематокрита, содержания гемоглобина и среднего объема эритроцитов при одновременном уменьшении среднего содержания гемоглобина в эритроците. Во-вторых, это изменения белой крови, которые проявляются относительным лейкоцитозом, прежде всего за счет увеличения содержания моноцитов и нейтрофилов. Эти клеточные изменения сочетаются с повышенной СОЭ, которая вместе с лейкоцитозом отражает воспалительную реакцию организма на инсульт. В-третьих, это относительное снижение уровня

концентрации белка в крови, прежде всего альбумина, при одновременном увеличении уровня билирубина, мочевины, креатинина, активности АСТ и гипергликемии, указывающих в совокупности на изменение функции печени как метаболической реакции на инсульт. Кроме названных показателей у больных с ИИ выявлены изменения ионного состава крови, более высокий уровень триглицеридов и высокий атерогенный индекс. Все описанные сдвиги могут прямо или косвенно влиять на активность ферментов свертывания крови и генерацию эндогенного тромбина, а также на функциональное состояние тромбоцитов и биомеханические свойства сгустков крови, от которых в конечном счете зависит контракция.

Особого внимания заслуживает сопоставление параметров контракции сгустков с содержанием в крови больных с ИИ белка S-100, который является маркером повреждения нервной ткани и концентрация которого прямо пропорциональна объему фокального повреждения мозга [23]. Из параметров контракции была обнаружена слабая, но достоверная положительная корреляция длительности лаг-периода с концентрацией белка S-100 у больных с ИИ ($r=0,28$, $p<0,05$).

Связь параметров контракции сгустка крови с клиническими показателями

В результате проведенного статистического сравнительного анализа какой-либо достоверной связи степени и скорости контракции сгустка с патогенетическим подтипом инсульта, диаметром окклюзированного сосуда, сосудистым бассейном выявлено не было. Однако кластерный анализ показал, что исследуемая когорта пациентов с ИИ по основным показателям контракции кровяного сгустка разделяется на две группы. Анализ различий между этими группами (кластерами) пациентов с острым ИИ выявил статистически значимые ($p<0,05$) межгрупповые различия по уровню фибриногена ($p=0,0017$), гемоглобина ($p=0,012$), общего белка ($p=0,032$) и содержанию эритроцитов ($p=0,03$), что подтверждает объективный характер существования этих кластеров.

Параметры контракции сгустка и статистически значимые клинические показатели объединены в

табл. 5. Видно, что в 1-й группе степень и скорость контракции были выше, чем во 2-й группе, т.е. были ближе к норме, что совпадает с меньшим сроком от начала инсульта до исследования контракции, но с большей тяжестью инсульта при поступлении по шкале NIHSS. Во 2-й группе, где степень и скорость контракции были существенно снижены, т.е. больше отклонялись от нормы, имели место больший срок от начала инсульта до исследования, но меньшая степень тяжести инсульта. Таким образом, можно предположить, что именно временной фактор от момента развития инсульта определяет трансформацию гемостаза и является одним из критериев успешности тромболитической терапии именно в период терапевтического окна. Следует отметить, что лаг-период обнаружил обратную зависимость от степени и скорости контракции: он был длиннее в 1-й группе и сочетался с большей тяжестью инсульта, но менее длительным сроком от появления симптомов заболевания до исследования. Корреляционный анализ по Спирмену показал, что из параметров контракции сгустка крови только анализ лаг-периода обнаружил положительную умеренную связь с объемом повреждения головного мозга ($r=0,287$, $p<0,05$) по данным нейровизуализации. Более длительный лаг-период сочетался с большим объемом повреждения, что согласуется с результатами кластерного анализа.

Обсуждение

Изменения гемостатаза в сочетании с нарушениями макро- и микроциркуляции составляют важнейшее звено патогенеза ишемических поражений головного мозга [2]. Известно, что развитие ИИ сопровождается нарушением всех компонентов гемостаза, включая повреждение сосудистой стенки, сдвиги в тромбоцитарном и плазменном звеньях [11]. Непосредственной причиной поражения головного мозга является острая гипоперфузия, связанная с тромбозом или тромбоэмболией мозговых сосудов, от локализации и размеров которых прежде всего зависит обширность и тяжесть повреждения. Нередко тромбоз сосудов головного мозга сочетается с геморрагической трансформацией, что осложняет диагностику и ухудшает прогноз [24].

Очаги распада ткани мозга в результате ишемии являются дополнительными источниками поступления в кровь тканевого фактора и других веществ, обладающих прокоагулянтными свойствами. Все это усугубляет гиперкоагуляцию и тромбофилию, ведет к нарушению гемостатического баланса, в том числе к декомпенсации противосвертывающих механизмов [24], поэтому выявление и устранение гемостатических нарушений в остром периоде ИИ является важной лечебной задачей.

Процесс контракции кровяного сгустка остается одной из наименее изученных стадий свертывания крови. Особенно мало известно о контракции сгустков крови и обтурационных тромбов *in vivo*. Настоящая работа является первым исследованием контракции сгустка крови при инсульте. Результат состоит в том, что в крови пациентов с острым ИИ способность к контракции сгустка крови оказалась достоверно снижена по сравнению с нормой (**см. табл. 1**). Полученные нами данные позволяют объяснить этот феномен сочетанием нескольких механизмов.

Возможно, главной причиной сниженной контракции сгустков крови при ИИ является обнаруженное уменьшение функциональной активности и количества тромбоцитов. Известно, что движущей силой контракции сгустка являются активированные тромбоциты, прилипшие к волокнам фибрина. Одно из последствий активации тромбоцитов — взаимодействие внутриклеточных белков актина и миозина, которое приводит к сокращению клеток по механизму, похожему на сокращение мышечных волокон. Независимо от причин, по которым ИИ сопровождается нарушениями тромбоцитарного компонента гемостаза, это может повлечь снижение контрактной активности тромбоцитов [25].

В то же время замедление контракции сгустка на начальной стадии объясняется повышением уровня антитромбина III (**см. табл. 2**), который подавляет активность тромбина и других сериновых протеаз — факторов Ха, IXa, XIa, и XIIa [26], что проявляется удлинением АЧТВ и лаг-периода контракции. Тромбин не только превращает фибриноген в фибрин, но и служит мощным активатором тромбоцитов. Нами было показано, что уменьшение активности эндогенного тромбина, несмотря на добавление экзогенного фермента, проявляется сниженной контракцией сгустков крови [19].

Недавно обнаружилось, что эритроциты также участвуют в контракции сгустка крови. Сократительная сила, генерируемая тромбоцитарно-фибриновым комплексом, плотно упаковывает и сжимает эритроциты, делая ядро сгустка плотным и непроницаемым для белков, включая ферменты фибринолиза [18], что объясняет неэффективность тромболитической терапии «старых» тромбов. Деформированные в результате контракции сгустка эритроциты приобретают форму многогранника (полиэдра), поэтому они получили название полиэдроцитов [18]. Полиэдроциты были обнаружены в составе коронарных тромбов у пациентов с инфарктом миокарда [27], что подтверждает контракцию сгустка крови *in vivo*. Выявленное в работе повышение гематокрита и уровня гемоглобина при ИИ полностью согласуется с данными об ингибирующем влиянии эритроцитов на контракцию сгустка.

Гиперфибриногенемия, установленная в данном исследовании у больных с ИИ, также может подавлять контракцию. Повышение концентрации фибриногена вскоре после появления неврологических симптомов описано у большинства больных с ИИ [28]. Известно, что при повышении концентрации фибриногена и образующегося из него фибрина, большее количество волокон не соприкасается с тромбоцитами и образует пассивную сеть, которая механически тормозит процесс контракции сгустка [14].

Обнаруженный нами феномен снижения контракции сгустка крови при остром ИИ может быть обусловлен целым рядом нарушений клеточного и биохимического состава крови. Независимо от механизма, нарушение контракции внутрисосудистого сгустка или тромба может играть важную роль в патогенезе ИИ. На это косвенно указывает обнаруженная в работе статистически значимая прямая связь между объемом фокального повреждения головного мозга (по уровню белка S-100) и замедлением контракции (по длительности лаг-периода). Патологическое значение контракции состоит в сохранении кровотока в обход обтурированного тромба, что может определять течение и исход тромбоза [17, 18]. В то же время плотный тромб, подвергшийся контракции, становится непроницаемым и может быть персистирующим из-за резистентности к действию фибринолитических ферментов, в первую очередь тканевого активатора плазминогена — тромболитика, используемого в клинической прак-

тике. Таким образом, последствия контракции могут быть противоречивыми, усугубляя или облегчая тромботическое состояние.

Этот вывод подтверждается сопоставлением параметров контракции сгустков с клиническими показателями тяжести и длительности заболевания у больных с острым ИИ (см. табл. 5). С одной стороны, изменение параметров контракции сочетается с большей длительностью заболевания, что указывает на прогрессирующий характер контрактционной дисфункции. С другой стороны, ослабленная контракция сочетается с меньшей тяжестью инсульта при поступлении, что может говорить о положительном эффекте, например о сохранении проницаемости несжатого тромба для белков крови, включая фибринолитические ферменты, что открывает большие возможности для реканализирующей медикаментозной тромболитической терапии. Данный результат, а также тот факт, что замедление лаг-периода сочетается с большей тяжестью инсульта по шкале NIHSS и большим объемом повреждения по данным визуализации, наводит на мысль о возможности включения теста на контракцию сгустка крови в перечень лабораторных методов обследования больных с острым ИИ.

Все сказанное указывает на важность дальнейшего изучения контракции сгустка крови и как нового патогенетического механизма, и с точки зрения использования параметров контракции в качестве нового диагностического и прогностического метода при ИИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стародубцева О.С., Бегичева С.В. Анализ заболеваемости инсультом с использованием информационных технологий. *Фундаментальные исследования*. 2012;8(2):424-427.
2. Крылова Л.Г., Бельская Г.Н., Колесникова О.Л. Патология гемостаза в остром периоде ишемического инсульта в зависимости от степени тяжести. *Известия Челябинского научного центра*. 2004;2(23):178-181.
3. Feigin VL, Mensah GA, Norrving B, Murray CJ, Roth GA. Atlas of the Global Burden of Stroke (1990-2013): *The GBD 2013 Study*. *Neuroepidemiology*. 2015;45(3):230-236. doi: 10.1159/000441106.
4. Парфенов В.А. Лечение и реабилитация пациентов, перенесших ишемическое нарушение мозгового кровообращения. *Нервные болезни*. 2006;(1):8-11.
5. Захаров В.В., Вахнина Н. В. Инсульт и когнитивные нарушения. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2011;(2):8-16.
6. Фрис Я.Е., Камчанов И.В., Шелякина Л. А. Информированность населения о факторах риска сосудистых заболеваний головного мозга и клинических проявлениях инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2010;9(2):3-12.
7. Wiseman SJ, Doubal FN, Chappell FM, Valdés-Hernández MC, Wang X, Rumley A, Lowe GD, Dennis MS, Wardlaw JM. Plasma Biomarkers of Inflammation, Endothelial Function and Hemostasis in Cerebral Small Vessel Disease. *Cerebrovasc Dis*. 2015;40(3-4):157-164. doi: 10.1159/000438494.
8. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Стаховская Л.В. Проблема инсульта в Российской Федерации: время активных совместных действий. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2007;(6):4-10.
9. Танашян М.М., Лагода О.В., Домашенко М.А. Профилактика ишемических инсультов у пациентов с атеросклеротической патологией магистральных артерий головы. *Нервные болезни*. 2008;(1):2-6.
10. Хазыров М.М., Солодянкина М.Е., Равелин Э.Э., Табашникова Ю.В. Расстройство гемостаза в остром периоде ишемического инсульта на фоне гипертонической болезни. *Вестник ЮУрГУ*. 2006;3(1):169-172.
11. Салова Е.А., Краснощекова Л.И., Точенов М.Ю., Мокеева И.П. Состояние гемостаза в остром периоде ишемического инсульта с учетом его гетерогенности. *Лечебное дело*. 2012;(3):56-59.
12. Суслина З.А., Ерофеева А.В., Танашян М.М., Ионова В.Г. Гемореология и гемостаз при ишемических инсультах. *Неврологический вестник*. 2005;3(4):5-10.
13. Суслина З.А., Варакин Ю.Я., Верещагин Н.В. *Сосудистые заболевания головного мозга*. М.: Медпресс-информ; 2006.
14. Weisel JW, Litvinov RI. Mechanisms of fibrin polymerization and clinical implications. *Blood*. 2013;121:1712-1719. doi: 10.1182/blood-2012-09-306639.
15. Bodin S, Soulet C, Tronchere H, Sie P, Gachet C, Plantavid M, Pavrastra B. Integrin-dependent interaction of lipid rafts with the actin cytoskeleton in activated human platelets. *J Cell Sci*. 2005;118(4):759-769. doi: 10.1242/jcs.01648.
16. Podolnikova NP, Yakovlev S, Yakubenko VP, Wang X, Gorkun OV, Ugarkova TP. The interaction of integrin α IIb β 3 with fibrin occurs through multiple binding sites in the α IIb β -propeller domain. *J Biol Chem*. 2014;289(4):2371-2383. doi: 10.1074/jbc.M113.518126.

17. Carr ME. Development of platelet contractile force as a research and clinical measure of platelet function. *Cell Biochem Biophys*. 2003;38(1):55-78. doi:10.1385/cbb:38:1:55.
18. Cines DB, Lebedeva T, Nagaswami C, Hayes V, Massefski W, Litvinov RI, Rauova L, Lowery TJ, Weisel JW. Clot contraction: compression of erythrocytes into tightly packed polyhedral and redistribution of platelets and fibrin. *Blood*. 2014;123(10):1596-1603. doi: 10.1182/blood-2013-08-523860.
19. Ложкин А.П., Пешкова А.Д., Атауллаханов Ф.И., Литвинов Р.И. Разработка нового метода изучения контракции (ретракции) сгустка крови. *Гены и клетки*. 2014;9(3):99-104.
20. Barber PA, Demchuk AM, Zhang J, Buchan AM. Validity and reliability of a quantitative computed tomography score in predicting outcome of hyperacute stroke before thrombolytic therapy. *Lancet Elsevier*. 2000;355(9216):1670-1674.
21. McTaggart RA, Jovin TG, Lansberg MG, Mlynash M, Jayaraman MV, Choudhri OA, Inoue M, Marks MP, Albers GW. Alberta stroke program early computed tomographic scoring performance in a series of patients undergoing computed tomography and MRI: reader agreement, modality agreement, and outcome prediction. *Stroke*. 2015;46(2):407-412. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.006564.
22. Дубров А.М., Трошин Л.И., Мхитарян В.С. *Многомерные статистические методы*. М.: Финансы и статистика; 2011.
23. Purucker JC, Herrmann O, Lutsch JK, Zorn M, Schwaninger M, Bruckner T, Auffarth GU, Veltkamp R. Serum protein S100 β is a diagnostic biomarker for distinguishing posterior circulation stroke from vertigo of non-vascular causes. *Eur Neurol*. 2014;72(5-6):278-284. doi: 10.1159/000363569.
24. Грицай Н.Н., Мищенко В.П., Пинчук В.А. Система гемостаза при нарушении мозгового кровообращения. *Международный неврологический журнал*. 2006;5(9).
25. Tutwiler V, Litvinov RI, Lozhkin AP, Peshkova AD, Lebedeva T, Ataulakhonov FI, Spiller KL, Cines DB, Weisel JW. Kinetics and mechanics of clot contraction are governed by the molecular and cellular composition of the blood. *Blood*. 2016;127(1):149-159. doi: 10.1182/blood-2015-05-647560.
26. Зубаиров Д.М. *Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования*. ФЭН. 2000.
27. Zabczyk M, Sadowski M, Zalewski J, Undas A. Polyhedrocytes in intracoronary thrombi from patients with ST-elevation myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2015;7:179:186. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.10.004.
28. Kristensen B, Malm J, Nilsson TK, Hultdin J, Carlberg B, Olsson T. Increased fibrinogen levels and acquired hypofibrinolysis in young adults with ischemic stroke. *Stroke*. 1998;29(11):2261-2267. doi: 10.1161/01.STR.29.11.2261.