

Ovlivnění fibrinolytického systému pomocí kontinuálního dopplerovského monitoringu u zdravých dobrovolníků

Changes in Fibrinolytic System after Continual Doppler Monitoring in Healthy Volunteers

Souhrn

Úvod: In vitro a in vivo studie prokázaly, že ultrazvukové vlnění s frekvencí mezi 20 kHz a 2 MHz urychluje lýzu trombu navozenou trombolytiky. Cílem studie bylo prokázat, že aplikace kontinuálního 60minutového ultrazvukového monitoringu (sono-trombolýza, ST) pomocí transkraniální 1–4MHz sondy vede k aktivaci fibrinolytického systému člověka, a to jak při monitorování a. cerebri media, tak a. radialis. **Materiál a metodika:** Do studie bylo zařazeno 30 dobrovolníků, u kterých byla provedena ST a. cerebri media (ST-ACM), ST a. radialis (ST-AR) a standardní neurosonologické vyšetření (SNV) ve dvoutýdenních intervalech. Před ST-ACM, ST-AR a SNV, po 60 min a 24 hod byly vyšetřeny následující parametry: tkáňový aktivátor plazminogenu (tPA), PAI-1 antigen, α-2-antiplazmin (AP), plazminogen (PG), počet trombocytů, hladiny fibrinogenu, D-dimerů, fibrin degradačních produktů (FDP), fibrinových monomerů (FM), aPTT, protrombinový čas, čas euglobulinové fibrinolýzy, osmolalita, homocystein a lipoprotein (a). Neurologické a fyzikální vyšetření bylo provedeno před ST-ACM, ST-AR a SNV, po 60 min, 24 hod, 30 a 90 dnech. Byly zaznamenány všechny nežádoucí účinky. MR vyšetření mozku bylo u všech dobrovolníků realizováno před zahájením ST-ACM a 24 ± 4 hod po ukončení monitoringu. Ke statistickému zhodnocení změny mezi hodnotami sledovaných parameterů byly použity párový Studentův t-test, neparametrický Wilcoxonův signed rank test a Friedmanův ANOVA test. **Výsledky:** Po ST-ACM došlo k signifikantnímu snížení PAI-1 antigenu o 26,6 %, AP aktivity o 5,1 %, PG aktivity o 4,3 % a tPA antigenu o 7,1 %. Po ST-AR došlo k signifikantnímu snížení PAI-1 antigenu o 16,8 %, AP aktivity o 3,3 % a PG aktivity o 6,7 %. Po SNV nedošlo k signifikantní změně v žádném ze sledovaných faktorů. MR vyšetření mozku neprokázalo u žádného z dobrovolníků jakékoli detekovatelné změny oproti vstupnímu vyšetření. **Závěr:** Transkraniální dopplerovské monitorování průtoku mozkovou tepnou a tepnou horní končetiny pomocí diagnostické duplexní transkraniální sondy vede k přímému ovlivnění fibrinolytického systému se snížením hladin inhibitorů fibrinolýzy.

D. Školoudík^{1,3}, T. Fadrná¹,
M. Bar¹, O. Zapletalová¹,
O. Zapletal², J. Blatný²,
K. Langová³, D. Šaňák⁴,
M. Král⁴, R. Herzig⁴,
P. Kaňovský⁴

¹Neurologická klinika FN Ostrava

²Oddělení klinické hematologie,
Dětská nemocnice FN Brno

³Iktové centrum, Neurologická
klinika LF UP a FN Olomouc

⁴Oddělení biometrie, Ústav lékařské
biofyziky LF UP v Olomouci



doc. MUDr. David
Školoudík, Ph.D.
Neurologická klinika FN Ostrava
Tř. 17. listopadu 1790
708 52 Ostrava-Poruba
e-mail: skoloudik@email.cz

Přijato k recenzi: 5. 2. 2009

Přijato do tisku: 2. 6. 2009

Klíčová slova

ultrazvuk – léčba – fibrinolytický systém
– transkraniální Doppler – transkraniální
sonda

Key words

ultrasound – treatment – fibrinolytic
system – transcranial Doppler – trans-
cranial probe

Poděkování: Studie byla podpořena grantem Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví České republiky číslo NR/9487-3/2007 a částečně podpořena grantem Ministerstva školství České republiky číslo MSM 6198959216.

Abstract

Background: In vitro and in vivo studies have demonstrated that ultrasonic waves at a frequency of 20 kHz–2 MHz enhance the lysis of thrombus brought on by thrombolytics. The aim of this study was to demonstrate that the application of continual 60-minute ultrasonic monitoring (sono-thrombolysis, ST) using a transcranial 1–4-MHz probe brings on activation of a patient's fibrinolytic system when monitoring both middle cerebral artery (MCA) and radial artery (RA). **Material and methods:** Thirty volunteers participated in the study and underwent ST of MCA (ST-MCA), ST of RA (ST-RA) and a standard neurosonological examination (SNE) at two-week intervals. The following parameters were examined prior to, 60 minutes and 24 hours after the ST-ACM, ST-AR and SNE: tissue plasminogen activator (tPA), PAI-1 antigen, α -2-antiplasmin (AP), plasminogen (PG), thrombocyte count, fibrinogen level, D-dimers, fibrin degradation products (FdP), fibrin monomers (FM), aPTT, prothrombin time, time of euglobulin lysis, osmolality, homocysteine and lipoprotein (a). Neurological and physical examination was done prior to, 60 minutes, 24 hours, 30 days and 90 days after ST-MCA, ST-RA and SNE. All adverse effects were recorded. An MR examination of the brain was done on all volunteers before the ST-MCA was started as well as 24 ± 4 hours after the end of monitoring. The paired Student's t-test, a non-parametric Wilcoxon Signed rank-Test and Friedman's ANOVA test were used to execute statistical assessment of the changes in values of the monitored parameters. **Results:** Following the ST-ACM there was a significant decrease in PAI-1 antigen of 26.6%, in AP activity of 5.1%, in PG activity of 4.3% and in tPA antigen of 7.1%. Following the ST-AR there was a significant decrease in PAI-1 of 16.8%, in AP activity of 3.3%, and in PG activity of 6.7%. Following the SNe there were no significant changes in any of the monitored parameters. The MR examination of the brain did not demonstrate any detectable changes compared to the initial examination in any of the volunteers. **Conclusion:** Transcranial Doppler monitoring of the flow capacity of brain and upper limb vessels by way of a diagnostic duplex transcranial probe leads to a direct effect of the fibrinolytic system accompanied by a decrease in the level of fibrinolysis inhibitors.

Úvod

Od 70. let 20. století prokázaly pokusy in vitro a in vivo na zvířecích modelech, že ultrazvukové (UZ) vlnění o frekvenci 20 kHz až 2 MHz urychluje při aplikaci trombolytika lýzu trombu [1]. Z experimentálních výsledků vyplývá, že nižší frekvence mají především mechanický efekt, u vyšších frekvencí mimo jiné hraje roli pravděpodobně také aktivace fibrinolytického systému [2].

V roce 2000 byla publikována první práce [3], která poukázala na možný efekt kontinuálního transkraniálního dopplero-vského (TCD) monitoringu s použitím diagnostické 2MHz TCD sondy na urychlení rekanalizace mozkové tepny a zlepšení klinického stavu u pacientů s akutním

mozkovým infarktem léčených systémovou trombolýzou. Tento efekt prokázaly také další studie a v současnosti se tento terapeutický postup nazývá sono-trombolýza (ST) [4–6]. Výsledky menších studií ukázaly také pravděpodobný efekt samotného transkraniálního monitoringu s použitím diagnostické transkraniální duplexní sondy na urychlení rekanalizace mozkové tepny u pacientů, kteří nemohli být léčeni trombolýzou [7,8].

V současnosti není plně objasněna podstata tohoto terapeutického efektu. Předpokládá se, že vlivem aplikace kontinuálního ultrazvukového vlnění dochází ke kavitaci a rozrušení struktury trombembolu s urychlením průniku intravenózně

podaného trombolytika a endogenních fibrinolytických enzymů do nitra trombu s urychlením jeho lýzy [9]. Další studie naznačily, že by zde mohla hrát svou úlohu i přímá aktivace fibrinolytických enzymů a irritace cévního endotelu ultrazvukovým vlněním [10].

Cílem naší práce bylo potvrdit výsledky pilotní studie, které ukázaly, že po provedení ST – kontinuálního 60minutového ultrazvukového monitoringu pomocí diagnostické transkraniální 1–4MHz duplexní sondy s maximální energií – dochází ke změnám ve fibrinolytickém systému člověka, a to jak při monitorování a. cerebri media, tak a. radialis.

Materiál a metodika

Do studie bylo zařazeno v průběhu 12 měsíců 30 zdravých dobrovolníků, a to po 15 subjektech ve dvou neurosonologických laboratořích (Olomouc, Ostrava). Všichni dobrovolníci splnili veškerá vstupní a vyloučující kritéria (tab. 1). U všech zařazených subjektů byla provedena ST a. cerebri media (ACM), ST a. radialis (AR) a standardní neurosonologické vyšetření (SNV) ve dvoutýdenních intervalech.

Provedení sono-trombolýzy

ST byla provedena pomocí standardní diagnostické transkraniální sondy s frekvencí 1–3, resp. 2–4 MHz (P1–3, Philips HD 11, Bothel, WA, USA a P4–2, Philips HDI 5000, Bothel, WA, USA), a to celkem dvakrát. Jako první byla u každého subjektu provedena ST ACM, při které byl 60 min prováděn kontinuální monitoring střední části kmene ACM. Vzorkovací objem (SV = 10 mm) byl umístěn do

Tab. 1. Vstupní a vyloučující kritéria pro dobrovolníky zařazené do studie.

Vstupní kritéria

- dostatečné kostní okno se zobrazitelnými mozkovými tepnami pomocí transkraniální barevné duplexní sonografie
- věk 50–70 let
- podpis informovaného souhlasu

Vyloučující kritéria

- nefropatie s hladinou kreatininu > 150 $\mu\text{mol/l}$ nebo clearance kreatininu < 30 ml/hod
- hepatopatie s elevací jaterních enzymů nebo bilirubinu nad dvojnásobek laboratorní normy
- plánovaná léčba trombolytiky, kumariny nebo heparinem během 24 hod od zařazení do studie
- sonograficky detekovaná stenóza karotické, vertebrální nebo intrakraniální tepny
- v anamnéze:
 - ischemická cévní mozková příhoda nebo tranzitorní ischemická ataka
 - srdeční infarkt
 - aterosklerotické postižení periferních tepen
 - cévní operace

Tab. 2. Vyšetřované laboratorní testy s normálními hodnotami sledovaných parametrů.

Test	Použitá metoda	Normální laboratorní hodnoty
Koagulační parametry	aPTT	25–35 s
	protrombinový čas	10–17 s
	fibrinogen	2,0–4,0 g/l
	D-dimery	0–400 ng/ml
	euglobulinová fibrinolýza	> 180 minut
	tPA antigen	< 10 ng/ml
	fibrin degradační produkty	< 5 µg/ml
	fibrinové monomery	< 5 µg/ml
	α-2-antiplazmin	80–130 %
	plazminogen	70–150 %
Další sledované faktory	PAI-1 antigen	< 15 ng/ml
	homocystein	3,0–15,0 µmol/l
	lipoprotein (a)	0–0,3 g/l
Krevní obraz	osmolalita	275–300 mmol/kg
	trombocyty	impedanční metoda
		130–400 × 10 ⁹ /l

aPTT: aktivovaný parciální tromboplastinový čas, ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, PAI-1: inhibitor aktivátoru plazminogenu-1, tPA: tkáňový aktivátor plazminogenu

oblasti kmene ACM v hloubce 55 mm. Energie dopplerovského modu byla nastavena na maximální diagnostickou hodnotu (mechanický index [MI] = 1,4). Po dvou týdnech ST ACM byla provedena ST AR v oblasti proximálního předloktí (MI = 1,4 a SV = 10 mm).

Provedení standardního neurosonologického vyšetření

SNV bylo provedeno u všech subjektů dva týdny po ST AR. Během 30 min bylo dle standardního protokolu vyšetřeno v B obrazu, barevném modu a dopplerovském modu celkem 20 segmentů krčních a intrakraniálních tepen oboustranně – a. carotis communis, a. carotis interna, a. carotis externa, a. vertebralis, a. cerebri media, a. cerebri anterior, a. cerebri posterior. Na rozdíl od ST žádný z tepenných segmentů nebyl při SNV kontinuálně insonován po dobu více než 1 minuty.

Odběry, neurologické vyšetření a MR vyšetření mozku

Před ST ACM, ST AR a SNV (1. vizita), po 60 min (2. vizita) a 24 hod (3. vizita) bylo odebráno 20 ml žilní krve z v. cubiti. Při ST AR byla krev odebírána z kontralaterální končetiny k monitorované AR.

V tab. 2 jsou uvedeny vyšetřované parametry fibrinolytického systému a sle-

dované bezpečnostní parametry. Laboratorní vyšetření krevního obrazu, homocysteinu a lipoproteinu (a) bylo provedeno do 20 min od krevního odběru. Všechny vzorky odeslané ke koagulačnímu vyšetření byly ihned po odběru centrifugovány (10 min při 3 000 otáčkách a teplotě 4 °C). Sérum z každého vzorku bylo uchováváno při –70 °C a laboratorně vyšetřeno do tří měsíců od odběru.

Neurologické a fyzikální vyšetření bylo provedeno před ST ACM, ST AR a SNV, po 60 min, 24 hod, 30 a 90 dnech. Všechny nežádoucí účinky byly zaznamenány včetně změny v neurologickém a fyzikálním vyšetření a nemocí vyžadujících hospitalizaci.

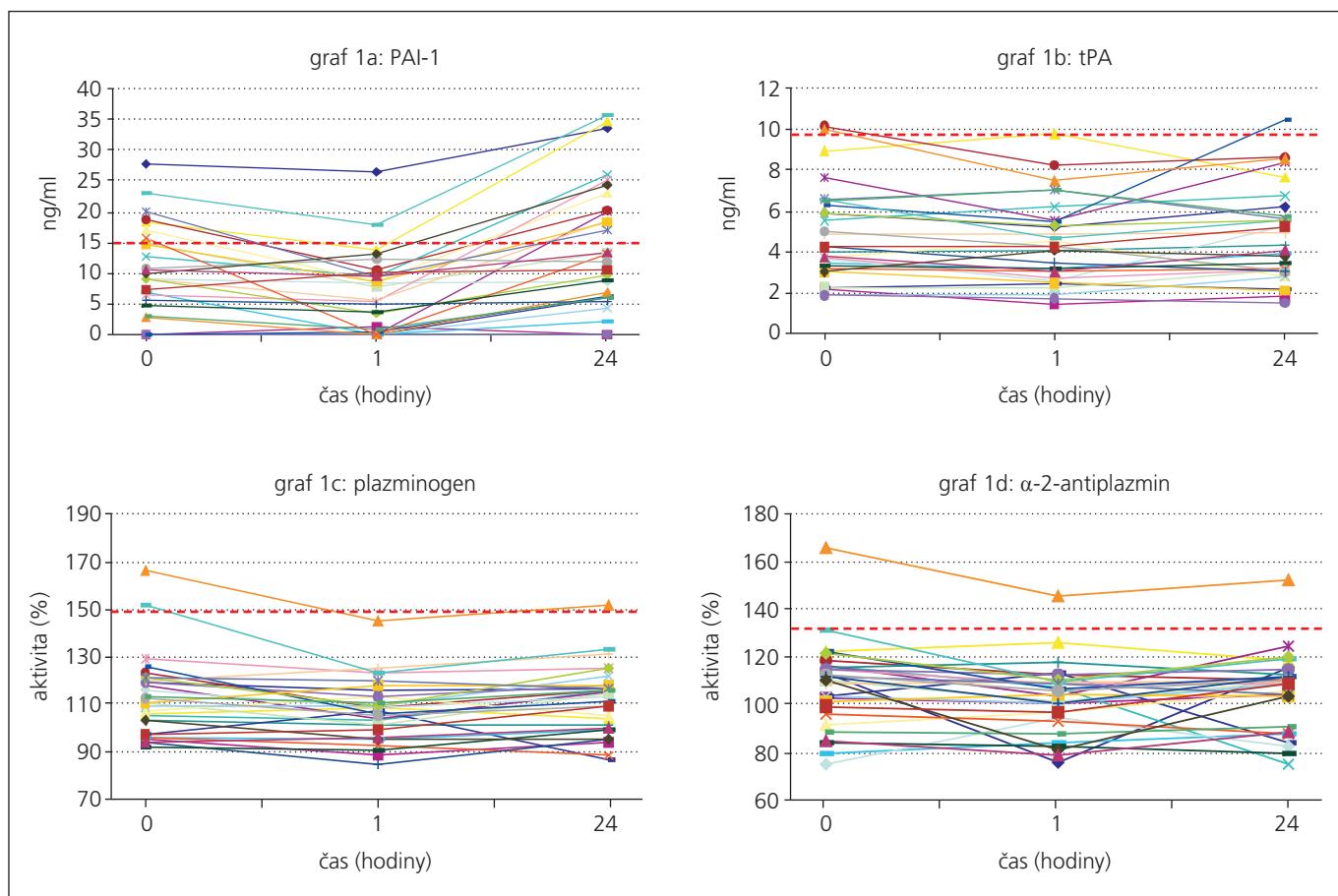
MR vyšetření mozku bylo u všech dobrovolníků provedeno maximálně 24 hod před zahájením ST ACM a kontrolní MR mozku 24 ± 4 hod po ukončení monitoringu. Vyšetřovací protokol obsahoval čtyři sekvence: 1. lokalizér; 2. T2TSE; 3. FLAIR; 4. difuzní vážený obraz (DWI). Byly hodnoceny jakékoli změny MR obrazu, především krvácení, ischemická ložiska a edém.

Studie byla schválena lokálními etickými komisemi FN Ostrava, FN Olomouc a FN Brno. Každý dobrovolník podepsal informovaný souhlas před zařazením do studie. Studie byla uskutečněna shodě s Helsinskou deklarací z roku 1975 a jejími revizemi z let 1983 a 2004.

Statistika

Primárním cílem studie bylo prokázat snížení hladiny inhibitorů fibrinolýzy: inhibitoru aktivátoru plazminogenu-1 (PAI-1) antigenu, α-2-antiplazminu a aktivity plazminogenu a změnu hladiny tkáňového aktivátoru plazminogenu (tPA) po 60 min ST. Sekundární cíl bylo sledovat změny v počtu trombocytů, hladinách fibrinogenu, D-dimerů, fibrin degradačních produktů (FDP), fibrinových monomerů (FM), aPTT, protrombinového času (PT), euglobulinové fibrinolýzy, osmolality a homocysteinu a lipoproteinu (a) jako markerů poškození endotelu.

Ke statistickému zhodnocení změny mezi hodnotami sledovaných parametrů naměřených při všech třech vizitách byly použity párový Studentův t-test pro parametry s normálním rozložením hodnot (trombocyty, protrombinový čas, fibrinogen, APTT, tPA antigen, plazminogen, α-2-antiplazmin, homocystein a osmolalita) a neparametrický Wilcoxonův signed rank test pro parametry s extrémními hodnotami (PAI-1 antigen, fibrin degradační produkty, fibrinové monomery, D-dimery, euglobulinová fibrinolýza a lipoprotein (a)) a Friedmanův ANOVA test. Statistické hodnocení bylo provedeno pomocí programu SPSS verze 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Hodnoty s normálním rozložením jsou uvedeny ve formě průměru ± standardní od-



Graf 1. a–d. Změna hladiny inhibitoru aktivátoru plazminogenu-1 (PAI-1, graf 1a), tkáňového aktivátoru plazminogenu (tPA, graf 1b), aktivity plazminogenu (graf 1c) a aktivity alfa-2-antiplazminu (graf 1d) po sono-trombolýze a. cerebri media u dobrovolníků (horní hranice laboratorní normy znázorněna červenou čárou).

chylky; data s extrémními hodnotami jsou uvedena ve formě mediánu a mezikvartilového rozmezí (interquartile range). Statistická signifikance byla definována hodnotou $p < 0,05$. Následně byla provedena také korekce dle Boferroňho pro měření čtyř parametrů.

Výsledky

Do studie bylo zařazeno 30 dobrovolníků, 15 mužů a 15 žen ve věku 50–70 let (průměr $56,1 \pm 4,5$ let).

Po 60 min ST ACM došlo k signifikantnímu snížení hladiny PAI-1 antigenu průměrně o 26,6 % ($p = 0,005$), aktivity α-2-antiplazminu o 5,1 % ($p = 0,018$), plazminogenu o 4,3 % ($p = 0,005$) a hraničnímu snížení hladiny tkáňového aktivátoru plazminogenu (tPA) o 7,1 % ($p = 0,05$) s normalizací hladin do 24 hod (tab. 3, grafy 1a–d). Po Bonferroniho korekci však byly signifikantní změny jen hladiny PAI-1 ($p = 0,029$) a aktivity plazminogenu ($p = 0,03$). Také Friedmanův

test prokázal signifikantní změny hladiny PAI-1 ($p < 0,0001$) i aktivity plazminogenu ($p = 0,001$) v prvních 24 hod.

Po 60 min ST AR došlo k signifikantnímu snížení jen hladiny PAI-1 antigenu, a to průměrně o 16,8 % ($p = 0,043$), α-2-antiplazminu o 3,3 % ($p = 0,009$) a hladiny aktivity plazminogenu o 6,7 % ($p = 0,02$) s normalizací hladin do 24 hod (tab. 3). Po Boferroňho korekci byly signifikantní jen změny aktivity α-2-antiplazminu ($p = 0,05$). Friedmanův test prokázal signifikantní změny aktivity α-2-antiplazminu ($p = 0,026$) a aktivity plazminogenu ($p = 0,034$) v prvních 24 hod.

ST ACM ani ST RA nevedly k signifikantní změně v počtu trombocytů, hladinách fibrinogenu, D-dimerů, fibrin FDP, FM, aPTT, PT, v čase euglobulinové fibrinolýzy, hladině homocysteingu a lipoproteinu (a): $p > 0,05$ (tab. 4, 5).

Po SNV nedošlo k signifikantní změně v žádném ze sledovaných faktorů ani po 60 min, ani po 24 hod: $p > 0,05$ (tab. 4, 5).

Průměrná změna osmolality mezi prvním a druhým vyšetřením a druhým a třetím vyšetřením byla jen 0,7 mmol/kg (0,2 %), resp. 1,6 mmol/kg (0,5 %). Ve všech případech byla změna nesignifikantní ($p > 0,05$; tab. 5).

MR vyšetření mozku neprokázalo u žádného z dobrovolníků žádné detekovatelné změny oproti vstupnímu vyšetření po ST ACM. Nebyly zaznamenány žádné klinické nežádoucí účinky po ST ACM ani AR.

Diskuze

Výsledky studie ukázaly, že transkraniální dopplerovské monitorování průtoku mozkovou tepnou a periferní tepnou horní končetiny (sono-trombolýza) pomocí diagnostické duplexní transkraniální sondy vede k přímému ovlivnění fibrinolitického systému se snížením hladin inhibitorů fibrinolýzy. Tyto výsledky potvrdily výsledky pilotní fáze [10], tedy snížení inhibitorů fibrinolýzy po ST ACM i AR. Na rozdíl od pilotní fáze dosáhl hladin signifikantní vý-

OVLIVNĚNÍ FIBRINOLYTICKÉHO SYSTÉMU POMOCÍ KONTINUÁLNÍHO DOPPLEROVSKÉHO MONITORINGU

Tab. 3. Změny hladiny primárních vyšetřovaných laboratorních parametrů fibrinolytického systému.

Parametr	Ultrazvuková aplikace	Před aplikací ultrazvuku	60 min po zahájení aplikace ultrazvuku	24 hod po zahájení aplikace ultrazvuku
PAI-1: hladina antigenu v ng/ml (medián, IQR)	ST ACM	9,1; 3,0–14,8	6,5**; 0,3–9,7	12,6; 6,3–20,2
	ST AR	11,4; 6,5–19,9	8,1*; 4,7–15,7	11,7; 6,2–19,0
	SNV	10,4; 1,0–13,5	8,0; 4,0–13,7	13,3; 3,4–20,3
α -2-antiplazmin – aktivita v % (průměr \pm SD)	ST ACM	108,0 \pm 16,7	102,5* \pm 13,7	105,0 \pm 15,0
	ST AR	102,0 \pm 19,4	98,7* \pm 18,2	100,0 \pm 20,6
	SNV	99,3 \pm 18,1	96,7 \pm 19,2	103,3 \pm 16,2
Plazminogen – aktivita v % (průměr \pm SD)	ST ACM	112,3 \pm 16,1	107,5** \pm 12,5	111,7 \pm 13,4
	ST AR	114,9 \pm 15,9	107,3* \pm 21,5	112,5 \pm 13,5
	SNV	109,1 \pm 12,0	108,7 \pm 11,2	111,5 \pm 14,8
tPA: hladina antigenu v ng/ml (průměr \pm SD)	ST ACM	5,10 \pm 2,77	4,74* \pm 2,75	5,06 \pm 2,72
	ST AR	5,17 \pm 2,72	5,59 \pm 5,07	5,48 \pm 3,12
	SNV	4,93 \pm 3,09	4,67 \pm 2,76	5,02 \pm 3,01

*p < 0,05; **p < 0,01; IQR: mezikvartilové rozmezí, PAI-1: inhibitor aktivátoru plazminogenu-1, ST ACM: sono-trombolýza a. cerebri media, ST AR: sono-trombolýza a. radialis, SD: směrodatná odchylka, SNV: standardní neurosonologické vyšetření, tPA: tkáňový aktivátor plazminogenu

Tab. 4. Změna hladiny sekundárních vyšetřovaných laboratorních parametrů hemokoagulace.

Parametr	Ultrazvuková aplikace	Před aplikací ultrazvuku	60 min po zahájení aplikace ultrazvuku	24 hod po zahájení aplikace ultrazvuku
Fibrinogen – hladina v g/l (průměr \pm SD)	ST ACM	2,97 \pm 0,51	2,90 \pm 0,55	2,93 \pm 0,51
	ST AR	2,91 \pm 0,58	2,83 \pm 0,52	2,86 \pm 0,55
	SNV	2,88 \pm 0,47	2,77 \pm 0,48	2,81 \pm 0,54
D-dimery – hladina v ng/ml (medián, IQR)	ST ACM	170 ; 105–286	183; 95–269	195; 120–280
	ST AR	195; 149–318	197; 144–241	196; 150–276
	SNV	205; 141–311	187; 132–289	192; 120–282
FDP – hladina v μ g/ml (medián, IQR)	ST ACM	2,5; 2,5–2,5	2,5; 2,5–2,5	2,5; 2,5–2,5
	ST AR	2,5; 2,5–2,5	2,5; 2,5–12,5	2,5; 2,5–5,0
	SNV	2,5; 2,5–2,5	2,5; 2,5–12,5	2,5; 2,5–5,0
FM – hladina v μ g/ml (průměr \pm SD)	ST ACM	1,8; 0,0–4,5	1,4; 0,0–3,3	1,5; 0,0–4,2
	ST AR	2,0; 0,5–4,3	2,5; 0,5–5,8	2,1; 0,0–10,3
	SNV	2,7; 0,0–6,4	2,8; 0,6–6,4	1,5; 0,0–4,2
aPTT – čas v s (průměr \pm SD)	ST ACM	28,1 \pm 3,1	28,3 \pm 2,9	28,3 \pm 2,8
	ST AR	28,0 \pm 3,0	27,7 \pm 3,2	28,0 \pm 3,1
	SNV	28,5 \pm 3,1	28,2 \pm 3,2	27,5 \pm 5,3
PT – čas v s (průměr \pm SD)	ST ACM	11,7 \pm 0,9	11,8 \pm 0,8	11,7 \pm 0,9
	ST AR	11,5 \pm 0,9	11,6 \pm 0,9	11,4 \pm 1,0
	SNV	11,3 \pm 0,6	10,8 \pm 2,5	10,8 \pm 2,3
Euglobulinová fibrinolýza – čas v min (medián, IQR)	ST ACM	245; 165–250	250; 155–265	245; 213–260
	ST AR	258; 220–290	263; 236–285	255; 238–279
	SNV	240; 195–255	235; 210–295	258; 206–283

aPTT: aktivovaný parciální tromboplastinový čas, FDP: fibrin degradační produkty, FM: fibrinové monomery, IQR: mezikvartilové rozmezí, PT: protrombinový čas, ST ACM: sono-trombolýza a. cerebri media, ST AR: sono-trombolýza a. radialis, SD: směrodatná odchylka, SNV: standardní neurosonologické vyšetření

znamnosti pokles hladiny PAI-1 antigenu, aktivity plazminogenu i α -2-antiplazminu po 60 min od zahájení ST nejen ACM, ale i AR. Změny hladin PAI-1 antigenu a aktivity plazminogenu u ST ACM a α -2-anti-

plazminu u ST AR dosáhly statistické signifikance i po provedení Bonferronihho korekce. V obou případech došlo k normalizaci hladin všech tří sledovaných faktorů do 24 hod od zahájení ST. Stejně jako v pi-

lotní fázi i nyní byl efekt výraznější při ST ACM s výjimkou snížení aktivity plazminogenu, které bylo výraznější po ST AR, avšak statisticky nesignifikantní po provedení Bonferronihho korekce. Na rozdíl od pilotní

Tab. 5. Změna hladiny ostatních vyšetřovaných laboratorních parametrů.

Parametr	Ultrazvuková aplikace	Před aplikací ultrazvuku	60 min po zahájení aplikace ultrazvuku	24 hod po zahájení aplikace ultrazvuku
Trombocyty – počet $\times 10^9/l$ (průměr \pm SD)	ST ACM	250,2 \pm 57,8	243,6 \pm 59,9	249,0 \pm 63,2
	ST AR	247,7 \pm 57,5	242 \pm 61,1	254,5 \pm 60,4
	SNV	246,0 \pm 59,6	243,3 \pm 57,7	242,9 \pm 62,5
Homocysteine – hladina v $\mu\text{mol/l}$ (průměr \pm SD)	ST ACM	12,6 \pm 9,5	12,0 \pm 8,6	12,3 \pm 9,2
	ST AR	14,0 \pm 11,0	13,6 \pm 10,8	13,0 \pm 9,8
	SNV	12,3 \pm 8,0	11,9 \pm 8,2	12,3 \pm 7,5
Lipoprotein (a) – hladina v g/l (medián, IQR)	ST ACM	0,16; 0,1–0,32	0,17; 0,1–0,34	0,15; 0,09–0,3
	ST AR	0,15; 0,1–0,33	0,14; 0,1–0,32	0,14; 0,08–0,29
	SNV	0,16; 0,1–0,37	0,15; 0,1–0,32	0,15; 0,1–0,31
Osmolalita – v mosmol/kg (průměr \pm SD)	ST ACM	295,9 \pm 7,4	295,8 \pm 7,5	298,4 \pm 5,6
	ST AR	294,6 \pm 6,2	295,5 \pm 6,0	297,4 \pm 9,9
	SNV	294,3 \pm 4,1	295,4 \pm 3,8	295,8 \pm 5,5

IQR: mezikvartilové rozmezí, ST ACM: sono-trombolýza a. cerebri media, ST AR: sono-trombolýza a. radialis, SD: směrodatná odchylka, SNV: standardní neurosonologické vyšetření

studie nebyl potvrzen tak výrazný efekt na změnu hladiny tPA antigenu, jehož pokles byl hraniční, a to jen při ST ACM. Nepotvrdili jsme také signifikantní snížení hladiny fibrinogenu ani prodloužení doby euglobulinové fibrinolýzy při ST ACM či AR.

Naše výsledky jsou ve shodě s výsledky studií na zvířatech, které prokázaly, že ultrazvukové vlnění o frekvenci 20 kHz až 2 MHz urychluje lysisu trombu, přičemž při použití nízkých frekvencí (20–100 kHz) dochází primárně k mechanickému účinku na trombus, při použití vyšších frekvencí (500 kHz až 2 MHz) dochází také k aktivaci fibrinolytického systému [2,9].

Účinek ultrazvuku na fibrinolytický systém u dobrovolníků by však šlo vysvětlit nejen přímou aktivací účinku fibrinolytických enzymů se snížením hladiny inhibitorů fibrinolýzy, ale také tím, že při aplikaci ultrazvuku dochází k aktivaci koagulace až do stadia vzniku fibrinu s možným vznikem trombu, který následně aktivuje fibrinolytický systém. V tomto případě by však došlo k nárůstu produktů spojených se vznikem a následným štěpením trombu – D-dimerů a FDP [11]. Zároveň by však tento efekt ultrazvuku nebyl prakticky terapeuticky využitelný u pacientů s akutní okluzí tepny. Výsledky jak pilotní studie, tak výsledky prezentované studie ne-potvrdily a prakticky vyloučily tuto hypotézu, jelikož po ST ACM ani ST AR nedošlo k nárůstu D-dimerů, FDP ani FM, rovněž nebylo zobrazovacími metodami zaznamenáno zhoršení anebo novotvorba trombu.

Poprvé byl možný efekt diagnostického transkraniálního dopplerovského moni-

toringu na urychlení rekanalizace mozkové tepny u pacientů s akutní ischemickou cévní mozkovou přihodou popsán Alexandrovem et al v roce 2000 [3]. Vyšší počet časných rekanalizací mozkové tepny a rychlé úpravy neurologického deficitu byl potvrzen v následné studii CLOTBUST [4]. Poté další studie potvrdily efekt diagnostického ultrazvuku o frekvenci 1–4 MHz na urychlení rekanalizace intrakraniální tepny [5–8,12], a to jak v kombinaci se systémovou trombolýzou [4–6], tak i u pacientů, u nichž byla systémová trombolýza kontraindikována [6,7]. V těchto studiích byly použity jak dopplerovské, tak duplexní transkraniální sondy.

Předpokládají se dva možné efekty transkraniálního dopplerovského monitoringu na trombembolus:

1. mechanické rozrušení struktury trombembolu díky vibraci a kavitacím s urychlením průniku fibrinolytika do nitra trombu
2. aktivace fibrinolytického systému.

K tomu může dojít díky lokálnímu zvýšení teploty, stimulací endotelu nebo přímou aktivací fibrinolytických enzymů [1,3,4,7,9,10]. Z výsledků naší studie lze usuzovat, že kontinuální aplikace ultrazvuku formou ST vede k rozpadu molekulového komplexu tPA – PAI-1 – α -2-antiplazmin. Po rozpadu této komplexní inaktivní molekuly se stavá tPA aktivní s krátkým polohasem účinku [13]. Kontinuální ultrazvuková insonace pravděpodobně vede také k irritaci cévního endotelu, čímž může dojít

k aktivaci fibrinolytických enzymů, které jsou podobně jako jejich inhibitory endotelovými buňkami syntetizovány [14].

Dosud není známo, jaká ultrazvuková frekvence, energie a další fyzikální charakteristiky ultrazvukového svazku vedou k nejrychlejší a nejbezpečnejší rekanalizaci tepny. Z výsledků naší studie vyplývá, že efekt na fibrinolytický systém je více závislý na ultrazvukové frekvenci než jeho energii, protože při insonaci ACM i AR bylo dosaženo velmi podobných změn v hladinách sledovaných fibrinolytických enzymů, přestože v oblasti radiální tepny byla energie ultrazvukového svazku mnohonásobně vyšší než v oblasti střední mozkové tepny, díky vyšší atenuaci a reverberaci (odrazu) ultrazvukové energie při průchodu lebeční kostí a tkáněmi při hlubším uložení tepny [15].

Druhým výsledkem studie je průkaz bezpečnosti ST u zdravých dobrovolníků. U žádného subjektu nebyly zaznamenány žádné nežádoucí účinky a také na kontrolní MR mozku nedošlo k žádným detekovatelným změnám. Tyto výsledky potvrdily bezpečnost ST ve shodě s výsledky publikovaných studií u pacientů s akutní okluzí ACM léčených ST s použitím diagnostických transkraniálních sond s frekvencemi mezi 1 a 4 MHz [3,4,7,12]. Naproti tomu ve studiích, které použily sondy s nediagnostickou frekvencí 500 kHz, došlo k signifikantně vyššímu počtu intrakraniálních krvácení a porušení hemato-encefalické bariéry [16,17]. Zvýšené aktivity endogenního fibrinolytického sys-

OVLIVNĚNÍ FIBRINOLYTICKÉHO SYSTÉMU POMOCÍ KONTINUÁLNÍHO DOPPLEROVSKÉHO MONITORINGU

tému v kombinaci s intravenózním podáním rtPA mohlo způsobit toto zvýšení krvácení [16]. Lze předpokládat, že snížením dávky rtPA by se mohlo v tomto případě snížit riziko intrakraniálního krvácení. Kromě rozdílně použité ultrazvukové frekvence však v těchto studiích byla i rozdílná energie ultrazvukového svazku v oblasti ischemického ložiska. K spolehlivému vyšetření nežádoucích účinků ST při použití nediagnostických frekvencí je nutné provedení dalších studií.

Závěr

Výsledky studie potvrzly výsledky pilotní studie, že transkraniální dopplerovské monitorování průtoku mozkovou tepnou a periferní tepnou horní končetiny pomocí diagnostické duplexní transkraniální sondy vede k přímému ovlivnění fibrinolytického systému především díky snížení hladin inhibitorů fibrinolýzy. Tento efekt je pravděpodobně jedním z mechanismů terapeutického účinku ST u pacientů s akutním uzávřem mozkové tepny. V budoucnu je nutné provést další studie s průkazem optimální terapeutické frekvence a energie použitého ultrazvukového vlnění.

Literatura

1. Daffertshofer M, Fatar M. Therapeutic ultrasound in ischemic stroke treatment: experimental evidence. Eur J Ultrasound 2002; 16(1–2): 121–130.
2. Francis CW, Onundarson PT, Carstensen EL, Blinc A, Melzer RS, Schwarz K et al. Enhancement of fibrinolysis in vitro by ultrasound. J Clin Invest 1992; 90(5): 2063–2068.
3. Alexandrov AV, Demchuk AM, Felberg RA, Christou I, Barber PA, Burgin WS et al. High rate of complete recanalisation and dramatic clinical recovery during tPA infusion when continuously monitored with 2-MHz transcranial Doppler monitoring. Stroke 2000; 31(3): 610–614.
4. Alexandrov AV, Demchuk AM, Burgin WS, Robinson DJ, Grotta JC. CLOTBUST Investigators. Ultrasound-enhanced thrombolysis for acute ischemic stroke: phase I. Findings of the CLOTBUST trial. J Neuroimaging 2004; 14(2): 113–117.
5. Eggers J, König IR, Koch B, Händler G, Seidel G. Sonothrombolysis with transcranial color-coded sonography and recombinant tissue-type plasminogen activator in acute middle cerebral artery main stem occlusion: results from a randomized study. Stroke 2008; 39(5): 1470–1475.
6. Školoudík D, Bar M, Škoda O, Václavík D, Hradílek P, Allendoerfer J et al. Safety and Efficacy of the Sonographic Acceleration of the Middle Cerebral Artery Recanalization: Results of the pilot Thrombotripsy Study. Ultrasound Med Biol 2008; 34(11): 1775–1782.
7. Eggers J, Seidel G, Koch B, König IR. Sonothrombolysis in acute ischemic stroke for patients ineligible for rt-PA. Neurology 2005; 64(6): 1052–1054.
8. Školoudík D, Bar M, Škoda O, Václavík D, Hradílek P, Langová K et al. Účinnost sonotrombotripsy a sonotrombolýzy v rekanalizaci střední mozkové tepny. Česk Slov Neurol N 2007; 70/103(3): 248–252.
9. Francis CW, Behrens S. Ultrasonic thrombolysis. In: Hennerici M, Meairs S (eds). Cerebrovascular ultrasound: theory, Practice and Future Developments. Cambridge: University Press 2001: 404–415.
10. Školoudík D, Fadrná T, Bar M, Zapletalová O, Zapletal O, Blatný J et al. Changes in haemocoagulation in healthy volunteers after a 1-hour thrombotripsy using a diagnostic 2–4 MHz transcranial probe. J Tromb Trombolysis 2008; 26(2): 119–124.
11. Kelly J, Rudd A, Lewis RR, Coshall C, Parmar K, Moody A et al. Screening for proximal deep vein thrombosis after acute ischemic stroke: a prospective study using clinical factors and plasma D-dimers. J Thromb Haemost 2004; 2(8): 1321–1326.
12. Šahák D, Herzig R, Školoudík D, Horák D, Zapletalová J, Köcher M et al. The Safety and Efficacy of Continuous Transcranial Doppler Monitoring in Treatment of Middle Cerebral Artery Occlusion in Acute Stroke Patients. J Neuroimaging 2009. Epub ahead of print.
13. Wiman B, Collen D. On the kinetics of the reaction between human antiplasmin and plasmin. Eur J Biochem 1978; 84(2): 573–578.
14. Schleef RR, Loskutoff DJ. Fibrinolytic system of vascular endothelial cells. Role of plasminogen activator inhibitors. Haemostasis 1988; 18(4–6): 328–341.
15. Bartels E, ed. Color-Coded Duplex Ultrasonography of the Cerebral Vessels. Stuttgart: Schattauer 1999.
16. Daffertshofer M, Gass A, Ringleb P, Sitzer M, Slivka U, Els T et al. Transcranial low-frequency ultrasound-mediated thrombolysis in brain ischemia: increased risk of hemorrhage with combined ultrasound and tissue plasminogen activator: results of a phase II clinical trial. Stroke 2005; 36(7): 1441–1446.
17. Reinhard M, Hetzel A, Krüger S, Kretzer S, Talazko J, Ziyeh S et al. Blood-Brain Barrier Disruption By Low-Frequency Ultrasound. Stroke 2006; 37(6): 1546–1548.

Vážení a milí kolegové,
dovolujeme si Vás pozvat na námi pořádanou Mezinárodní konferenci při příležitosti

Mezinárodní dne porozumění koktavosti International Stuttering Awareness Day

dne 22. října 2009.

Tématem letošního ročníku jsou neurologické aspekty koktavosti.

Čestným hostem letošního ročníku je pan profesor Luc de Nil z Univerzity v Torontu, který se dlouhodobě věnuje neurologickým výzkumům v této oblasti. Na konferenci vystoupí další přední odborníci z oblasti neurologie, logopedie, ORL a foniatrie, kteří se této problematice věnují.

Akce se koná pod záštitou náměstka ministra práce a sociálních věcí, pana MUDr. Mariána Hoška.

Konference se koná od 9:00 na Veletrzích Brno.

Více informací na www.oslogo.cz

Občanské sdružení LOGO, Vsetínská 20, 639 00 Brno, tel.: 543 420 690, 777 056 440, email: oslogo@oslogo.cz, www.oslogo.cz