

БИОЛОШКАТА АКТИВНОСТ НА ФОН ВИЛЕБРАНДОВИОТ ФАКТОР КАЈ БУБРЕЖНИ И ХЕМОДИЈАЛИЗНИ БОЛНИ

П. Дејанов¹, И. Дејанов², М. Поленаковиќ², А. Ончевски¹,
А. Шиколe¹, Б. Дејанова³, С. Панов⁴, С. Костовска⁵

¹ Клиника за нефрологија – Скопје

² Македонска академија на науките и уметностите – Скопје

³ Институт за физиологија, Медицински факултет – Скопје

⁴ Природно-математички факултет, Лабораторија
за молекуларна биологија – Скопје

⁵ Републички завод за трансфузиологија – Скопје

Апстракт: Во период од дваесет години следена е биолошката активност на von Willebrand-овиот фактор (фВф) кај вкупно 805 болни; 168 со венски тромбози; 129 со дијабетес мелитус, 412 со разни степени на хронична бубрежна слабост и 96 пациенти со исхемична срцева болест. Одредувана е биолошката активност на фВф кај 104 болни на хемодијализа при употребата на четири типа на хемодијализни мембрани: 30 болни на купрофанска мембрана, 30 на полиметилметакрилатна мембрана (ПММА), 24 на хемофанска и 20 на полисулфонска мембрана (ПС). Биолошката активност на фВф беше значително зголемена кај болните на хемодијализа со тромбоза на артерио-венската фистула, кај 42 болни, во споредба со 60 здрави испитаници.

Биолошката активност беше зголемена кај болните со венски тромбози ($p < 0.02$), кај болните со дијабетес мелитус ($p < 0.01$), ХБИ ($p < 0.05$) како и кај болните со исхемична срцева болест ($p < 0.01$). Утврдено е дека највисока биолошка активност има при употребата на ПММА мембрана ($p < 0.001$), а потоа следат купрофанската ($p < 0.05$) и хемофанската мембрана ($p < 0.01$), додека најмал пораст на концентрацијата на фВф е забележан при употребата на ПС мембрана без статистичка значајност. Кај болните со тромбоза на артерио-венската фистула биолошката активност беше значајно зголемена ($p < 0,01$).

Иследувањата ја сугерираат важноста на фВф како маркер на ендотелната дисфункција; можен предиктор на тромбоза на васкуларниот пристап; можен маркер за биокомпатабилност на хемодијализните мембрани.

Клучни зборови: von Willebrand-ов фактор, хемодијализа, хемодијализни мембрани.

Вовед

Дисфункцијата на клетките на васкуларниот ендотелиум е поврзана со развојот на артериосклерозата и кардиоваскуларните заболувања. ФВф е прокоагулантен гликопротеин по потекло од ендотелните клетки и тромбоцитите. Учествува во адхезијата и агрегацијата на тромбоцитите при појава на васкуларна повреда, а служи и како носач на фактор VIII (1). Молекулата на овој фактор се јавува во форма на димери и мултимери со голема молекуларна тежина. Големи епидемиолошки студии (2–6) докажале дека високите концентрации на фВф се независен предиктор за исхемичните случувања кај болните со кардиоваскуларни болести. Нивото на албумин, фибриноген, бројот на леукоцитите, како и биолошката активност на фВф се предвесници на коронарна срцева слабост кај болните со дијабетес мелитус (7). Исто така фВф пропептидот се смета како маркер за ендотелната активација кај болните со дијабетес мелитус (8). Порастот во плазма концентрацијата на фВф и неговиот пропептид претходи на микроалбуминуријата кај деца болни со дијабетес мелитус и може да биде корисен маркер за откривање на деца со инсулин зависен дијабетес мелитус со ризик да развијат дијабетична нефропатија (9). Во експериментални услови е констатирана улогата на фВф во формирањето на тромби богати со фибрин на интимата при движење на крвта со големи брзини (10). ФВф и неговиот пропептид можат да бидат корисни маркери за активноста на системски болести како кај системската склероза така и кај системскиот лупус (11). Разните хемодијализни мембрани и дизајнот на дијализаторот во тек на хемодијализата придонесуваат да дојде до промена на некои хемостатски параметри, меѓу кои и пораст на концентрацијата на фВф. Болните со ХБИ се во постојана протромботична состојба, а оваа состојба се влошува во текот на хемодијализата, при што нивото на фВф значително расте (12). Проблемите со васкуларниот пристап се најважната причина за морбидитетот и хоспитализацијата (17–25%) кај хемодијализните болни во САД и чинат еден билион долари (13). Причина за

овие појави е хиперкоагулабилноста, зголемената концентрација на фВф, зголеменото ниво на тромбоцитни гликопротеински рецептори кон фВф и употребата на еритропоетин (14, 15). Зголемени плазма концентрации на фВф се забележани и кај болните со хипертензија (16), дијабетес мелитус (8), и може да се предвесници на дијабетичната нефропатија (17, 18) и на миокарден инфаркт (7, 19). Структурната промена на фВф се доведува во врска со Иг-А нефропатијата (20). Употребата на фВф како маркер за ендотелната активација има неколку ограничувања. Плазма концентрацијата на фВф зависи од АБО крвните групи, зголемената физичка активност и сл. Како најмеродавен параметар за улогата на фВф беше одредувана неговата биолошка активност кај разни патолошки состојби и тоа кај болни на хемодијализа на разни мембрани, како и кај болни на хемодијализа со тромбози на артерио-венските фистули.

Цел на трудот беше да се одреди биолошката активност на фВф кај болни пред почетокот на ХД кои имаат ХБИ, дијабетес мелитус, венски и артериски тромбози; кај болни на хемодијализа при употреба на разни хемодијализни мембрани. Исто така и кај болни на ХД со чести тромбози на артерио-венските фистули.

Материјал

Биолошката активност на фВф е следена кај 168 болни со венски тромбози, 129 со дијабетес мелитус, 412 пациенти со хронична бубрежна слабост, како и кај 96 со исхемична срцева болест. Исто така биолошката активност на фВф беше одредувана кај 42 болни со тромбоза на васкуларниот пристап за хемодијализа, на артерио-венската фистула. Биолошката активност на фВф беше мерена кај болни на хемодијализа при употреба на четири различни хемодијализни мембрани: 20 на полисулфонска (ПС) (Fresenius Medical Care, Germany), 30 на полиметилметакрилатната (ПММА) (Toyama, Japan), 24 на хемофанска (Akzo, Japan) и 30 на купрофанска (Akzo, Japan).

Методи

Биолошката активност на фВф е одредувана со готови китови на фирмата DADE Behring, Германија. Мерењата се извршувани на Behring coagulation timer, а одредувана е активноста ристоцетин-кофактор.

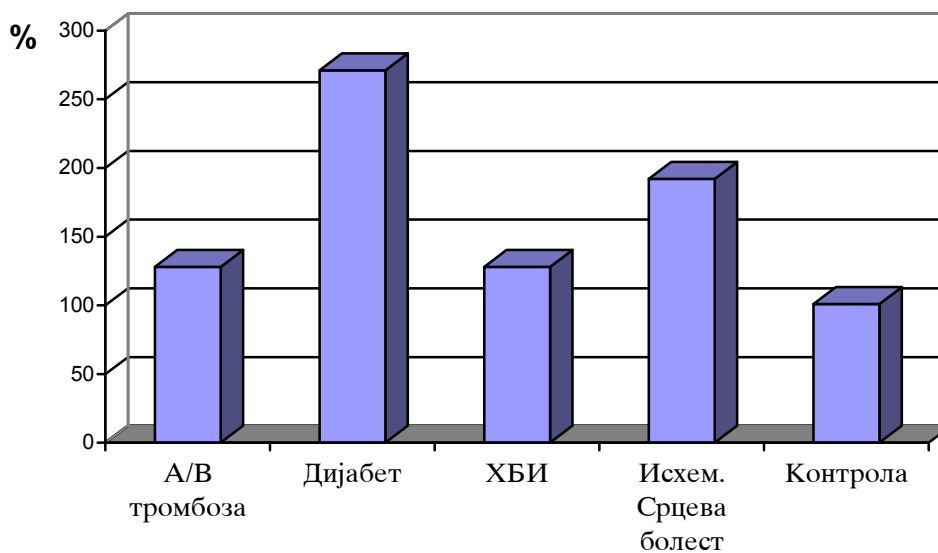
Резултати

Биолошката активност на фВф е зголемена кај сите четири групи на болни, а највисоки вредности се добиени кај болните со дијабетес мелитус ($271 \pm 179\%$) и исхемична срцева болест ($192 \pm 89\%$), со најголема статистичка значајност за $p < 0.01$ (табела 1).

Табела 1

Биолошка активност на фВф (%)

Патолошка состојба	n	Биолошка активност (%)	p
Венска тромбоза	168	128 ± 72	< 0.02
Дијабетес мелитус	129	271 ± 179	< 0.01
ХБИ	412	128 ± 62	< 0.05
Исхемична срцева болест	96	192 ± 89	< 0.01
Контрола	125	101 ± 35	

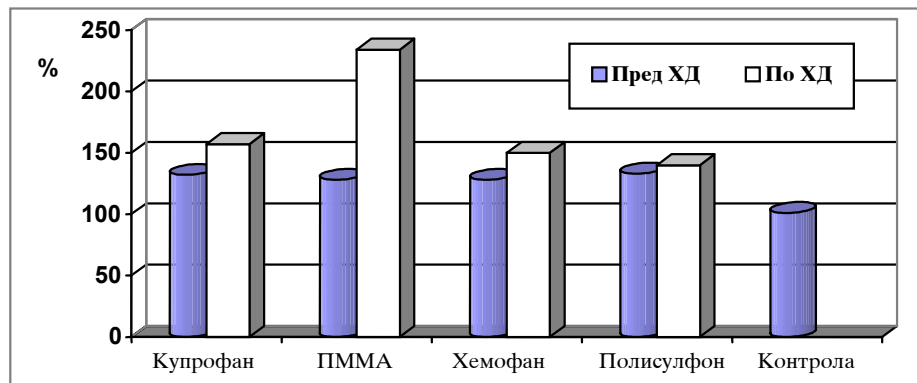


Слика 1: Биолошка активност на фВф (во %) кај различни патолошки состојби

Табела 2

Биолошка активност на фВф кај хемодијализни болни лекувани со 4 видови хемодијализни мембрани (%)

Тип на мембрана	n	Биолошка активност на фВф		p
		пред ХД	по ХД	
Купрофан	30	132 ± 47	157 ± 42	< 0.05
ПММА	30	128 ± 32	234 ± 28	< 0.001
Хемофан	24	128 ± 24	150 ± 25	< 0.01
Полисулфон	20	133 ± 31	140 ± 30	Н.З.
Контрола	125	101 ± 35		



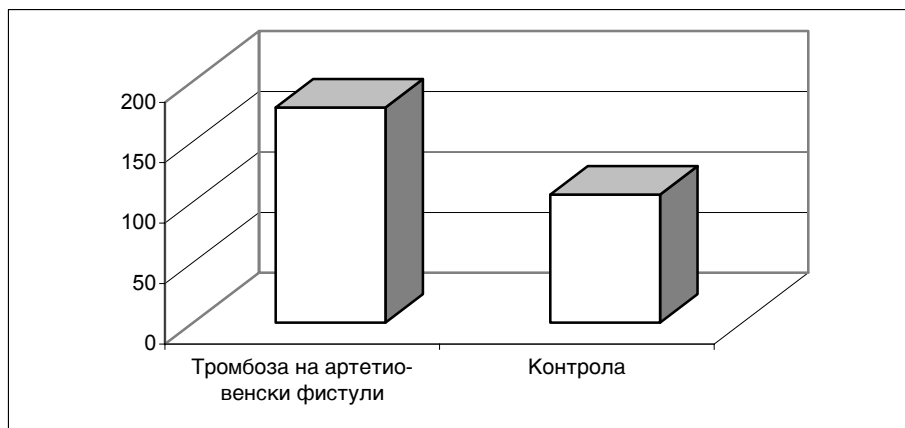
Слика 2: Биолошка активност на фВф кај хемодијализни болни на 4 видови хемодијализни мембрани (%)

При употребата на ПММА мембраната е добиена најголема биолошка активност на фВф по ХД. Притоа, активноста на фВф е зголемена од $128 \pm 32\%$ пред ХД на $234 \pm 28\%$ по ХД. Статистички незначителна разлика е забележана при употреба на полисулфонската мембрана (табела 2; слика 2).

Табела 3

Биолошка активност на фВф кај болни со тромбози на артерио-венски фистули

	n	Биолошка активност на фВф	p
Тромбоза на артерио-венски фистули	42	178 ± 89	< 0.01
Контрола	60	106 ± 35	



Слика 3: Биолошка активност на фВф кај болни со тромбози на артерио-венски фистули

Кај болните со тромбоза на артерио-венската фистула доаѓа до пораст на биолошката активност на фВф, 178% во споредба со биолошката активност на фВф кај контролната група 106% (табела 3).

Дискусија

Болните со ХБИ имаат различни нарушувања во хемостазата. Vaziri и сор 1994, (21) откриле дека кај овие болни доаѓа до значајно намалување на активноста на F XII, IX, X, II, наспроти појавата на хиперфибриногемиија и значителен пораст на плазма концентрациите на Д-димер, фВф, F VII, F XIII.

Биолошката активност на фВф кај нашите 412 болни со ХБИ беше 128%, $p < 0,05$, при вредности за биолошка активност на фВф кај контролната група од 101%. Зголемената биолошка активност на факторот кај болните со ХБИ се должи на присутната преегзистирачка болест, која довела до бубрежна слабост како: дијабетес мелитус, хипертензија, системски болести, можно и одредени видови на гломерулопатии. Значајно повисоки вредности за зголемена концентрација на фВф наспроти контролната група нашле Bronisz et al. 2001 (22), како и Kushiya F et al. (23) 2003. Takagi (12), 1994, открил дека вредностите за фВф се високи пред, еден час по вклучувањето, како и на крајот на хемодијализата.

Зголемена биолошка активност на фВф откривме кај нашите болни при употреба на сите четири хемодијализни мембрани: купро-

фанска, ПММА, хемофанска и полисулфонска мембрана. Почетната вредност беше зголемена и пред хемодијализата, при вредности за контролната група од 101%, како и по завршувањето на хемодијализниот процес. По хемодијализата вредностите значително се зголемија кај: купрофанската мембрана (132% пред ХД, на 157% по ХД, $p < 0,05$) ПММА (128% пред ХД, на 234% по ХД, $p < 0,001$, што беше највисок пораст); хемофанска мембрана (128% пред ХД, на 150% по ХД, $p < 0,01$); полисулфонска мембрана (133% пред ХД, 140% по ХД, $p = \text{Н.З.}$) каде што и покрај зголемените вредности и пред ХД и по ХД во однос на контролата, во тек на хемодијализата е забележан незначителен пораст на биолошката активност на фВф. Зголемените вредности на факторот, особено по ХД одат во прилог на влијанието на различната хемиска структура на употребените мембрани.

Според Atsushi, 2003 фВф игра значајна улога во атхезијата и агрегацијата на тромбоцитите при појава на зголемена брзина на крвниот проток кај стеноични, артериосклеротични артерии (10). Nichols (24), 2001, нашол дека кај свињите со фон Вилебрандова болест, за разлика од контролната група, доаѓа до појава на фибрински тромби при поставување на Goldblatt-ова клема на левата десцендентна коронарна артерија. Ова укажува на значајноста на фВф во нагло предизвиканата артериска тромбоза, поради стеноза и интимална повреда.

Зголеменото ниво на фВф е значајно и независно поврзано со постинфарктните состојби кај болните со дијабетес мелитус, потврдено според испитувањата на Zareba, 2001 (25). Порастот во концентрацијата на фВф и неговиот пропептид претходат на микроалбуминуријата кај децата со инсулинозависен дијабетес мелитус и поради тоа може да укажат на оние кои подоцна во животот ќе развијат нефропатија (Verrotti, 2003) (9).

Највисоко ниво на биолошката активност на фВф во нашите резултати забележавме во групата болни со дијабетес мелитус, и тоа 271%, при вредности во контролната група од 101%. Исто така многу високо ниво на биолошка активност беше детектирано и кај болните со исхемична срцева болест – 192%. Ако се земе предвид дека во појавата и прогресијата на исхемичната срцева болест и хроничната бубрежна слабост, учеството на артериската хипертензија и дијабетот се признати ризик фактори, тогаш е јасна важноста од следењето на биолошката активност на фВф кај болестите со ендотелијална дисфункција како дијабетот, исхемичната срцева болест, одредени системски болести (системска склероза, системски лупус), одредени видови гломерулопатии (Иг-А нефропатија).

Компликациите со васкуларните пристапи најчесто се состојат од тромбоза на артерио-венската фистула/графт и се одговорни за 17–25% од сите хоспитализации кај дијализните болни и го чинат здравството на САД еден билион долари (Roy Chaundran, 2001) (13). Liani 1996, (14) кај болните на хемодијализа со тромбоза на артерио-венската фистула, нашол зголемена експресија на тромбоцитните рецептори кон фВф, а Taylor 1995 (15), наоѓа дека болните на еритропоетинска терапија, развиваат хипертензија и тромбоза на васкуларниот пристап, што според авторот се должи на зголеменото ниво на фибриноген и фВф. Под терапија со nifedipine дошло до регулација на притисокот, но и до намалување на нивото на фВф, фибриногенот, и на ризикот од тромбоза на васкуларниот пристап.

Кај нашите 42 болни, со повеќе од две епизоди на тромбози на васкуларниот пристап дојде до пораст на концентрацијата на фВф. Нивото на фВф во групата болни со тромбози на васкуларниот пристап беше 178%, наспроти 106% во контролната група од 60 здрави испитаници.

Од досегашните наши резултати, добиени во период од 20 години се наметнува важноста на овој фактор како: маркер на ендотелна дисфункција, можен предиктор на тромбоза на васкуларниот пристап кај болните на хемодијализа; можен маркер за биокомпатибилност на хемодијализните мембрани и можен учесник во патогенезата на некои гломерулопатии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Evenstein BM. (1997): Vascular Biology of von Willebrand Factor In Born GVR, Schwartz CJ, eds, Vascular Endothelium Schattner Stuttgart 107–23.
2. Meade TW., Cooper JA., Stirling Y., Howarth DJ., Ruddock V., Miller GJ. (1999): Faktor VIII ABO blood group and incidence of ischememic heart disease B J Haematology 88: 601–7.
3. Thompson SG., Kienest J., Pyke SDM., Haverkate F., van de Loo JCW., For the European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. Haemostatic factors and risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. New England J Med 332: 635–44.
4. Juhan-Vagne I., Pyke SD., Alessi MC., Jespersen J., Haverkate F., Thompson SG. (1996): Fibrinolytic factors and risk of Myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. The ECAT study group. Circulation 94: 2057–63.
5. Falson AR., Wu KK., Rosamond WD., Richey Sharett A., Chambles LA. (1997): Prospective study of haemostatic factors and incidence of coronary heart diseases. The Atherosclerosis risk in Communities (ARIC) study. Circulation 96: 1102–8.

6. Jagge A., von Hinsberg VWM., Konstense PJ. (1999): von Willenbrand Factor, C-reactive protein and 5 year mortality in diabetic and non-diabetic subjects. *The Hoorn Study. Atherosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 19: 3071–8.
7. Saito J., Falsen A., Branceti F., Dunkan B., L Chomblless L., McGovern PG. (2000): Non-traditional Risk Factors for Coronary Heart Disease. Incidence Among Persons with Diabetes: The Atherosclerosis Risk in the Community (ARIC) Study. *Ann Intern Med* 133(2): 81–91.
8. Jensen T., Biere-Knutsen J., Feldt-Rasmussen B., Deknert T. (1989): Features of Endothelial dysfunction in early diabetic nephropathy. *Lancet*; 461–63.
9. Verrotti A., Greco R., Basciani R., Morgese G., Chiarelli F. (2003): von Willebrand Factor and its propeptide in children with diabetes. Relation between endothelial dysfunction and microalbuminuria. *Pediatr Res* 53(3): 382–6.
10. Atsushi Y., Yujiro A., Hiroshi S., Hiroshi Y., Kousune M., Kinta H., Shozo T., Yasuo I., Akinobu S. (2003): Contribution of von Willebrand Factor to thrombus Formation on Neointima of rabbit stenotic iliac Artery under High Blood Flow Velocity. *Atherosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 23: 1005.
11. Sheja A., Akesson A., Geborek P., Wildt M., Wollhein CB., Wollhein FA., Wischi U. (2001): Von Willebrand Factor propeptide as a marker of disease activity in systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Res* 3(3): 178–82.
12. Takagi M., Wade H., Mukai K., Kihira H., Yoko S., Minamikawa K., Wakita Y., Nakose T., Nagoya S., Deguchi K. (1994): Increased vascular endothelial cell markers in patients with chronic renal failure on maintenance haemodialysis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 5(5): 713–7.
13. Roy-Chondran P., Kelly BS., Miller MA., Reaves A., Armstrong J., Makeakkara N., Heffelfinger SC. (2001): Venous neointimal Hyperplasia in polotetrafluoroethylene dialysis grafts. *Kidney Int* 59(6): 2325–34.
14. Liani M., Solfeti F., Treska E., Di Paolo G., Vitocollonati L., Golato M., Velussi C. (1996): Arteriovenous fistula opstruction and expression of platelet receptors for von Willebrand Factor and for fibrinogen (glycoproteins GP I b nad GP II b/III a) in haemodialysis patients. *Int J Artif Organs* 19(8): 451–4.
15. Taylor JE., Belch JJ., Mc Laren M., Steward K. (1995): Effect of nifedipine on changes in fibrinogen and von Willebrand Factor in haemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *Blood coagul Fibrinolysis* 6(2): 100–4.
16. Pedrinelli R., Gianpetro O., Carmassi F., Melilo E., Dell'Omo G., Catapano G., Mattenucci E., Talarico L., Moral M., De Negri F. (1994): Microalbuminuria amd Endothelial dysfunction in essential hypertension, *Lancet* 344: 14–8.
17. Stenhauwer CD., Stroes ES., Hackeng WH., Muller PG., Den Ottolander GJ. (1991): Von Willebrand Factor and development of diabetic nephropathy in IDDM. *Diabetes* 40(8): 971–6.
18. Chen JW., Gall MA., Deckert M., Jensen JS. (1995): Increased Serum Concentrations of von Willebrand Factor in non-insulin dependent diabetic patients with and without diabetic nephropathy. *BMJ* 311: 1405–6.
19. Fonseca VA. (2000): Risk Factors for Coronary Heart Diseases in Diabetes. *Ann Intern Med* 18; 133(2): 154–6.

20. Bertaglia G., Ossi E., Casonato A., Miglietta A., Forino M., Bagio B., Gamboro G. (1997): Von Willebrand Factor abnormalities in IgA Nephropathy. *Nephro Dial Transplant* 12: 474–9.
21. Vaziri ND., Gonzales EC., Wong J., Said S. (1994): Blood coagulation, fibrinolytic and inhibitory proteins in end-stage renal disease effect of haemodialysis. *Am J Kidney Dis* 23(6): 828–35.
22. Branisz M., Rose D., Paszusi R., Nartovicz E., Branisz A. (2001): Von Willebrand Factor in haemodialysed patients with chronic renal failrue. *Pol Merunrinsz Lek* 11(61): 40–3.
23. Kushiya F., Wado H., Sakamura M., Mori Y., Gabazza EC., Nishikawa M., Nabori T., Noguchi M., Izumi K., Nakasaki T., Tanagi M., Shiku H. (2003): Effects of lipid abnormalities on arteriosclerosis and haemostatic markers in patients under haemodialysis. *Clin Appl Thromb Hemost* 9(3): 203–10.
24. Nichols TC., Bellinger DA., Johanson TA., Lamb MA., Griggs TR. (1986): Von Willebrand's Disease prevents occlusive thrombosis in stenosed and injured porcine coronary arteries. *Circulation Research* 59: 15–26.
25. Zareba W., Poncio G., Moss AJ., Kalaria VG., Marder VJ., Weiss HJ., Watelet LF., Sparks C. (2001): Increased level of von Willebrand Factor in significantly and independently associated with diabetes in postinfarction patients. *THROMBO Investigators. Thromb Hemost* 86 (3): 791–9.

Summary

THE ROLE OF THE VON WILLEBRAND FACTOR IN RENAL DISEASES AND HAEMODIALYSIS PATIENTS

**P. Dejanov¹, I. Dejanov², M. Polenaković², A. Ončevski¹, A. Šikole¹,
B. Dejanova³, S. Panov⁴ S. Kostovska⁵**

¹ *Nephrology Clinic, Skopje*

² *Macedonian Academy of Sciences and Arts, Skopje*

³ *Institute of Physiology, Medical Faculty, Skopje*

⁴ *Faculty of Sciences, Skopje*

⁵ *Blood Transfusion Department, Skopje*

During a period of twenty years, the von Willebrand factor (VWf) biological activity was evaluated in 805 patients with vein thrombosis, diabetes mellitus, chronic renal failure and ischaemic heart disease. The examined patients were 168 with vein thrombosis, 129 with diabetes mellitus, 412 with chronic renal failure (CRF), and 96 with ischaemic heart disease. The biological activity was also determined in 104 haemodialysis patients using four different haemodialytic membranes: 30 on cuprophane membrane, 30 on polymethylmetacrilate membrane (PMMA), 24 on hemophane and 20 patients on polysulphone (PS) membrane. In 42 patients with arterio-venous fistula

prone to thrombosis, the biological activity of the von Willebrand Factor was 178% in comparison to 106% in the control group.

The biological activity of VWF was increased in patients with vein thrombosis ($p < 0.02$), in patients with diabetes mellitus ($p < 0.01$), CRF ($p < 0.05$), and in patients with ischaemic heart disease ($p < 0.01$). The highest biological activity was found in patients on PMMA ($p < 0.001$), then cuprophane ($p < 0.05$) and hemophane membrane ($p < 0.01$), while the lowest increase of its concentration was noticed in patients on PS without statistical significance. In arterio-venous fistula prone to thrombosis patients biological activity of the von Willebrand Factor was significantly increased ($p < 0.01$).

Our investigations show the importance of VWF as a marker of endothelial dysfunction, a possible predictor of A-V fistula thrombosis, and a possible marker of haemodialysis membranes biocompatibility

Key words: Von Willebrand Factor, haemodialysis, haemodialytic membranes.