

DIJAGNOSTIKA I TERAPIJA REOLOŠKIH POREMEĆAJA U AKUTNIM LEUKEMIJAMA

UVOD

Hemoreologija je grana bioreologije koja se bavi ispitivanjem deformacije i proticanja krvnih ćelija i plazme u makroskopskim, mikroskopskim i submikroskopskim dimenzijama, kao i reoloških osobina krvnih sudova.⁽¹⁾

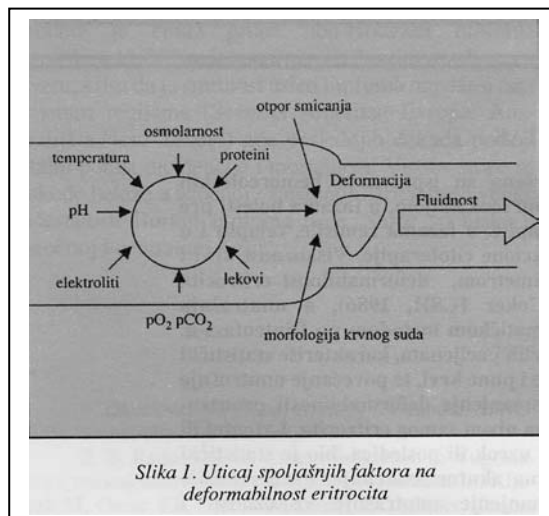
Presudnu ulogu na perfuziju tkiva imaju viskoznost krvi i kritični radijus krvnog suda na koje deluju faktori viskoznosti krvi: viskoznost plazme, hematokrit, agregacija eritrocita, unutrašnja viskoznost eritrocita i deformabilnost eritrocita, te agregacija trombocita i tečni tromb. Na viskoznost krvi presudnu ulogu ima hematokrit.^(2>3)

Viskoznost krvi se pravilno određuje jedino rotacionim viskozimetrom, a pri temperaturi od 37°C i prosečnoj vrednosti hematokrita od 0,45 l/l, viskoznost krvi na brzini smicanja od 230/sec je 4,53 mPas(2).

Hematokrit podrazumeva zapreminu eritrocita nakon centrifugovanja određene količine i ima ključnu ulogu u reologiji krvi. Merenje hematokrita se vrši mikrometodom, kapilarnim cevčicama, iz kapilarne ili venske krvi. Normalne vrednosti za muškarce su 0,40-0,54 l/l i 0,36-0,47 l/l za žene.«

Viskoznost plazme je determinisana koncentracijom plazminih proteina i temperaturom. **Određuje** se kapilarnim ili rotacionim viskozimetrom i kreće se od 1,2-1,6 mPas na 37°C.⁽²⁾

Deformabilnost eritrocita je termin koji se koristi da bi se okarakterisala sposobnost eritrocita da se podvrgnu deformaciji tokom proticanja.⁽⁴⁾ Na ovu osobinu eritrocita utiču 3 unutrašnje komponente: 1) deformabilnost membrane 2) odnos između površine ćelije i njene zapremine tj. oblik ćelije i 3) unutrašnja viskoznost, tj. viskoznost hemoglobina koga određuju koncentracija i tip. Na rigidnost tj. deformabilnost eritrocita utiču i spoljašnji faktori kao što su temperatura, osmolarnost, pH, elektroliti i lekovi. Na morfoloiju krvnog suda utiču i spoljašnji faktori kao što su temperatura, osmolarnost, pH, elektroliti i lekovi, prisustvo metaboličkih produkata i lekova u cirkulaciji, te pojava infekcije i febrilnosti^(5,6) (slika br.1).



Izračunavanje unutrašnje viskoznosti i rigidnosti eritrocita se vrši matematičkom metodom po Dintefass-u, a merenje deformabilnosti eritrocita fil-tracionom tehnikom. Rigidnost eritrocita (Tk) ima normalne vrednosti 0,9 a unutrašnja viskoznost eritrocita 1-5 mPas. Filtrabilnost eritrocita se iskazuje kroz parametre relativne filtrabilnosti i njihov međusobni odnos.⁽²⁾

CILJ RADA

Cilj istraživanja je bio dijagnostika i praćenje reoloških poremećaja u pacijenata sa akutnom leukemijom u različitim periodima bolesti: pre započinjanja indukciono polihemioterapije, u fazi remisije, relapsa osnovne bolesti i u pacijenata čiji je smrtni ishod nastupio pre ili u toku faze indukciono polihemioterapije.

MATERIJAL I METODE

Rad obuhvata reološko i kliničko-he-matološko ispitivanje u 80 bolesnika, obolelih od akutne leukemije, koji su lečeni na Klinici za hematologiju KC Novi Sad tokom poslednjih deset godina. Za dijagnostiku akutne leukemije su bili neophodni citološki i citohemijski pregled periferne krvi i kostne srži, patohistološki pregled kostne srži, citogenetsko ispitivanje kao i određivanje antigena i ćelijskih markera blasta. Sistematski je ispitivan mehanizam hemostaze, pregled očnog dna, neurološki pregled i EKG. Verifikovano je prisustvo ili odsustvo febrilnosti i infekcije u vreme hemo-reoloških ispitivanja, kao i eventualnih aplikacija transfuzije krvi ili krvnih derivata.

Reološka ispitivanja su obuhvatala ispitivanje:

1. Viskoznosti pune krvi i plazme rotacionim viskozimetrom Wells-Brookfield; kao antikoagulant je korišćena Na₂EDTA, a vrednosti su izražene u mPas.⁽²⁾
2. Hematokrit je određivan iz venske krvi, mikrometodom kapilarnim cevčicama; vrednosti su date u (SI) jedinicama.⁽²⁾
3. Unutrašnja viskoznost i rigidnost eritrocita su dobijene matematičkom metodom po Dintefass-u i tablice izračunatih vrednosti za p i Tk, a iz poznatih reoloških parametara (viskoznosti krvi, plazme i hematokrita). Vrednosti unutrašnje viskoznosti su date u mPas⁽⁶⁻⁷⁾ (tabela br.1)

Unutrašnja viskoznost eritrocita

$$\eta_{sp} = \eta_{sp}^0 \times p$$

η_{sp}^0 = viskoznost plazme

$$p = \eta_{sp}^0 / \eta_{sp}$$

Rigidnost eritrocita

$$Tk = \eta_{sp}^0 / \eta_{sp} - 1 / \eta_{sp}^0 \times c \quad Tk - \text{rigidnost eritrocita}$$

η_{sp} / η_{sp}^0 - relativna viskoznost krvi (viskoznost krvi/viskoznost plazme)

Koeficijent pakovanja k izračunat je iz empirijske jednačine $k = (0,0066/T - 0,99) + 1,01$. T je Tay-lorov faktor, p odnos unutrašnje viskoznosti eritrocita i plazme, a Tk predstavlja rigidnost eritrocita.®

4. Deformabilnost eritrocita je određivana fil-tracionom tehnikom (Sowemimo-Coker, ISCH, 1986) uz korišćenje polikarbonantnih membrana prečnika 5 um, gustine pora $4 \times 10^5 / \text{cm}^2$ (polvcarbon-ate membrane filter, Nuclepore corp. Pleasanton, USA), koja je stavljena u nosač karbonatne membrane ("Pop-Top" filter Holder, Nuclepore corp.). Merena je brzina proricanja suspenzije opranih eritrocita u fosfatnom puferu, pH 7,4, osmolarnosti

Tabela 1. Izračunate vrednosti za Tk i p

T	k	Tk	P	T	k	Tk	P
0.40	1.40144	0.4050	0	0.920	1.0780	0.9918	6.50
0.45	1.0154	0.457	0.09	0.930	1.0874	1.0113	7.57
0.50	1.0165	0.508	0.20	0.940	1.0994	1.0330	9.00
0.60	1*0198	0.612	0.50	0.950	1.1154	1.0596	11.00
0.70	1.0146	0.710	1.00	0.960	1.1377	1.0922	14.00
0.75	1.0292	0.772	1.40	0.970	1.1712	1.1361	19.00
0.80	1.0353	0.828	2.0	0.980	1.2271	1.2025	29.00
0.825	1.0397	0.858	2.43	0.985	1.2716	1.2525	39.00
0.850	1.0454	0.888	3.00	0.990	1.3383	1.3249	59.00
0.875	1.0531	0.921	3.80	0.992	1.3753	1.3643	74.00
0.890	1.0594	0.943	4.45	0.995	1.4493	1.4420	119.00
0.900	1.0645	0.958	5.00	0.997	1.5173	1,5128	199.00
0.910	1.0706	0.9742	6.50	1.000	1.6700	1.6700	00

280 mOsm/l i srednja vrednost brzine proticanja pufera a rezultati su izraženi kao relativna filtrabilnost. Merenje filtracije eritrocita se izvodi pod silom zemljine teže, na sobnoj temperaturi, jedan čas posle venepunkcije. (7is_9i10)

RF, - odražava relativnu brzinu proticanja mladih, bolje savitljivih eritrocita (normalno do 3,5)

RF₂ - uključuje celu populaciju eritrocita (normalne vrednosti su dvostruko veće od RF,)

Povećanje RF, i RF₂ ukazuje na smanjenje filtrabilnosti eritrocita, takođe smanjenje njihove deformabilnosti.

RF₂/RF,, pokazuje udeo manje deformabilnih eritrocita u celokupnoj populaciji eritrocita

Povećan odnos veći od 2 ukazuje na postojanje veće subpopulacije manje savitljivih eritrocita u celokupnoj populaciji. *7i8i9i om)

REZULTATI ISPITIVANJA

Tabela 1. Hemoreološki parametri

Pre citoterapije, RL, smrtni ishod pre ili u toku terapije			Remisija		
PARAMETRI	x ± SD		x ± SD		Ttest
Viskoznost krvi	3,68	1,06	3,98	0,73	<0,27
Viskoznost plazme	1,23	0,37	1,18	0,17	<0,55
Unutr. viskoznost eritrocita	54,66	65,66	17,34	20,61	<0,01
Rigidnost eritrocita	1,22	0,29	1,04	0,17	<0,01
RF ₁	4,58	1,29	3,28	0,49	<0,01
RF ₂	10,74	4,58	6,58	1,18	<0,03
RF ₂ /RF ₁	2,25	0,06	2,00	0,23	<0,07

Tabela 2. Plazmatski parametri

Pre citoterapije, RL, smrtni ishod pre ili u toku terapije			Remisija		
PARAMETRI	x ± SD		x + SD		Ttest
fibrinogen	5,09	0,72	3,80	0,92	<0,04
albumini	0,55	0,55	0,58	0,04	<0,05
a 2 globulini	0,10	0,07	0,08	0,03	< 0,02
Y globulini	0,23	0,04	0,19	0,03	<0,06
pO ₂	62,51	9,90	80,21	8,46	<0,03
urea	8,99	5,19	6,56	2,75	<0,08
kreatinin	3,98	0,50	3,44	0,58	<0,02

Tabela 3. Hematološki parametri

Pre citoterapije , RL, smrtni ishod pre ili u toku terapije			Remisija		
PARAMETRI	x ± SD		x ± SD		Ttest
Htc 1/1	2,99	0,59	0,36	0,06	< 0,0002
MCVfl	99,50	7,28	93,39	7,08	<0,05
MCHpg	30,30	2,46	32,35	2,19	< 0,004
SE	86,10	44,91	44,33	33,26	< 0,0009
mehan. rez. Erci %	6,64	1,52	5,43	1,27	< 0,005
anizopoikilocitoza	1,60	0,50	1,08	0,29	< 0,0001
Lkci x 10 ⁹ /l	26,65	35,76	4,85	2,80	< 0,008
blasti %	64,70	33,60	0,00	0,00	< 0,001
Trci x 10 ⁹ /l	105,21	84,56	189,35	112,31	<0,06

Tabela 4. Klinički parametri

Pre citoterapije , RL, smrtni ishod pre ili u toku terapije		Remisija	
PARAMETRI	%	%	Hi ² test
Ishemične promene na EKG-u	26,08	4,34	< 0,001
Retinalna hemoragija	70,00	26,08	<0,05
Neurološki ispadi	70,00	0,00	< 0,01
Infekcija i febrilnost	56,52	0,00	<0,01
DIK	3,12	0,00	< 0,03
Transfuzije	90,00	0,00	< 0,001

DISKUSIJA

Prikazani podaci iz tabele br. 1, ukazuju da faze pre započinjanja polihemioterapije, relapsa i u rano umrlih pacijenata sa akutnom leukemijom karakteriše značajno odstupanje svih reoloških parametara eritrocita: povećanje unutrašnje viskoznosti i rigidnosti, te smanjenje deformabilnosti eritrocita uz snižene vrednosti viskoznosti pune krvi i plazme.*^{12_13}

Tabela br. 2 prikazuje da ovakav hemoreološki poremećaj prate i uslovljavaju: plazmatski poremećaji tipa disproteinemije, povećanja nivoa ureje, kreatinina i osmolalnosti plazme uz hipokalemiju i hipoksiju.^(14_15_16)

Hematološki parametri prikazani na tabeli br. 3 pokazuju da je smanjena koncentracija hemoglobina, povećane vrednosti MCV i MCH i nivoa HbF, te na prisutnost anizopoikilocitotičnih formi eritrocita, što značajno pogoršava reološki status eritrocita, u skladu sa podacima iz literature.^(15>16) Pomenuti eritrocitni faktori doprinose povećanju rigidnosti eritrocita promenom oblika ćelije, akumulacijom Ca⁺⁺ ili

deplecijom ATP-a u eritrocitu (en-zimskog i metaboličkog statusa eritrocita) ili promenom unutrašnje viskoznosti i viskoelastičnih osobina membrane eritrocita/²¹⁷

Ispitivanje kliničkih parametara (tabela br. 4), potvrdilo je prisustvo mikrocirkulatornih poremećaja tipa latentnog ili manifestnog hiperviskoznog sindroma: ishemiju miokarda, retinopatiju, neurološke poremećaje uz povećanu učestalost infekcije i febrilnosti. Rigidni eritrociti uz agregate eritrocita i rigidne blaste izazivaju fenomen reološke okluzije. <²⁻¹²⁻¹⁵> Lokalni mikrocirkulatorni nivo karakteriše ishemija, acidoza i nekroza/¹⁸⁻¹⁹⁻²⁰⁻²¹⁻²²

Podaci iz prikazanih tabela ukazuju da uz povećanu proliferaciju nove generacije eritrocita, smanjenje ukupnog broja blasta i leukocita, smanjenje izraženosti trombocitopenije, uz korekciju patoloških plazmatskih parametara, fazu remisije akutne leukemije karakteriše povećanje deformabilnosti eritrocita i smanjenje unutrašnje viskoznosti i rigidnosti eritrocita, što je u skladu sa literalnim po-dacima/²⁻¹²⁻¹⁵

ZAKLJUČAK

Primena polihemioterapije, supstitucione terapije, prevencije i terapija infekcija, acidoze i DIK-a, reoloških i farmakoreoloških mera ima pozitivan efekat na reološki status eritrocita u obolelih od akutne leukemije.

LITERATURA

1. Coplev A. The historv of the clinical hemorhe-ology. Clin. Hemorh.1985; 5: 766-811.
2. Pejcin D. Reologija u kliničkoj hematologiji, monografija. Monografija 1986, Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet Novi Sad.
3. Stolz J, Donner M. The importance of rheologi-cal theorv in clinical hemorheologv. Cli. Hemorheologv 1989; 8:293-303.
4. Dormandv J.A, Nash G. The influence of hemorheology on the practise of clinical medicine. Ric. Clin. Lab.1983; 13:7-27.
5. Guilmot J, Diot E. The role of drug therapv in the treatment of clinical ischaemia. Presse Med. 1999;28: 647-50.
6. Dintenfass L. Blood viscositv, hyperviscosity and hyperviscosaemia. 1985; Sydney.
7. International Committee for standardisation in hemorheology(Expert panel on blood rheology): Guide-lines for measurment of blood viscosity and eritrocyte de-formability. Clin.Hemorh. 1986; 6: 439-53.
8. Sowemimo-Coker S.O, Kovacs LB, Turner P., Kirby I.D.T: An improved filtration rate for measurment red cell deformability bioreology 1984; 1: 249-53.
9. Leblond F, Coulombe L. The measurment of erythrocyte deformability using micropore membranes. J.Lab.Clin. 1989; 94:133-43.
10. Bakhritova FA. Evaluation of erythrocyte de-formability using a cell transit analyser "CTA". Compara-tion with the tehniqe of initial filtration flow rate. J. Mal. Vasc. 1996; 21: 175-80.
11. Franzini E., Guerrini M., Pieragali G. The role of red cell subpopulations in the determinations of erythro-cyte deformability .Clin. Hemorheology 1988; 8: 493-99.
12. Albanese B. The hemorrheological findings in leukaemia. Clin. Hemorheology 1984; 4: 505-12.
13. Janzen J., Elliott T.G., Čarter CJ., Broocks DE. Detection of red cell aggregation by low shear rate vis-cometry in whole blood with elevated plasma viscosity. Biorheology 2000; 37:225-37.
14. Chabanel A., Lowe G.D. Lipid and protein con-tribution to red blood cell deformability and viscoelastic-ity. Clin. Hemorheology 1988; 8: 307-18.
15. Savic I. Hemoreološke promene u akutnim leukemijama i njihov značaj. Magistarski rad 1990 . Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet Novi Sad.
16. Kaodabandehlou, Ledevhat C. Haemorheo-logical concequences of hyperglycemic spike in healthy volunteers. Clin. Hemorheol. Microcirc. 1998; 19:105-19.
17. Banerjee R., Nageshwari K., Punyani RR. The diagnostic relevance of red cell rigidity. Clin. Hemorheol. Microcirc. 1998; 19:21-4.