



В. Р. ГЕРАСИМЧУК

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

Вплив стану про- та антиоксидантної систем на судинно-тромбоцитарну ланку гемостазу у хворих у ранній відновний період ішемічного інсульту

Мета — вивчити та оцінити вплив стану про- та антиоксидантної систем на судинно-тромбоцитарну ланку гемостазу у хворих у ранній відновний період ішемічного інсульту (ІІ).

Матеріали і методи. Обстежено 52 пацієнтів через 1 міс після атеротромботичного гемісферного ІІ. Стан судинно-тромбоцитарного гемостазу оцінювали за ступенем, часом та швидкістю агрегації, кількістю тромбоцитів і активністю фактора фон Віллебранда (vWF), стан про- та антиоксидантної систем — за вмістом продуктів окисної модифікації білків, активністю глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази.

Результати. У хворих після перенесеного інсульту спостерігали вірогідне збільшення вмісту продуктів окисної модифікації білків на тлі зниженої активності глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази ($p < 0,05$). Підвищення активності процесів окисдації зі зростанням концентрації продуктів окисної модифікації білків супроводжувалося активізацією судинно-тромбоцитарного гемостазу зі збільшенням активності vWF ($r_s = 0,61$; $p = 0,009$) та швидкості агрегації тромбоцитів ($r_s = 0,49$; $p = 0,031$).

Висновки. Дисбаланс між про- та антиоксидантною системами у ранній відновний період ІІ корелює з показниками судинно-тромбоцитарного гемостазу з тенденцією до збільшення ступеня та швидкості агрегації тромбоцитів і активності vWF, що може впливати на перебіг відновного періоду ІІ та підвищувати ризик розвитку повторного інсульту.

Ключові слова: ішемічний інсульт, ранній відновний період, судинно-тромбоцитарний гемостаз, фактор фон Віллебранда, окисна модифікація білків.

Ішемічний інсульт (ІІ) — одна з найбільш значущих медико-соціальних проблем. Щороку в Україні реєструють понад 100 тис. випадків мозкових інсультів. Близько 25—30 % хворих після перенесеного інсульту залишаються інвалідами і потребують сторонньої допомоги, а до трудової діяльності повертаються лише 10—12 % пацієнтів [6].

Провідною ланкою в патогенезі ІІ є порушення системи гемостазу [3, 4]. Важливу роль у забезпеченні гемостазу відіграє фактор фон Віллебранда (vWF), який при пошкодженні судинної стінки сприяє зв'язуванню глікопротеїну Іb тромбоцитів та їх прикріпленню до субендотеліального колаге-

нового матриксу, а також бере участь у міжтромбоцитарній взаємодії шляхом зв'язування глікопротеїну ІІа/ІІІb [8]. Цей фактор активується також при пошкодженні ендотелію судин, виступаючи посередником адгезії та агрегації тромбоцитів. Тому vWF розглядають як один із маркерів ендотеліальної дисфункції, а підвищення його рівня та активності у крові має важливе значення для прогнозу розвитку первинного та повторного ІІ [2, 9, 10].

Дисбаланс між про- та антиоксидантною системами відіграє важливу роль у розвитку ІІ, що характеризується активізацією процесів переокиснення ліпідів (ПОЛ) та дестабілізацією антиоксидантної системи. Активізація процесів ПОЛ відбувається вже на ранніх етапах ішемічного пошко-

© В. Р. Герасимчук, 2016

дження мозкової тканини і триває у відновний період захворювання [7]. Окрім ПОЛ, оксидантний стрес супроводжується дестабілізацією та деструкцією білкових компонентів клітинних мембран і збільшенням вмісту продуктів окисної модифікації білків (ОМБ). Деякі дослідження засвідчили вплив продуктів ПОЛ на функціональну здатність тромбоцитів і стан судинно-тромбоцитарного гемостазу [1, 5], проте даних щодо взаємозв'язку між процесами ОМБ та агрегацією тромбоцитів у пацієнтів після перенесеного ІІ недостатньо, що зумовлює актуальність вивчення цього питання.

Мета роботи — вивчити та оцінити вплив стану про- та антиоксидантної систем на судинно-тромбоцитарну ланку гемостазу у хворих у ранній відновний період ішемічного інсульту.

Матеріали і методи

Обстежено 52 пацієнтів (29 чоловіків і 23 жінок, середній вік — $(60,46 \pm 3,49)$ року) в ранній відновний період атеротромботичного гемісферного ІІ (основна група). До контрольної групи залучено 15 осіб, репрезентативних за віком та співвідношенням статей, без анамнезу гострих порушень мозкового кровообігу і тяжкої соматичної патології. Критеріями вилучення з дослідження були: геморагічний інсульт, повторний ІІ, кардіоемболічний ІІ, ІІ у вертебробазиллярному басейні, нечутливість до ацетилсаліцилової кислоти в гострий період ІІ за даними агрегометрії (ступінь агрегації $\geq 50\%$), наявність декомпенсованої соматичної патології.

Дослідження проведено на базі відділення судинної неврології Івано-Франківської обласної клінічної лікарні. Перед залученням у дослідження в усіх пацієнтів отримано інформовану згоду. Підбір хворих проводили у гострий період ІІ. Після виписки зі стаціонару пацієнтів обстежували через 1 місяць після перенесеного ІІ.

Усі хворі отримували базисну терапію для вторинної профілактики інсульту (антиагреганти (ацетилсаліцилова кислота — 75—100 мг/добу), антигіпертензивні та ліпідознижувальні препарати (аторвастатин у дозі 20—40 мг/добу)) згідно з наказом МОЗ України № 602 від 03.08.2012 р.

Стан судинно-тромбоцитарного гемостазу досліджували за допомогою фотооптичного агрегометра AP2110 «Солар» (Білорусь) з індуктором агрегації адреналіном у концентрації 5,0 мкмоль/л. Визначали ступінь, час і швидкість агрегації, кількість тромбоцитів та активність vWF.

Рівень продуктів ОМБ у сироватці крові визначали за методом Є. Є. Дубініної (1995). Залежно від переважання в молекулах білка амінокислот нейтрального (валін, лейцин, ізолейцин тощо) або основного (лізин, аргінін та ін.) характеру утворюються альдегід- або кетопохідні нейтрального або основного характеру, які мають різні діапазони спектра поглинання. Оптичну густину продуктів ОМБ реєстрували на спектрофотометрі при довжині хвилі 356 і 370 нм (альдегід- та кетопохідні фенілгідразонів нейтрального характеру (АФГ_н і КФГ_н)), 430 і 530 нм (альдегід- та кетопохідні фенілгідразонів основного характеру (АФГ_о і КФГ_о)). Вміст похідних визначали в одиницях оптичної густини на 1 мл сироватки крові (од./мл) при різній довжині хвилі поглинання.

Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю глутатіонредуктази (ГР) та глутатіонпероксидази (ГП). Активність ГП визначали спектрофотометрично за допомогою реєстрації екстинкції окисненого глутатіону при довжині хвилі 260 нм, а ГР — за зміною концентрації НАДФ при довжині хвилі 340 нм.

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням пакета статистичного аналізу даних Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.) та MS Excel, параметричних і непараметричних методів оцінки результатів. Результати наведено у вигляді медіани (Me) і міжквартильного інтервалу (Q25%; Q75%). Наявність кореляційного зв'язку оцінювали за допомогою коефіцієнта рангової кореляції Спірмена. Статистично значущою вважали різницю між порівнюваними вибірками у разі $p < 0,05$.

Результати та обговорення

При дослідженні системи судинно-тромбоцитарного гемостазу виявлено суттєві відмінності між показниками осіб основної і контрольної груп (табл. 1). Так, у пацієнтів основної групи макси-

Т а б л и ц я 1

Стан системи судинно-тромбоцитарного гемостазу у хворих у ранній відновний період ішемічного інсульту, Me (Q25%; Q75%)

Показник	Основна група	Контрольна група
Ступінь агрегації, %	15,5 (9,5; 27,5)*	45,6 (37,4; 65,6)
Час агрегації, хв:с	6:48 (5:52; 7:12)	5:08 (4:49; 6:17)
Швидкість агрегації, %/хв	13,2 (10,5; 17,8)*	5,2 (4,8; 7,6)
Фактор фон Віллебранда, %	93,2 (79,4; 122,5)*	54,3 (37,6; 65,5)
Кількість тромбоцитів, тис./мкл	280,3 (210,2; 302,5)	256,2 (220,8; 280,7)

* Статистична значущість різниці щодо контрольної групи ($p < 0,05$).

мальний ступінь агрегації тромбоцитів був вірогідно нижчим порівняно із контрольною групою ($p < 0,05$), що зумовлено прийомом профілактичних доз ацетилсаліцилової кислоти. Проте, незважаючи на зниження ступеня агрегації, у хворих після перенесеного інсульту виявлено вірогідно вищі показники швидкості агрегації тромбоцитів та активності vWF ($p < 0,05$). Підвищення активності vWF може бути виявом ендотеліальної дисфункції у пацієнтів після перенесеного ІІ.

Установлено вияви оксидантного стресу у хворих після перенесеного ІІ. У пацієнтів основної групи спостерігали підвищення рівня продуктів ОМБ у сироватці крові (табл. 2), із вірогідним збільшенням концентрації всіх фракцій ОМБ порівняно із контрольною групою ($p < 0,05$). Як у основній, так і у контрольній групі, більша частка утворених продуктів ОМБ належала до альдегід- і кетопохідних фенілгідрозонів нейтрального характеру, проте рівень АФГ_н (356 нм) в основній групі був вищим на 31,9% порівняно із контрольною групою, рівень КФГ_н (370 нм) — на 28,9% ($p < 0,05$). Більш суттєві відмінності між групами виявлено при дослідженні концентрації похідних фенілгідрозонів нейтрального характеру: рівень АФГ_о (430 нм) в основній групі був на 77,4% вищим

($p < 0,05$), а рівень КФГ_о (530 нм) — на 130,4% вищим, ніж у контрольній групі ($p < 0,01$).

У групі хворих після перенесеного ІІ виявлено зниження антиоксидантної активності сироватки крові. Рівні активності ГР та ГП були вірогідно нижчими порівняно із показниками практично здорових осіб: відповідно 0,035 (0,019; 0,038) та 0,049 (0,061; 0,079) нмоль/(хв · мг) ($p < 0,05$), 0,27 (0,18; 0,26) і 0,38 (0,29; 0,46) мкмоль/(хв · мг) ($p < 0,05$).

Кореляційний аналіз виявив взаємозв'язок між показниками судинно-тромбоцитарного гемостазу і станом про- та антиоксидантної систем (табл. 3). Підвищення активності процесів окисдації зі зростанням концентрації ОМБ супроводжувалося активізацією судинно-тромбоцитарного гемостазу зі збільшенням активності vWF ($r_s = +0,59$; $p = 0,009$) та швидкості агрегації тромбоцитів ($r_s = +0,49$; $p = 0,031$). Найбільший вплив на активність vWF мали АФГ_о (430 нм) ($r_s = +0,62$; $p = 0,0056$) та КФГ_о (530 нм) ($r_s = +0,64$; $p = 0,00082$). Аналогічну тенденцію спостерігали при дослідженні зв'язку між швидкістю агрегації та вмістом фракцій ОМБ. Обернено пропорційний кореляційний зв'язок середньої сили виявлено між активністю vWF та ГП ($r_s = -0,39$; $p = 0,044$), а також між швидкістю агрегації та ГП ($r_s = -0,29$; $p = 0,038$).

Отримані результати свідчать, що у хворих у ранній відновний період ІІ спостерігаються порушення судинно-тромбоцитарного гемостазу зі збільшенням швидкості агрегації тромбоцитів та активності vWF порівняно з особами без гострої цереброваскулярної патології. Підвищення активності vWF може бути виявом ендотеліальної дисфункції внаслідок атеросклеротичного ураження судинної стінки [2, 8]. Крім того, високі концентрації ОМБ вказують на те, що процеси оксидантного стресу, характерні для гострого періоду інсульту, тривають і у ранній відновний період ІІ. Це супроводжується зниженням активності антиоксидантної системи, маркерами якої є ГП та ГР.

Виявлена тенденція може бути важливою з огляду на її вплив на ризик розвитку повторного

Т а б л и ц я 2

Рівень продуктів окисної модифікації білків у сироватці крові хворих у ранній відновний період ішемічного інсульту, Ме (Q25 %; Q75 %)

Продукт ОМБ	Основна група	Контрольна група
АФГ _н (356 нм)	2,26 (1,98; 2,57)*	1,713 (1,41; 1,922)
КФГ _н (370 нм)	2,07 (1,79; 2,12)*	1,606 (1,512; 1,756)
АФГ _о (430 нм)	0,91 (0,76; 0,98)*	0,513 (0,479; 0,63)
КФГ _о (530 нм)	0,053 (0,035; 0,062)*	0,023 (0,015; 0,029)

* Статистична значущість різниці щодо контрольної групи ($p < 0,05$).

Т а б л и ц я 3

Кореляційні зв'язки між показниками судинно-тромбоцитарного гемостазу і про- та антиоксидантної систем

Показник	vWF		Швидкість агрегації		Ступінь агрегації		Час агрегації	
	r_s	p	r_s	p	r_s	p	r_s	p
Сумарна концентрація продуктів окисної модифікації білків	0,61	0,009	0,49	0,031	0,22	0,048	-0,19	0,056
АФГ _н (356 нм)	0,54	0,0416	0,33	0,053	0,32	0,096	-0,42	0,723
КФГ _н (370 нм)	0,57	0,0298	0,31	0,046	0,26	0,068	-0,29	0,804
АФГ _о (430 нм)	0,62	0,0056	0,48	0,0378	0,29	0,0784	-0,25	0,438
КФГ _о (530 нм)	0,64	0,00082	0,56	0,0169	0,21	0,0415	-0,37	0,068
Глутатіонпероксидаза	-0,41	0,044	-0,29	0,038	-0,28	0,062	0,4	1,071
Глутатіонредуктаза	-0,34	0,056	-0,23	0,052	-0,33	0,094	0,18	1,08

інсульту, перебіг відновного періоду II та вибір тактики вторинної профілактики II.

Висновки

Для раннього відновного періоду ішемічного інсульту характерні порушення судинно-тромбоцитарного гемостазу із тенденцією до збільшення ступеня і швидкості агрегації тромбоцитів та активності фактора фон Віллебранда.

Процеси оксидантного стресу і дисбаланс між про- та антиоксидантною системами, притаманні гострому періоду II, тривають і у відновний період захворювання.

Дисбаланс між про- та антиоксидантною системами корелює із показниками судинно-тромбоцитарного гемостазу, що може впливати на перебіг відновного періоду II та підвищувати ризик розвитку повторного інсульту.

Література

1. Гудкова Т.В., Мирсаева Г.Х., Камилов Ф.Х., Фазлыева Р.М. Перекисное окисление липидов в тромбоцитах и сосудисто-тромбоцитарный гемостаз у больных с хроническим первичным пиелонефритом // Нефрол. — 2005. — Т. 9, № 3. — С. 70—74.
2. Кравченко Н.К., Мельник В.С., Савчук О.М. Рівень фактора фон Віллебранда у хворих з ішемічним інсультом // Укр. наук.-мед. молод. журн. — 2014. — № 1 (79). — С. 73—75.
3. Сметрина Е.Г., Прокопенко С.В., Ионова В.Г. и др. Состояние системы гемостаза и функции эндотелия при различных подтипах ишемического инсульта в остром и восстановительном периодах // Бюл. сибир. мед. — 2009. — № 1 (2). — С. 72—78.
4. Степанова Ю.И., Гончар И.А., Лихачев С.А. Характеристика агрегационной способности тромбоцитов у пациентов с инфарктом мозга при выраженном стенозе церебральных артерий // Саратов. науч.-мед. журн. — 2012. — Т. 8, № 3. — С. 770—774.
5. Сулова Т.Е., Груздева О.В., Кременко С.В. и др. Агрегационная активность тромбоцитов и биохимические маркеры метаболического синдрома // Сибир. мед. журн. — 2011. — Т. 22, № 3. — С. 30—34.
6. Хобзей Н.К., Мищенко Т.С., Голик В.А. Особенности эпидемиологии инвалидности при заболеваниях нервной системы в Украине // Междунар. неврол. журн. — 2011. — № 5. — С. 15—19.
7. Cojocaru I.M., Cojocaru M., Sapira V., Ionescu A. Evaluation of oxidative stress in patients with acute ischemic stroke // Romanian J Internal Medicine. — 2013. — Vol. 51 (2). — P. 97—106.
8. Van Schie M. C., de Maat M. P., Isaacs A. et al. Variations in the von Willebrand factors gene is associated with von Willebrand factors levels and with the risk of cardiovascular disease // Blood. — 2011. — Vol. 117. — P. 1393—1399.
9. Wieberdink R. G., van Schie M. C., Koudstaal P.J. et al. High von Willebrand factor level increases the risk of stroke: the Rotterdam study // Stroke. — 2010. — Vol. 41. — P. 2151—2156.
10. Woodward M., Lowe G.D., Campbell D.J. et al. Associations of inflammatory and hemostatic variables with the risk of recurrent stroke // Stroke. — 2005. — Vol. 36. — P. 2143—2147.

В. Р. ГЕРАСИМЧУК

ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет»

Влияние состояния про- и антиоксидантной систем на сосудисто-тромбоцитарное звено гемостаза у больных в ранний восстановительный период ишемического инсульта

Цель — изучить и оценить влияние состояния про- и антиоксидантной системы на сосудисто-тромбоцитарное звено гемостаза у больных в ранний восстановительный период ишемического инсульта (ИИ).

Материалы и методы. Обследованы 52 пациента через 1 мес после перенесенного атеротромботического полушарного ИИ. Состояние сосудисто-тромбоцитарного гемостаза оценивали по степени, времени и скорости агрегации, количеству тромбоцитов и активности фактора фон Виллебранда (vWF), состояние про- и антиоксидантной систем — по содержанию продуктов окислительной модификации белков, активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы.

Результаты. У больных после перенесенного инсульта наблюдали достоверное увеличение содержания продуктов окислительной модификации белков на фоне сниженной активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы ($p < 0,05$). Повышение активности процессов окислации с увеличением концентрации продуктов окислительной модификации белков сопровождалось активизацией сосудисто-тромбоцитарного гемостаза с увеличением активности vWF ($r_s = +0,61$; $p = 0,009$) и скорости агрегации тромбоцитов ($r_s = +0,49$; $p = 0,031$).

Выводы. Дисбаланс между про- и антиоксидантной системами в ранний восстановительный период ИИ коррелирует с показателями сосудисто-тромбоцитарного гемостаза с тенденцией к увеличению степени и скорости агрегации тромбоцитов и активности фактора фон Виллебранда, что может влиять на течение восстановительного периода II и повышать риск развития повторного инсульта.

Ключевые слова: ишемический инсульт, ранний восстановительный период, сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, фактор фон Виллебранда, окислительная модификация белков.

V. R. GERASYMCHUK

Ivano-Frankivsk National Medical University

Influence of pro- and antioxidative system status on the vascular and platelet hemostasis in patients in the early recovery period of ischemic stroke

Objective — to study and evaluate the influence of the status of the pro- and antioxidative system on the vascular and platelet hemostasis in patients in the early recovery period of ischemic stroke (IS).

Methods and subjects. The study involved 52 patients 1 month following atherothrombotic hemispheric IS. Status of vascular and platelet hemostasis was assessed by degree, rate and time of platelets aggregation, number of platelets and activity of von Willebrand factor (vWF). Status of pro- and antioxidative system was evaluated by the content oxidative modification of proteins (OMP) products, the activity of glutathione peroxidase (GP) and glutathione reductase (GR).

Results. In patients after stroke significant elevated level of OMP products was observed against the background of decreased activity of GP and GR ($p < 0.05$). Increased activity of oxidation processes with high concentrations of OMP products was accompanied with activation of vascular and platelet hemostasis with an increased vWF activity ($r = 0.61$; $p = 0.009$) and platelets aggregation rate ($r = 0.49$; $p = 0.031$).

Conclusions. Disbalance of pro- and antioxidative systems in the early recovery period of IS correlates with the vascular and platelet hemostasis indexes with a tendency to increase rate of platelet aggregation and von Willebrand factor activity, that can influence the course of the recovery period of IS and increase the risk of recurrent stroke.

Key words: ischemic stroke, early recovery period, vascular and platelet hemostasis, von Willebrand factor, oxidative modification of proteins.