

В.Н. Крамарьова

ФАКТОР ВІЛЛЕБРАНДА ТА АНТИКОАГУЛЯНТНА АКТИВНІСТЬ ПРОТЕЇНУ С У ХВОРИХ НА ЕСЕНЦІАЛЬНУ АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Ключові слова: есенціальна артеріальна гіпертензія, протеїн С, фактор Віллебранда, кардіоваскулярний ризик
Key words: essential hypertension, cardiovascular risk, protein C level, von Willebrand factor activity

Резюме. Целью исследования была оценка уровня антикоагулянта протеина С и активности фактора Виллебранда у 40 больных эссенциальной АГ в возрасте 28-60 лет (в среднем 50,2±5,8 года). У 17 больных был низкий-средний риск сердечно-сосудистых осложнений (1-я группа), у 23 больных – высокий-очень высокий (2-я группа). Изучались уровень протеина С и активность фактора Виллебранда. Выявлено, что уровень протеина С и активность фактора Виллебранда достоверно выше у больных эссенциальной АГ 2 группы по сравнению с 1 группой. У больных 2 группы уровень протеина С и активность фактора Виллебранда коррелировали между собой, также коррелировали уровень протеина С, возраст и содержание липопротеидов низкой плотности.

Summary. The aim of the study was to evaluate plasma level of anticoagulant protein C and von Willebrand factor (vWF) activity in 40 essential hypertension (EH) patients aged 28 – 60 years (mean 50,2±5,8 years). 17 patients (group one) had low cardiovascular risk, 23 patients (group two) had high-very high cardiovascular risk. Protein C level and vWF activity were analyzed. Protein C level and vWF activity we found to be higher in EH patients, group 2 as compared to patients of group 1. Protein C level and vWF activity was found to be correlative, protein C level, age and low density lipoprotein (LDL) level were correlative too in EH patients with high cardiovascular risk (2 group).

Фактор Віллебранда (vWF) - мултимерний глікопротеїн, який бере участь у судинно-тромбоцитарному гемостазі в реакціях взаємодії тромбоцитів із пошкодженою судинною стінкою. У плазмі здорової людини vWF складається з субодиниць, які мають специфічні ділянки зв'язування з рецепторами тромбоцитарної мембрани – глікопротеїнами Іb і ІІb/ІІІa та з субендотеліальними структурами судинної стінки – колагеном, гепарином. Велика кількість місць зв'язування збільшує взаємодію тромбоцитів із пошкодженою ділянкою судинної стінки. Фактор Віллебранда в невеликій кількості синтезується в мегакаріюцитах, з яких надходить у тромбоцити і зберігається в альфа-гранулах. Основна частка vWF синтезується в клітинах ендотелію, звідки він із постійною швидкістю поступає у кровотік. Частина vWF, що синтезується ендотеліальними клітинами, надходить у субендотеліальний матрикс для взаємодії тромбоцитів із пошкодженими судинами. Насамперед, субендотеліальне депо забезпечує ефективну адгезію тромбоцитів і гемостаз у разі пошкодження ендотеліальної поверхні судин [11]. Друга частина залишається у самій ендотеліальній клітині та зберігається в ній у спеціальних гранулах - тільцях Паладі, звідки надходить у відповідь на специфічні стимули, наприклад, тромбін, адре-

налін, іонофори кальцію та інше. У альфа-гранулах та тільцях Паладі знаходяться найбільші і біологічно найактивніші молекули vWF, які мають максимальну кількість місць зв'язування. Звільнення фактору Віллебранда з депо і зростання його рівня у плазмі крові має певне значення у розвитку тромбоцитарних ускладнень і атерогенезі [2].

Важлива роль у протизгортувальному потенціалі крові належить системі природного антикоагулянта – протеїну С. Протеїн С порівняно недавно був виділений з бичого протромбінового комплексу, а потім із плазми крові людини [9,15]. Протизгортувальна система протеїну С включає в себе протеїн С, його кофактор – протеїн S, ендотеліальний фактор – тромбомодулін, тромбін – фізіологічний активатор протеїну С, інгібітор протеїну С.

Система протеїн С – тромбомодулін - протеїн S синтезується у гепатоцитах за участю вітаміну К і активує тромбін на рівні ендотеліальних клітин. Тромбін з'єднується з тромбомодуліном і активує протеїн С. Активований протеїн С виявляє антикоагулянтні властивості: вибірково розщеплює фактори VIIIa і Va, інактивує інгібітори тканинного активатора плазміногену, перешкоджаючи появі фібринового згустку [7,12].

Таким чином, кінцева дія системи протеїну С направлена на блокування факторів згортання крові VIIIa и Va та активацію фібринолізу. Знижений рівень протеїну С є фактором підвищеного ризику виникнення тромбозів [1].

У хворих на есенціальну артеріальну гіпертензію (АГ) ризик розвитку атеросклерозу та тромботичних ускладнень є досить значним. У зв'язку з цим становить інтерес вивчення активності фактору Віллебранда – білку, який стимулює початок тромбоутворення, і показника протизгортувальної системи крові - протеїну С у хворих на есенціальну АГ.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Обстежено 40 хворих на есенціальну артеріальну гіпертензію 1-2 ступеня, в тому числі 18 жінок та 22 чоловіки у віці від 28 до 60 років (в середньому 50,2±5,8 року), згідно з критеріями ВООЗ/МОАГ (1999) (8).

У 2 (5%) хворих на момент включення в дослідження відмічалася стабільна стенокардія I-II функціонального класу. Інфаркт міокарда в анамнезі був у 3 (7,5%) хворих, ішемічний інсульт – в 1 (2,5%) хворого. Дисліпідемія спостерігалася у 32 (80%) хворих, курили 15 (37,5%) хворих. Цукровим діабетом 2-го типу (ЦД) страждали 6 (10,5%) хворих. Середній індекс маси тіла склав 27,1±1,3 кг/м². Хворі на ЦД були обстежені в стані задовільної клініко-метаболічної компенсації. Групу контролю склали 12 здорових осіб.

Показники активності фактору Віллебранда та рівень природного антикоагулянта – протеїну С визначали імуноферментним методом ELISA із застосуванням наборів реактивів фірми «Technoclone» (Австрія).

Вміст загального холестерину (ХС), тригліцеридів (ТГ) визначали за допомогою наборів фірми «Human» (Німеччина) на біохімічному поліаналізаторі «Human», рівень ХС ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) – тим самим методом після осадження з сироватки крові апоВ-вмісних ліпопротеїдів розчином 1,1 мМ фосфовольфрамату натрію з 45 мМ MgCl₂. Рівень ХС ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ) розраховували за формулою Фрідвальда [5].

Усі хворі були розподілені на 2 групи за величиною сумарного кардіоваскулярного ризику, що розраховувався згідно з Європейськими рекомендаціями з профілактики серцево-судинних захворювань [4]: 1-а група – пацієнти низького-середнього ризику (17 хворих), 2-а

група – високого-дуже високого ризику (23 хворих).

Статистичні дані надані у вигляді середніх арифметичних значень і стандартного відхилення (Mean±SD). Достовірність різниці оцінювали за критерієм t-Стюдента. Аналіз кореляційних взаємозв'язків біохімічних показників здійснювали за допомогою коефіцієнтів рангової кореляції Спірмена. Результати вважались достовірними при p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Клініко-біохімічні показники в обстежених хворих надані в таблиці 1.

Вихідні показники системи гемостазу в обстежених хворих надані в таблиці 2.

Таблиця 1

Клінічна характеристика хворих

Показники	Хворі на АГ (n=40)
Вік, роки	50,2±5,8
Чоловіки/жінки, %	55/45
ІМТ, кг/м ²	27,1±1,3
Паління, %	37,5
Стабільна стенокардія I-II функ.кл., %	5,0
Інфаркт міокарда в анамнезі, %	7,5
Ішемічний інсульт в анамнезі, %	2,5
Цукровий діабет, %	10,5
САТ, мм рт. ст.	157,2±4,2
ДАТ, мм рт. ст.	87,0±3,3
Загальний ХС, ммоль/л	5,8±1,2
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	0,8±0,3
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	3,3±0,5
ТГ, ммоль/л	1,9±0,2
Глюкоза крові, ммоль/л	5,0±0,5

Як видно з таблиці, у хворих на есенціальну АГ с низьким і середнім кардіоваскулярним ризиком показники vWF і протеїну С суттєво не відрізняються від норми, у той час як у хворих з високим-дуже високим ризиком різниця в порівнянні з контролем достовірна.

Проведений кореляційний аналіз виявив прямий взаємозв'язок між досліджуваними показниками (p<0,05).

Показники активності фактору Віллебранда та рівень протеїну С у хворих на есенціальну АГ різного кардіоваскулярного ризику (M±m)

Показник	1-а група: хворі на АГ з низьким-середнім ризиком (n=17)	2-я група: хворі на АГ з високим-дуже високим ризиком (n=23)	Здорові (n=12)
Фактор Віллебранда, u/мл	0,47±0,16	0,78±0,22*	0,25±0,1
Протеїн С, %	43,5±4,4	49,7±2,3*	40,2±3,2

Примітка: * - $p < 0,05$ при порівнянні показника з контролем

Відомо, що фактор Віллебранда синтезується ендотелієм у відповідь на його пошкодження або активацію тромбіном та ініціює початок тромбоутворення [2]. У відповідь на збільшення тромбогенного потенціалу крові відбувається активація антикоагулянтної і фібринолітичної систем плазми крові, зокрема, збільшення рівня фізіологічного антикоагулянту - протеїну С. У хворих на есенціальну АГ функція ендотелію змінена, у зв'язку з чим порушується синтез згортуючих та протизгортуючих протеїназ [13]. Прогностично несприятливим є збільшення активності фактора Віллебранда та зниження вмісту протеїну С, що ми спостерігали у хворої М. із цукровим діабетом, у котрої на тлі високої активності фактора Віллебранда і низького рівня протеїну С розвинулось гостре порушення мозкового кровообігу.

Слід зазначити, що у хворих на есенціальну АГ без ЦД схожі величини досліджуваних показників у жодному випадку не призвели до розвитку судинних ускладнень. Вищенаведені параметри системи гемостазу є показниками високого тромбогенного ризику, зокрема у хворих на есенціальну АГ із супутнім ЦД.

У нашому дослідженні визначений прямий кореляційний зв'язок між віком хворих та рівнем протеїну С. За даними літератури, подібний взаємозв'язок встановлений у здорових осіб [17] і хворих на ІХС [3]. У дослідженні MONICA показано, що з віком активність факторів VII, VIII, IX збільшується в більшому ступені, ніж інгібіторів згортання, що призводить до активації системи згортання крові. Це реєструється за збільшенням у плазмі крові рівня маркерів активації - протромбіну та комплексів тромбін-антипротромбін [10].

У хворих на есенціальну АГ високого-дуже

високого ризику також був виявлений прямий достовірний взаємозв'язок між рівнем протеїну С та вмістом холестерину ЛПНЩ ($p < 0,05$). Можливо, цитотоксичні ліпопротеїни низької щільності, ушкоджуючи ендотелій судин, вивільняють білок тромбомодулін з ендотеліальної мембрани, котрий, у комплексі з тромбіном, активує протеїн С [6].

Таким чином, зростання рівня протеїну С відображає спроможність ендотелію інактивувати тромбін, що призводить до блокування факторів згортання крові і, таким чином, запобігає процесам тромбоутворення.

У літературі підкреслюється важливість достатньої активації протеїну С. Показано, що зростання резистентності до активованого протеїну С є незалежним предиктором атеросклерозу сонних і стегнових артерій [8]. Точкова мутація в гені V фактора згортання крові (фактор V Leiden) супроводжується резистентністю до активованого протеїну С, збільшенням ризику розвитку інфаркту міокарда у жінок у віці від 18 до 44 років і становить 10% у порівнянні з 4% у групі контролю [14].

ПІДСУМОК

Нами було встановлено, що у хворих на есенціальну АГ високого-дуже високого ризику в цілому по групі збільшена активність фактора Віллебранда і рівень протеїну С. Ці показники корелюють між собою, а рівень протеїну С корелює з вмістом ХС ЛПНЩ. Збільшення активності фактору Віллебранда свідчить про порушення гемостазіологічної функції ендотелію, при цьому компенсаторно зростає рівень протеїну С. Недостатньо високий рівень протеїну С може бути додатковим фактором ризику розвитку тромботичних ускладнень, особливо у хворих на есенціальну АГ із супутнім ЦД.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Aiach M. Protein C and protein S deficiencies // *Semin Hematol.* – 1997. – Vol. 34, N3. – P. 205-216.
2. Blann A.D. Von Willebrand factor and the endothelium in vascular disease // *Brit. J. Biomed. Sci.* – 1993. – Vol. 50. – P. 125-129.

3. Caroll V.A. Plasma protein C inhibitor is elevated in survivors of myocardial infarction // *Arter. Thromb. Vasc. Biol.* – 1997. – Vol. 17, N 1. – P. 114-118.
4. European guidelines in cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force of European and other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (Constituted by representatives of eight societies and by invited experts) // *Eur. Heart. J.* – 2003. – Vol. 24. – P. 1601-1610.
5. Friedwald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge // *Clin Chem.* – 1972. – Vol. 18. – P. 499-502.
6. Griffin J.H. High-density lipoprotein enhancement of anticoagulant activities of plasma protein S and activated protein C // *J. Clin. Invest.* – 1999. – Vol. 103. – P. 219-227.
7. Griffin J.H., Evantt B.L., Wideman C. Anticoagulant protein C pathway defective in a majority of thrombophilic patients // *Blood.* – 1993. – Vol. 92. – P. 989-993.
8. Kiech S. Poor response to activated protein C as a prominent risk predictor of advanced atherosclerosis and arterial disease // *Circulation.* – 1999. – Vol. 99. – P. 614-619.
9. Kisiel W. Human plasms protein C. Isolation, characterization and mechanism of activation by alpha-thrombin // *J. Clin. Invest.* – 1979. – Vol. 64. – P. 761-769.
10. Lowe G.D.O. Epidemiology of coagulation factors, inhibitors and activation markers: The Third Glasgow MONICA Survey I. Illustrative reference ranges by age, sex and hormone use // *Br. J. Haematol.* – 1997. – Vol. 97. – P. 775-784.
11. Mannucci P.M. Von Willebrand factor: a marker of endothelial damage // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 1998. – Vol. 18. – P. 135-136.
12. Odegaard B.R., Mann K.G. Proteolysis of Factor Va by Factor Xa and activated protein C // *J. Biol. Chem.* – 1987. – Vol. 262, N 23. – P. 1233-1238.
13. Panza J.A. Endothelial dysfunction in essential hypertension // *Clin. Cardiol.* 1997. – Vol. 20, Suppl II. – P. 26-33.
14. Rosendaal R.F. FactorV Leiden (resistance to activated protein C) increases the risk of myocardial infarction in young woman // *Blood.* – 1997. – Vol. 89, N 8. – P. 2817-2821.
15. Stenflo G. A new vitamin K-dependent protein purification from bovine plasma and preliminary characterization // *J. Biol. Chem.*-1976.-Vol.251.-P. 355-359.
16. World Health Organization – International Society of Hypertension. Guidelines for the management of hypertension // *J. Hypertens.*-1999.-Vol.17, N2.-P.151-183.
17. Vincenot A., Gaussem P. Physiology and cellular regulation of the protein C system // *Ann. Biol. Clin.* – Paris 1997. – Vol. 55, N 1. – P. 17-24.

