

РІВЕНЬ ФАКТОРА ФОН ВІЛЛЕБРАНДА У ХВОРИХ З ІШЕМІЧНИМ ІНСУЛЬТОМ

Кравченко Н.К.¹, Мельник В.С.², Савчук О.М.¹

¹ Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут Біології", м. Київ, Україна

² Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Ключові слова: ішемічний інсульт, фактор фон Віллебранда, тромбоцити.

В структурі загальної смертності в Україні мозкові інсульти займають друге місце, поступаючи лише онкологічним захворюванням, однак дистанція між ними щорічно скорочується. Згідно з офіційною статистикою щороку виникають понад 100 тисяч мозкових інсультів, третина з яких розвивається в осіб працездатного віку, а 30-40% хворих помирають впродовж перших 30 днів (1).

В патогенезі ішемічного інсульту велике значення мають зрушення в системі гемостазу. При пошкодженні судинної стінки в забезпеченні гемостазу важливу роль відіграє фактор фон Віллебранда (vWF) — складний мультимерний адгезивний глікопротеїн плазми крові, який синтезується ендотеліальними клітинами та мегакаріоцитами та відіграє важливу роль в системі гемостазу. При пошкодженні судини, vWF зв'язує субендотеліальний колагеновий матрикс та тромбоцитарний рецептор GPIb-IX-V, що забезпечує прикріплення тромбоцитів до субендотелію через зв'язування рецептора тромбоцитів глікопротеїну Ib. Він також може приймати участь в тромбоцит-тромбоцитарній взаємодії, шляхом зв'язування глікопротеїну Pб/ІІа. Крім того, vWF є носієм прокоагуляційного VIII фактора згортання крові, стабілізує його структуру та доставляє до місця пошкодження.

Велике значення для адгезії тромбоцитів за участі vWF мають гемодинамічні фактори. Адгезія тромбоцитів, зумовлена vWF, найбільш інтенсивно проходить при високих швидкостях зсуву, тобто в артеріях. Підвищені рівні антигенної vWF активності виступають індикатором пошкодження ендотелію при різних судинних захворюваннях, включаючи інфаркт міокарду та інсульт, особливо у хворих з артеріальною гіпертензією.

Відомо, що vWF секретується не лише з активованих тромбоцитів, а й підвищується в разі активації або пошкодження ендотеліальних клітин судин. В місці пошкодження vWF виступає посередником агрегації та адгезії тромбоцитів, тобто стимулює початок тромбоутворення, завдяки прикріпленню тромбоцитів до ділянки пошкодженої судини. Це відбувається шляхом з'єднання тромбоцитарного рецептора GPIb-IX-V із субендотеліальним колагеновим матриксом через vWF. Крім цього, vWF є носієм фактора згортання крові VIII, стабілізує його структуру і доставляє до місця ушкодження (4).

Матеріал та методи

У ході роботи було проведено комплексне клініко-неврологічне обстеження 113 пацієнтів (57 жінок та 56 чоловіків) у гострий період ішемічного інсульту.

Вік хворих на момент огляду варіював від 43 до 91 років, складаючи в середньому $73,62 \pm 8,9$ років. Чоловіків було 56 (49,6%), жінок – 57 (50,4%).

Хворі перебували на стаціонарному лікуванні в І та ІІ неврологічних відділень Київської міської клінічної лікарні №4. Діагноз ішемічного інсульту був підтверджений нейровізуалізаційно (КТ- або МРТ-головного мозку). Всі хворі або їх родичі були попереджені та давали згоду на участь у клінічному дослідженні.

Для об'єктивної оцінки неврологічного дефіциту застосовувались сучасні неврологічні шкали. Вираженість неврологічного дефіциту у хворих оцінювали за шкалою Національного Інституту здоров'я США (NIHSS – National Institute of Health Stroke Scale, USA) на час госпіталізації, на 7-му та на 14-ту добу перебування в стаціонарі. За цією шкалою сумарний бал клінічних проявів від 3 до 8 свідчить про неврологічні порушення легкого ступеня тяжкості, від 9 до 12 – про порушення середнього ступеня тяжкості, від 13 до 15 – тяжкі порушення, більше 15 – про надто тяжкий ступінь неврологічних розладів.

Забір венозної крові проводили пункцією ліктьової вени в першу добу інсульту з 8 до 9 години ранку натще-серце, в пробірку з розчином лимоннокислого натрію (38 г/л) в кінцевому співвідношенні 9:1. Плазму крові та плазму крові, збагачену тромбоцитами отримували згідно рекомендацій для роботи з фотооптичним агрегометром AP2110 "Солар" (Білорусь). Рівень фактора фон Віллебранда визначали у плазмі крові методом імуноферментного аналізу, який проводили за стандартною методикою для розчинних білків (6).

Плазму крові розводили 50 мМ трис-НСІ буфером, рН 7,4 у співвідношенні 1:100 та інкубували у комірках планшетів за 37°C протягом 60 хв. Для видалення реагентів, що не зв'язалися, використовували 50 мМ трис-НСІ буфер, рН 7,4. Блокування неспецифічних місць зв'язування проводили 5% розчином знежиреного молока протягом ночі. Первинні (Millipore, USA) та вторинні (Bio-Rad, USA) антитіла готували відповідно до рекомендацій виробника, інкубацію проводили за 37°C протягом 60 хв. Візуалізацію реакції проводили субстратом для лужної фосфатази за 37°C протягом 60 хв. Оптичне поглинання вимірювали за довжин хвилі 405 нм та 492 нм на мікроридері BioTek Instruments. Відсотковий вміст vWF визначали за калібрувальною кривою.

Контрольна група складалась з 30 осіб, співставимих за основними демографічними показниками та фактора-

ми ризику інсульту з хворими основної групи, однак без гострих порушень мозкового кровообігу (ТІА, ішемічно-геморагічного інсульту) в анамнезі.

Результати та їх обговорення

У всіх обстежених хворих ішемічний інсульт розвинувся на фоні підвищеного систолічного артеріального тиску (САТ). У більшості хворих основної (38 (33,6%) хворих) рівень САТ на початку розвитку перших симптомів захворювання становив 160-179 мм.рт.ст. У 45 (39,8%) хворих діагностована постійна форма миготливої аритмії, у 6 (5,3%) хворих – пароксизмальна форма, у 6 (5,3%) хворих – інфаркт міокарда в анамнезі. У 10 хворих спостерігали поєднання миготливої аритмії та інфаркту міокарда в анамнезі. При проведенні доплерографії у 19 (16,8%) хворих виявлені ознаки стенозувального ураження сонних артерій в екстракраніальному відділі: у 14 хворих – стеноз просвіту каротид до 75%, у 5 – понад 75%. Стенозувальні атеросклеротичні ураження у більшості хворих були двобічними. У 29 хворих був діагностований цукровий діабет (ЦД). Діагноз ЦД вважали достовірним, якщо хворі або їх близькі повідомляли про його наявність в анамнезі, а концентрація глюкози в крові натще була вищою 7,0 ммоль/л у пацієнтів до 50 років і 7,2 ммоль/л – старших 50 років.

За ступенем тяжкості неврологічного дефіциту (рис. 1) найбільша кількість хворих з ішемічним інсультом мали неврологічні порушення легкого ступеня (50 (44,3%) пацієнтів) та середнього ступеня тяжкості (33(29,2%) пацієнтів), менша кількість хворих мали неврологічні порушення важкого (17(15%) пацієнтів) та надто важкого ступенів (13 (11,5%) пацієнтів).

При дослідженні тромбоцитарної ланки системи гемостазу хворих з ішемічним інсультом було виявлено тенденцію до зростання швидкості агрегації тромбоцитів хворих відносно донорів, а також тенденцію до зниження кількості тромбоцитів у плазмі крові. Максимальна амплітуда агрегації хворих з ішемічним інсультом перевищувала показник донорів на 23 % (табл. 1.).

Також нами було поставлено за мету дослідити рівень vWF у гострому періоді ішемічного інсульту. Згідно з літературними даними підвищення рівня vWF у плазмі крові реєструється за наступних патологій: легенева гіпертензія (3), хронічна серцева недостатність (2), ішемічна хвороба серця (7), мігрень (8), а також ішемічний

інсульт на фоні миготливої аритмії (5) та ішемічний інсульт (9), що вказує на те, що vWF є важливим маркером у прогнозуванні тромбозу.

При порівнянні рівня фактору фон Віллебранда у хворих з ішемічним інсультом з пацієнтами контрольної групи, було встановлено достовірне перевищення показника на 62,3% (p<0,05) (рис. 2).

Таблиця 1.

Показники тромбоцитарної ланки гемостазу у хворих з ішемічним інсультом порівняно з групою контролю

Група	Швидкість агрегації тромбоцитів в на 30-й сек., %	Максимальна амплітуда агрегації тромбоцитів, %	Кількість тромбоцитів, ×1000/мкл
Донори	51,58±9,85	66,28±6,51	205,67±47,64
Хворі з ішемічним інсультом	58,05±12,32	81,13±10,87*	145,78±41,47

* – достовірні зміни відносно контролю, p ≤ 0,05.

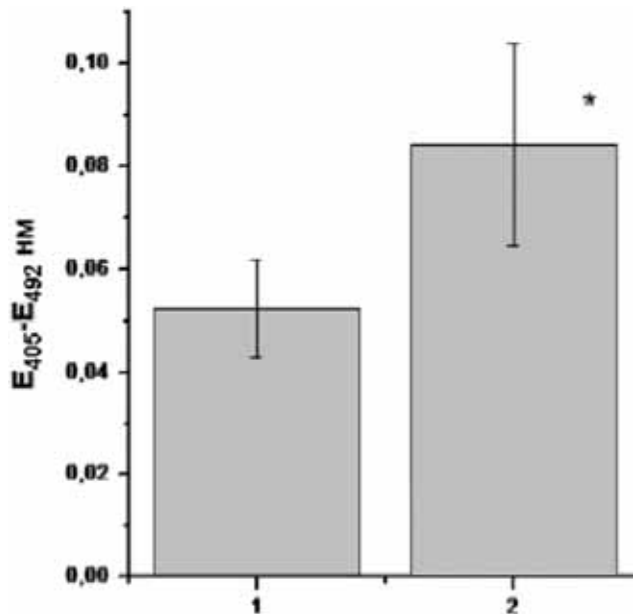


Рис. 2. Рівень фактору фон Віллебранда у плазмі крові

1 – донорів

2 – хворих з ішемічним інсультом

* – достовірні зміни відносно контролю, p ≤ 0,05.

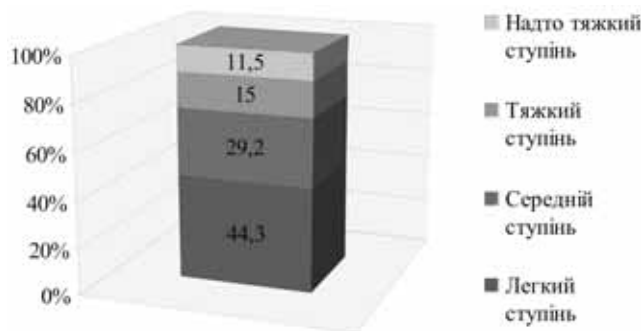


Рис. 1. Вихідний рівень неврологічного дефіциту у хворих з ішемічним інсультом за шкалою NIHSS

Висновки. Нами встановлено, що при ішемічному інсульті реєструється підвищення плазматичного рівня фактору фон Віллебранда, який не лише виступає маркером артеріального тромбозу, а й свідчить про пошкодження та дисфункцію ендотеліальних клітин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Міценко Т.С. Стан неврологічної служби України в 2009 році. — Харків, 2010. — 32 с.
2. Penny W.F., Weinstein M., Salzman E.W., et al. Correlation of circulating von Willebrand factor levels with cardiovascular hemodynamics. *Circulation* 1991;83:1630-1636.
3. Rabinovitch M., Andrew M., Thom H., et al. Abnormal endothelial factor VIII associated with pulmonary hypertension and congenital heart defects. *Circulation* 1987;76: 1043-1052.

4. Sadler J.E. *Biochemistry and genetics of von Willebrand factor.* *Annu Rev Biochem.* 1998;67:395-424.

5. Sato M, Suzuki A, Nagata K, Uchiyama S. *Increased von Willebrand factor in acute stroke patients with atrial fibrillation.* *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2006 Jan-Feb; 15(1):1-7.

6. *Selected methods for antibody and nucleic acid probes / Cold Spring Harbor Laboratory Press. – USA, 1993.*

7. Spiel A.O., Gilbert J.C. and Jilma B. *Von Willebrand Factor in Cardiovascular Disease: Focus on Acute Coronary Syndromes.* *Circulation.* 2008; 117: 1449-1459.

8. Tietjen G.E., Al-Qasbi M.M., Athanas K., et al. *Increased von Willebrand factor in migraine.* *Neurlogy* 2001;57: 334-336.

9. Wieberdink R.G., van Schie M.C., Koudstaal P.J. et al. *High von Willebrand Factor Levels Increase the Risk of Stroke: The Rotterdam Study.* *Stroke.* 2010;41:2151-2156.

УРОВЕНЬ ФАКТОРА ФОН ВИЛЛЕБРАНДА У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

Кравченко Н.К.¹, Мельник В.С.², Савчук О.М.¹

¹ Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, ННЦ "Институт Биологии", г. Киев, Украина

² Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

Резюме. Определено, что при ишемическом инсульте регистрируется повышение плазменного уровня фактора фон Виллебранда.

Ключевые слова: ишемический инсульт, фактор фон Виллебранда, тромбоциты.

VON WILLEBRAND FACTOR LEVEL IN PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE

N. Kravchenko¹, V. Melnyk², O. Savchuk¹

¹ Taras Shevchenko National University of Kyiv ESC "Institut of biology", Kyiv, Ukraine

² Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Summary. Our results may indicate that a significant contribution to the elevation of von Willebrand factor level in blood plasma belongs to endothelial cells, dysfunction of which is more pronounced in patients with ischemic stroke.

Key words: ischemic stroke, von Willebrand factor, platelets.
