

(15)

Czynnik von Willebranda w osoczu chorych ze starczym zwyrodnieniem plamki

Von Willebrand factor in plasma of patients with age related macular degeneration

Grażyna Malukiewicz-Wiśniewska¹, Danuta Rość²,
Bartłomiej Kałużny¹, Jakub J. Kałużny¹

¹Z Katedry i Kliniki Chorób Oczu Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jakub Kałużny

²Z Katedry i Zakładu Patofizjologii Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Danuta Rość

Summary: Purpose: To evaluate the plasma level of von Willebrand factor (vWf: Ag) in patients with age related macular degeneration and to establish the relation between this factor and the stage and progression of the disease. Material and methods: The group studied comprised 34 patients with age related macular degeneration. Excluded were patients with diseases and with other factors which could have changed evaluated parameters. Patients studied were categorized into 7 groups according to the stage of disease. The progression of the disease was evaluated on the base of examination performed after 6 months' interval. Mean age of the patients in analysed group was 73,3 (SD=19,5) years. The control group consisted of 32 healthy persons of similar age. Statistical analysis were performed with U Mann-Whitney test and Spearman correlation test. In both groups blood was sampled from cubital vein. In blood of patients, von Willebrand levels were measured by means of ELISA using commercial antibodies (DAKO, Denmark). Results: Von Willebrand concentration was significantly higher in patients with age related macular degeneration as compared with control group ($p < 0.001$). Concentration of vWf: Ag correlated positively with the grade of macular changes and the progression of the disease. Conclusions: The data obtained show, that age related macular degeneration is associated with elevated plasma levels of von Willebrand factor (a marker of endothelial injury) and that there is a positive correlation of it's concentration with both stage and progression of the disease.

Słowa kluczowe: starcze zwyrodnienie plamki, hemostaza, czynnik von Willebranda.

Key words: age related macular degeneration, hemostasis, von Willebrand factor.

Czynnik von Willebranda (vWf) jest glikoproteiną osocza syntetyzowaną przez komórki śródbłonka naczyń krwionośnych i megakariocyty. Pełni on funkcję białka adhezyjnego i agregacyjnego w procesie powstawania czopa płytkowego. Według szacunków 75-85% całej puli czynnika pochodzi z komórek śródbłonka, pozostałe 15-25% przypada na płytki krwi. Czynnik ten krąży w osoczu w kompleksie z czynnikiem VIII (co ochrania czynnik VIII przed proteolitycznym rozkładem), występuje w ziarnistościach płytek krwi, w ciałkach Weibela i Pallade'a komórek śródbłonka oraz w macierzy podśródbłonkowej. Jego aktywność adhezyjna związana jest z łączeniem się z receptorami na płytkach krwi (GP Ib, GP IIb – IIIa) oraz z kolagenem tkanki łącznej. Jako białko agregacyjne inicjuje i mediuje przyleganie płytek do siebie w miejscu uszkodzenia naczynia. Podwyższone wartości osoczowe tego czynnika stwierdzono w miażdżycy naczyń krwionośnych, w nadciśnieniu tętniczym, w otyłości, hipercholesterolemii, w cukrzycy, zapaleniach

naczyń, w chorobach nowotworowych, przed zawałem mięśnia sercowego oraz przed wystąpieniem powikłań zakrzepowych (1,2,3,4,5,6,7,8). Podwyższone wartości stężenia vWf: Ag wykazano ponadto przed operacjami z powodu nowotworu szyjki macicy i jajników, z powodu nowotworu i stanu zapalnego jelita grubego (9,10). Przyjmuje się, że ten wzrost spowodowany jest uwalnianiem z komórek aktywowanego bądź uszkodzonego śródbłonka naczyń krwionośnych, a tym samym oznaczanie stężenia vWf: Ag może być stosowane do oceny stanu czynnościowego komórek śródbłonka. Powszechnie czynnik ten jest uważany za marker uszkodzenia śródbłonka naczyniowego *in vivo*. Czynnik von Willebranda wymieniany jest też wśród białek ostrej fazy zarówno w odniesieniu do chorób zakaźnych, jak i autoimmunizacyjnych (2,5,11,12).

Jednym z uznanych czynników patogenetycznych starczego zwyrodnienia plamki (AMD) są miejscowe zaburzenia krążenia w naczyniach siatkówki i naczyniówki. Z danych z piśmiennictwa

wynika też, że u chorych z AMD statystycznie częściej w porównaniu z odpowiednią wiekowo grupą osób zdrowych stwierdza się choroby przebiegające z zaburzeniami układu hemostazy, np. chorobę wieńcową, nadciśnienie tętnicze, miażdżycę, cukrzycę. Przypuszczać zatem można, że zjawiska krzepnięcia i fibrylizacji odgrywają rolę w procesie starczego zwyrodnienia plamki.

Do chwili obecnej niewiele jest danych dotyczących procesów hemostazy u chorych z tą chorobą (13).

Celem pracy było ustalenie, czy u chorych ze starczym zwyrodnieniem plamki występują odchylenia od normy w zakresie stężenia czynnika von Willebranda (vWf: Ag) w osoczu, a także określenie, czy istnieje związek pomiędzy wartościami vWf: Ag w osoczu a cechami klinicznymi starczego zwyrodnienia plamki oraz progresją choroby

Materiał i metoda

Grupę badaną stanowiło 34 kolejnych chorych (20 kobiet i 14 mężczyzn) ze starczym zwyrodnieniem plamki rozpoznany na podstawie badania wziernikowego i angiografii fluoresceinowej. Z badań wyłączono chorych, których stan mógł mieć wpływ na wartość mierzonych parametrów. W tym celu zastosowano poniższe kryteria wykluczające: inne choroby – poza odwarstwieniem siatkówki (i wadami refrakcji), palenie tytoniu, przebyta operacja okulistyczna, naczyniowa (niezależnie od tego, kiedy miała miejsce) lub jakakolwiek inna operacja w ciągu dwóch poprzedzających lat, menopauza z ostatnią miesiączką w ciągu ostatniego roku, cukrzyca, zakrzepica żylna u badanego lub w najbliższej rodzinie, przyjmowanie w ostatnich 30 dniach leków, np. hormonalnych, niesterydowych przeciwzapalnych, obniżających poziom cholesterolu, przeciwkrzepowych i przeciwkrwotocznych oraz działających na układ naczyniowy. Średni wiek badanych wynosił 73,3 roku (SD = 19,5). Grupę kontrolną dla oznaczeń stanowiło 32 odpowiednich wiekowo zdrowych osób.

Od każdego chorego przed włączeniem do badań uzyskiwano pisemną świadomą zgodę na udział w badaniach. Każdy z tych chorych został poinformowany o ich istocie. Zarówno projekty badań, jak i dokumenty informujące chorego zostały zaakceptowane przez

Komisję Terenową Etyki Badań Naukowych przy Akademii Medycznej w Bydgoszczy.

Analizowanych chorych podzielono na 7 grup w zależności od stopnia zaawansowania choroby (druzy, zanik geograficzny, błony o małej aktywności, błony o dużej aktywności z wysiękiem, błony o dużej aktywności z wylewem, blizna z wylewem, blizna). Progresję choroby oceniano na podstawie badań wykonywanych po sześciu miesiącach.

Krew do badań pobierano z żyły przedramienia rano (7.30-9.30), po 15-minutowym odpoczynku chorego w pozycji leżącej. W momencie pobierania krwi chorzy byli na czczo lub około 1,5 godziny po spożyciu śniadania. Stosowano możliwie najmniejszy i krótkotrwały ucisk naczyń żylnych oraz jednorazowe, delikatne wkłucie igłą do żyły. Do oceny większości parametrów krew pobierana była do plastikowej strzykawki zawierającej 3,8% cytrynianu sodu 1: 9.

Badanie krwi powtarzano po 6 miesiącach. Oznaczenie stężenia antygeny czynnika vWf: Ag we krwi dokonywano immunoenzymatycznie, metodą ELISA, z zastosowaniem przeciwciał z zestawu Enzygnost vWf: Ag (Dako, Dania).

W celu oceny różnic pomiędzy zmiennymi niezależnymi zastosowano test U Manna-Whitneya. Oceny współzależności pomiędzy kolejnymi zmiennymi dokonano nieparametrycznym testem korelacji Spearmana. Istotność statystyczną stwierdzano, gdy $p < 0,05$. Obliczenia wykonano za pomocą programu statystycznego Statistica v. 4.5.

Wyniki

W badanej grupie chorych ze starczym zwyrodnieniem plamki stwierdzono podwyższenie stężenia antygeny czynnika vWf: Ag w osoczu, inaczej niż w grupie kontrolnej. Wartość średnia w grupie badanej wynosiła 134,1%, SD = 13,3%. W grupie kontrolnej średnia wynosiła 110,9%, odchylenie standardowe było równe 16,8 (tab. I). Jest to różnica istotna statystycznie, ponieważ $p < 0,001$.

Stwierdzono także statystycznie znamienne dodatnią korelację między stężeniem czynnika vWf: Ag w osoczu a stopniem zaawansowania starczego zwyrodnienia plamki oraz progresją choroby (tab. II).

VWf: Ag	Wartości w grupie kontrolnej: średnia i odchylenie standardowe (SD) Values in control group Mean and standard deviation (SD)	Wartości w grupie badanej: średnia i odchylenie standardowe (SD) *Mediana (3.-1 kwartyl) values in the group studied median and interquartile range	p
(% normy) (% of norm)	110,9 (16,8)	134,1 (13,3)	<0,001

Tab. I. Wartości stężenia czynnika von Willebranda we krwi u chorych ze starczym zwyrodnieniem plamki w odniesieniu do grupy kontrolnej.

Tab. I. Values of von Willebrand factor concentration in blood of patients with age related macular degeneration as compared with control group.

Vs.		Stopień zaawansowania choroby / Stage of disease	Progresja choroby / Progression of the disease
vWf: Ag w osoczu	r	0,58	0,88
vWf: Ag in blood plasma	p	0,018	0,02

Tab. II. Korelacja pomiędzy stężeniem czynnika von Willebranda w osoczu u chorych ze starczym zwyrodnieniem plamki a stopniem zaawansowania starczego zwyrodnienia plamki oraz progresją choroby.

Tab. II. Correlation between the concentration of von Willebrand factor in blood of patients with age related macular degeneration with both stage and progression of the disease.

Omówienie

W badanej grupie chorych ze starym zwyrodnieniem plamki stężenie czynnika von Willebranda było podwyższone i korelowało dodatnio ze stopniem zaawansowania choroby oraz jej progresją. Rozważając przyczyny wysokich stężeń tego czynnika w osoczu, należy brać pod uwagę stan czynnościowy komórek śródbłonna, z których jest on uwalniany. Poziom czynnika vWf stanowi odzwierciedlenie stopnia uszkodzenia komórek śródbłonna naczyń. Wskazuje na aktywację lub uszkodzenie komórek śródbłonna naczyń krwionośnych. Wzrost stężenia tego czynnika może wynikać np. ze wzmożonego uwalniania wskutek stymulacji śródbłonna naczyń mediatorami pooperacyjnych reakcji zapalnych (14).

U chorych na AMD podwyższone stężenie czynnika von Willebranda może być markerem uszkodzenia naczyń. Warto podkreślić, że przydatność tego czynnika jako markera uszkodzenia naczyń sygnalizowano w wielu innych chorobach, takich jak stwardnienie rozsiane, cukrzyca, sklerodermia (1,5,11,12).

Obserwacje wynikające z przeprowadzonych badań są spójne z nowymi. Wskazują one, że komórki śródbłonna odgrywają rolę w patomechanizmie starym zwyrodnienia plamki. Nie wyjaśniają jednak, dlaczego u badanych chorych dochodzi do zanotowanych zmian ogólnoustrojowych, oraz tego, czy są one wyrazem uszkodzenia naczyń siatkówki i naczyniówki, czy też występowanie uogólnionych zaburzeń naczyniowych prowadzi do niewydolności naczyń siatkówki i naczyniówki, pociągając za sobą proces zwyrodnienia plamki. Wymaga to dalszych badań.

PIŚMIENNICTWO:

1. Kagawa H., Okubo S., Yasunaga K.: *Plasma coagulation and fibrinolysis in parameters in patients with collagen disease, and analysis of the multimeric structure of von Willebrand factor (vWF)*. Int. J. Hematol., 1991, 54, 429-439.
2. Blann A. D.: *Von Willebrand factor as an acute phase reactant and marker of endothelial cell injury in connective tissue diseases: a comparison with CRP, rheumatoid factor, and erythrocyte sedimentation rate*. Zetisch. Rheumatologie, 1991, 50, 320-322.
3. Blann A. D., Dobrotowa M., Kubisz P., McCollum C. N.: *Von Willebrand factor, soluble P-selectin, tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor in atherosclerosis*. Thromb-Haemost., 1995, 74, 626-630.
4. Paczuski R., Białkowska A., Kotschy M., Burduk D., Betlejewski S.: *Von Willebrand factor in plasma of patients with advanced stages of larynx cancer*. Thromb. Res., 1999, 95, 197-200.
5. Paczuski R., Iwan-Ziętek I., Bielawska J., Sadkiewicz S.: *Von Willebrand factor in plasma of patients with rheumatoid arthritis and lupus erythematosus*. Pol. Merk. Lek., 1998, 4, 254-255.
6. Toschi V., Fiorini G. F., Motta A., Renoldi P., Paracchini M. L., Gibelli C.: *Clinical significance of endothelial damage markers in essential mixed cryoglobulinemia*. Acta Haematol., 1991, 86, 90-94.
7. Woodburn K. R., Rumlev A., Lowe G. D., Pollock J. G.: *Fibrinogen and markers of fibrinolysis and endothelial damage following resolution of critical limb ischaemia*. Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg., 1995, 10, 272-278.
8. Van den Berg M., Boers G. H., Franken D. G., Blom H. J., Van kamp G. J., Jacobs C., Rauwerda J. A., Kluft C., Stehouwert C. D.: *Hyperhomocysteinaemia and endothelial dysfunction in young patients with peripheral arterial occlusive disease*. Eur. J. Clin. Invest., 1995, 25, 176-181.
9. Gadducci A., Baicchi U., Marrai R., del Bravo B., Fosella P. V., Facchini V.: *Pretreatment plasma levels of fibrinopeptide-A (FFA), D-dimer (DD), and von Willebrand factor (vWf) in patients with ovarian carcinoma*. Gynecol. Oncol., 1994, 53, 352-356.
10. Gadducci A., Baicchi U., Marrai R., Facchini V., del Bravo B., Fosella P. V., Fioretti P.: *Pretreatment plasma levels of fibrinopeptide-A (FFA), D-dimer (DD), and von Willebrand factor (vWf) in patients with operable cervical cancer: influence of surgical-pathological stage, tumor size, histologic type, and lymph node status*. Gynecol. Oncol., 1993, 49, 354-358.
11. Blann A. D., Herrick A., Jayson M. I.: *Altered levels of soluble adhesion molecules in rheumatoid arthritis, vasculitis and systemic sclerosis*. Br. J. Rheumatol., 1995, 34, 814-819.
12. Pottinger B. E., Read R. C., Paleolog E. M., Higgins P. G.: *Von Willebrand factor is an acute phase reactant in man*. Thromb. Res., 1989, 53, 387-394.
13. Lip P.L., Blann A.D., Hope-Ross M., Gibson J.M., Lip G.Y.: *Age-related macular degeneration is associated with increased vascular endothelial growth factor, hemorheology and endothelial dysfunction*. Ophthalmology, 2001, 108 (4), 705-710.
14. Abu-Zidan F. M., Farrant G., Zwi L. J., Simovic M. O., Day T., Bonham M. J., Windsor J. A.: *Plasma von Willebrand factor and intestinal ischaemia-reperfusion injury in rats*. Thromb. Res., 1999, 94, 353-358.

Praca wpłynęła do Redakcji 9.02.2005 r. (691).

Zakwalifikowano do druku 10.02.2005 r.

Sympozjon Retinologiczny, Poznań 14-16.04.2005 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
dr hab. n. med. Grażyna Malukiewicz-Wiśniewska
ul. Zamojskiego 5/7
85-063 Bydgoszcz