



УКРАЇНА

(19) UA (11) 45436 (13) U
(51) МПК (2009)
A61B 5/02

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ ГЕМОРАГІЧНИХ УСКЛАДНЕНЬ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ДИСФУНКЦІЄЮ ТРОМБОЦИТІВ

1

(21) u200905647

(22) 02.06.2009

(24) 10.11.2009

(46) 10.11.2009, Бюл.№ 21, 2009 р.

(72) ВОЗНЮК ВАЛЕРІЙ ПЕТРОВИЧ, ЮЩЕНКО ПЕТРО ВАСИЛЬОВИЧ, ТОМІЛІН ВОЛОДИМИР ВОЛОДИМИРОВИЧ, КОСТИЛЕВ МИХАЙЛО ВОЛОДИМИРОВИЧ, ЄГОРОВА ОЛЬГА МИКОЛАЇВНА
(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ГЕМАТОЛОГІЇ ТА ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ"

(57) Спосіб прогнозування розвитку геморагічних ускладнень у пацієнтів із дисфункцією тромбоцитів, що включає проведення доплерографічного дослідження судинорухових реакцій плечової ар-

2

терії (ПА), який **відрізняється** тим, що визначають одночасно індекс ендотеліальної вазодилатації (IEB) та індекс механочутливості ендотелію (IME) за формулами: $IEB = \Delta D / D_0$, де ΔD - різниця діаметра ПА при реактивній гіперемії і в стані спокою, D_0 - діаметр ПА у спокої, $IME = (\Delta D / D_0) / (\Delta t / t_0)$, де ΔD - різниця діаметра ПА при реактивній гіперемії і в стані спокою, D_0 - діаметр ПА у спокої, Δt - різниця між напруженням зсуву до та після проведення проби з реактивною гіперемією, t_0 - початкове напруження зсуву, і при одночасному зменшенні IEB нижче 0,1 і збільшенні IME вище 0,7 прогнозують високий ризик розвитку геморагічних ускладнень у хворих із тромбоцитопатією.

Спосіб прогнозування розвитку геморагічних ускладнень має відношення до медицини і дає змогу на основі визначення ступеня дисфункції ендотелію прогнозувати виникнення кровотеч у пацієнтів із тромбоцитопатією.

Дисфункція тромбоцитів (тромбоцитопатія) - найбільш розповсюджене геморагічне захворювання. Біля 70% усіх тромбоцитопатій становлять спадкові форми. Клінічними проявами тромбоцитопатій є кровотечі, при цьому переважає слизово-шкірний геморагічний синдром. Важкі форми захворювання супроводжуються масивними кровотечами (носові, шлунково-кишкові, церебральні кровотечі, у жінок також і маткові кровотечі, менометрорагії).

В організмі людини функціонування тромбоцитів відбувається у тісній взаємодії із стінкою кровоносної судини, насамперед із клітинами ендотелію. Гемостатично активні речовини, які синтезуються ендотеліоцитами, регулюють функціональний стан тромбоцитів, їх здатність взаємодіяти як між собою, так і з клітинами ендотелію та адгезивними протеїнами, зокрема фактором Віллебранда. Ендотелій, тромбоцити та протеїни адгезії є компонентами первинної ланки гемостазу, який належить суттєва роль у підтримці балансу гемостазу в організмі людини.

Одним із найбільш важливих регуляторів функціонального стану клітин ендотелію є течія крові. Механічна дія потоку крові на клітини ендотелію спричиняє активацію механочутливих рецепторів на їх поверхні та призводить до низки біохімічних процесів, кінцевим результатом яких є синтез антикоагулянтів або прокоагулянтів. Здатність клітин ендотелію реагувати на механічну дію крові та спричиняти дилатацію кровоносної судини обумовлена механочутливістю ендотеліоцитів, тобто їх спроможністю сприймати напруження зсуву (притискуючу механічну дію потоку крові на поверхню ендотелію). Збільшення напруження зсуву у фізіологічних умовах призводить до дилатації кровоносної судини. Така дилатація має назву ендотелію-залежної дилатації (ЕЗД) [1].

Депресія або активація ендотеліальної складової первинного гемостазу призводить до зміни функціонального стану тромбоцитів, та може перешкодити розвитку геморагічних ускладнень на тлі вже існуючого порушення адгезивно-агрегаційних властивостей тромбоцитів.

Відомий спосіб оцінки ризику виникнення кровотеч за допомогою розрахунку відповідного індексу [2]. При обчислюванні цього індексу враховуються такі дані як вік пацієнта, наявність в анамнезі кровотеч та будь-якої іншої із наступних чотирьох ознак: перенесений інфаркт міокарду,

UA (19) 45436 (13) U

наявність анемії, діабету або ниркової недостатності. В залежності від поєднання цих ознак виділяються групи ризику розвитку кровотеч. Недоліком цього способу є відсутність лабораторної оцінки стану системи гемостазу і визначення ризику розвитку кровотеч переважно за анамнестичними даними.

Також запатентований "Спосіб визначення геморагічних діатезів мікроциркуляторного типу в латентному періоді" [3], який включає визначення агрегації тромбоцитів до аденозиндифосфату (АДФ) і тромбіну, а також концентрації фібронектину в плазмі крові після осадження агрегатів тромбоцитів. При нормальній агрегаційній відповіді на АДФ і при відсутності відповіді на тромбін і концентрації фібронектину вище ніж 500мкг/мл діагностують латентний період геморагічного діатезу. Недоліком цього способу є недостатня кількість тестів, які використовуються для оцінки стану тромбоцитів. АДФ-агрегація тромбоцитів відображає тільки стан синтезу гемостатично активних речовин у клітинах, а, наприклад, колаген-агрегація - їх секрецію. Тобто, для адекватного визначення гіпокоагуляції мікроциркуляторного типу потрібно використання більшої кількості фізіологічних індукторів агрегації тромбоцитів, зокрема колагену та адреналіну.

Відомий "Спосіб визначення груп ризику на розвиток геморагічних ускладнень у пологах при скринінговому гемостазіологічному дослідженні вагітних жінок у першому триместрі вагітності" [4], який включає вивчення показників гемостазіограми (тромбіновий час, фібриноген) із наступним визначенням дискримінантних функцій Д1 і Д2 за формулами. При значенні $D1 < 0$ і $D2 > -0,3$ прогнозують розвиток патологічної крововтрати. Вадою цього способу є недостатня кількість тестів, які використовуються для прогнозування кровотечі. Тромбіновий час і фібриноген відображають стан коагуляційної ланки гемостазу, без уваги залишаються система фібринолізу та судинно-тромбоцитарна ланка гемостатичної системи.

Найбільш близьким до способу, що заявляється є "Спосіб визначення функціонального стану системи гемостазу" [5], який включає взяття крові до та після створення короткотермінової ішемії з наступним введенням у проби індуктору агрегації. Потім визначають параметр, який характеризує агрегацію до та після створення локальної ішемії, і за порівнянням отриманих результатів роблять висновок про функціональний стан системи гемостазу. Незважаючи на перевагу цього способу – простота виконання та відсутність необхідності використання спеціальних аналізаторів, прототип має наступні недоліки: створення локальної ішемії призводить до активації клітин ендотелію з наступним збільшенням секреції фізіологічних антикоагулянтів та зміною функціонального стану тромбоцитів. Це зменшує об'єктивність запропонованого способу. Також, досить важко, лише за ступенем агрегації тромбоцитів, робити висновок про функціональний стан всієї системи гемостазу.

Завданням способу, що заявляється, є визначення формування стійкої гіпокоагуляції, що передувє виникненню геморагічних ускладнень, у паціє-

нтів із дисфункцією тромбоцитів, на основі дослідження механочутливості ендотелію та ендотелій-опосередкованої вазодилатації.

Завдання вирішується тим, що одночасно визначають індекси залежної від ендотелію дилатації плечової артерії (ПА) та чутливість клітин ендотелію до напруження зсуву. Це досягається механічним стимулюванням ендотелію підвищеною течією крові, яке оцінюється за зміною діаметра ПА за допомогою ультразвуку високої щільності.

Судинорухову функцію ендотелію оцінюють на ультразвуковому апараті, що має датчик із фазованою решіткою із частотою 7,0МГц. Ліву ПА визначають у поздовжньому напрямку на 2-5см вище ліктьового згину. Діаметр ПА вимірюють на фіксованій відстані від анатомічних орієнтирів. Вимірювання проводять лінійним методом [6].

Для отримання підвищеної течії крові на верхню третину плеча накладають манжету сфігмоманометру та доводять тиск у манжеті до рівня, що перевищує систолічний артеріальний тиск на 50мм.рт.ст. Тривалість компресії складає 5 хвилин. Потім швидко випускають повітря із манжети (декомпресія), що призводить до збільшення течії крові і, тобто, до зміни діаметру ПА. У ході виконання цієї проби діаметр ПА та швидкість течії крові оцінюють у стані спокою, зразу після випуску повітря із манжети та на протязі 60 секунд (із 15 секундними інтервалами). Реакцією на збільшення течії крові внаслідок реактивної гіперемії є ЕЗД, при цьому індекс ендотеліальної вазодилатації (ІЕВ) розраховується як різниця діаметру ПА при реактивній гіперемії і в стані спокою (ΔD), віднесена до діаметру у спокої (D_0) за формулою:

$$IEB = \Delta D / D_0.$$

Нормальним вважається ІЕВ, який дорівнює 0,1 і більше. Менша ступінь дилатації вважається патологічною реакцією [7].

Індекс механочутливості ендотелію (ІМЕ), або чутливість ендотелію до напруження зсуву розраховується за формулою:

$$IME = (\Delta D / D_0) / (\Delta t / t_0),$$

де ΔD - різниця діаметру ПА при реактивній гіперемії і в стані спокою, D_0 - діаметр ПА у стані спокою, Δt - різниця між t після проведення проби із реактивною гіперемією і початковим напруженням зсуву (t_0).

Напруження зсуву на ендотелії розраховується при проведенні доплерографічного дослідження судинорухових реакцій ПА за формулою:

$$t = 4\eta V_{ps} / D,$$

де η - в'язкість крові, V_{ps} - максимальна систолічна швидкість кровотоку, D - діаметр ПА.

При значеннях $IME = 0,5 \pm 0,2$ спостерігається баланс функціональної активності ендотелію, зменшення або збільшення індексу свідчить про дисфункцію ендотелію.

Формування стійкої гіпокоагуляції, котра передувє розвитку геморагічних ускладнень, і в основі якої лежать дисфункціональні розлади клітин ендотелію, прогнозується при одночасному зменшенні ІЕВ нижче 0,1 і збільшенні ІМЕ - вище ніж 0,7.

Як конкретні приклади застосування способу приводимо наступні клінічні випадки.

Приклад 1

Хворий О-нич, 1967 року народження, звернувся до відділення хірургічної гематології та гемостазіології ДУ "Інститут гематології та трансфузіології АМН України" по направленню з однієї із районних поліклінік м. Києва із скаргами на темне забарвлення сечі. В анамнезі - періодичні носові, шлункові кровотечі. При амбулаторному обстеженні встановлений діагноз: "Дизагрегаційна тромбоцитопатія". Зміни в показниках агрегатограми відповідали легкій формі захворювання: агрегація тромбоцитів до адреналіну становила 29,2% (нормативний показник склав 35-55,0%), до АДФ - 31,7% (фізіологічний показник коливався в межах від 40,0% до 60,0%), агрегація по відношенню до колагену - 32,4% (норма: 40,0-60,0%), до арахідонової кислоти - 35,1% (фізіологічний показник - 40,0-60,0%).

Після проведення доплерографічних досліджень судинорухових реакцій ПА встановлено, що ІЕВ склав 0,023, ІМЕ - 0,74 (фігура 1). Зроблено висновок, що у пацієнта має місце стійка, довготривала гіпокоагуляція на тлі дисфункції ендотелію. Рекомендовано проведення гемостатичної терапії із застосуванням антифібринолітичних та неспецифічних гемостатичних препаратів.

Через деякий час з'ясувалось, що пацієнт із суб'єктивних причин (почував себе добре, сеча набула нормального кольору) проігнорував призначення. Через 6 діб після первинного звернення пацієнт поступив у відділення з ознаками ниркової та шлунково-кишкової кровотечі.

Таким чином, запропонований спосіб дозволив виявити стійку депресію системи гемостазу ще на етапі відсутності характерних ознак розвитку геморагічного синдрому і відповідних лабораторних змін.

Приклад 2

Пацієнтка С-цюк, 1987 року народження, знаходилась на обстеженні та лікуванні у відділенні хірургічної гематології та гемостазіології ДУ "ІГТ АМНУ" (№ історії хвороби 2028) з 2.07.2008 року з ознаками носової кровотечі. В анамнезі у хворої спостерігались менометрорагії, кровотеча з лунки вилученого зуба. У результаті обстеження встановлений діагноз: "Дизагрегаційна тромбоцитопатія, легка форма" (агрегація тромбоцитів до адреналіну та АДФ становила відповідно 18,6% та 33,8%, до колагену та арахідонової кислоти - 29,4% і 30,7, відповідно).

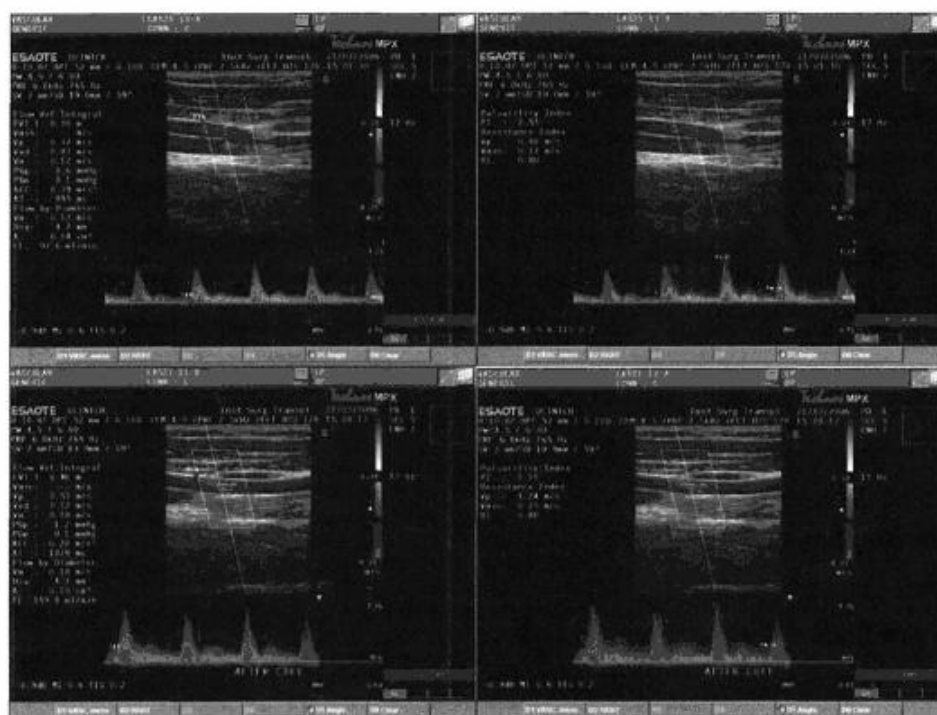
Проведення дослідження ЕЗД та механочутливості ендотелію дозволило встановити, що ІЕВ

склав 0,103, а ІМЕ - 0,309 (фігура 2). Тобто, мали місце нормальна ЕЗД і збереження механочутливих властивостей ендотелію. Таким чином, у пацієнтки не була встановлена наявність стійкої, ендотелій-опосередкованої гіпокоагуляції, лікування було обмежено локальною гемостатичною терапією. Хвора виписана із стаціонару в задовільному стані. На протязі місяця після виписки із лікарні почувала себе добре. 03.08.2008 року проведено контрольне дослідження агрегатограми, при цьому ознак значної депресії функціональних властивостей тромбоцитів не було знайдено.

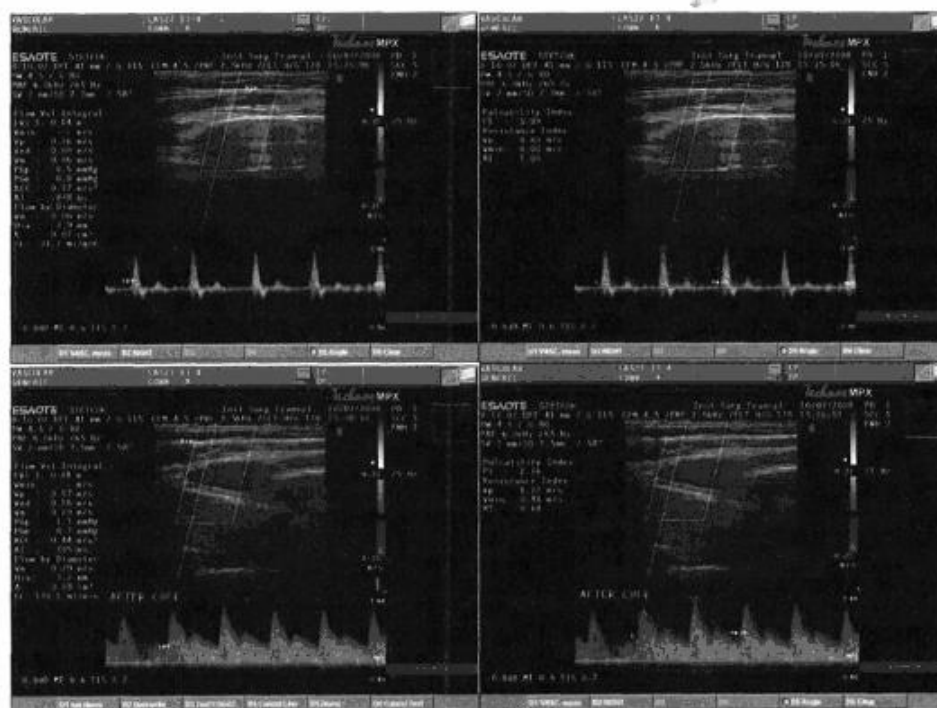
Застосування запропонованого способу дозволило оцінити функціональний стан клітин ендотелію і зробити висновок про відсутність стійких гіпокоагуляційних зрушень. Це підтверджено результатами контрольного дослідження зсідання крові та відсутністю клінічних ознак геморагічного синдрому.

Джерела інформації:

1. Pyke K., Tschakovsky M. The relationship between shear stress and flow-mediated dilatation: implication for the assessment of endothelial function //J. Physiol. - 2005. - Vol.568(Pt2). - P.357-369.
2. Beyth R.J., Quinn L.M., Landefeld C.S. Prospective evaluative of an index for predicting the risk of major bleeding in outpatients treated with warfarin. AmJ.Med. - 1998. - Vol.105. - P.91-99.
3. Патент Російської Федерації №2117297 С1, МПК G01N33/86, з. №96106251, заявл. 05.10.96р., опубл. 15.02.99р. Спосіб визначення геморагічних діатезів мікроциркуляторного типу в латентному періоді.
4. Патент Російської Федерації №2126972, МПК G01N33/86, з. №97120947, заявл. 07.10.97р., опубл. 10.02.00р. Спосіб визначення груп ризику на розвиток геморагічних ускладнень у пологах, при скринінговому гемостазіологічному дослідженні вагітних жінок у першому триместрі вагітності.
5. Патент Російської Федерації №2138054 С1, МПК G01N33/86, з. №97112428, заявл. 25.04.97р., опубл. 20.02.00р. Спосіб визначення функціонального стану системи гемостазу.
6. Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk atherosclerosis //Lancet. - 1992. - 340. - P.1111-1115.
7. Балахонова Т.В. Ультразвуковое исследование артерий у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Автореф. дисс. д.м.н. - Москва, 2002. - 39с.



Фиг. 1



Фиг. 2