

急性脑梗死患者血浆 vWF 和 ADAMTS13 抗原水平变化及其与预后的关系

李艳艳

(朝阳市中心医院神经内科, 辽宁省朝阳市 122000)

[关键词] 急性脑梗死; 血管性假血友病因子; 血管性假血友病因子裂解酶

[摘要] **目的** 探讨急性脑梗死患者血浆血管性假血友病因子(vWF)和血管性假血友病因子裂解酶(vWF-CP, 又名 ADAMTS13)抗原水平的变化以及这些变化与急性脑梗死预后的关系。**方法** 采用病例对照研究, 纳入住院治疗的 64 例急性脑梗死患者作为病例组, 24 例非急性脑梗死患者(为后循环缺血的患者)作为对照组。酶联免疫吸附法(ELISA)测定血浆中 vWF 抗原水平、ADAMTS13 抗原水平。所有患者进行随访, 评估 90 天的 mRS 评分。采用 Logistic 回归分析 vWF 和 ADAMTS13 抗原水平与预后的关系, 应用 Pearson 相关分析 vWF 抗原水平与 ADAMTS13 抗原水平的关系。**结果** 急性脑梗死患者组 ADAMTS13 抗原水平显著低于对照组($P < 0.05$), vWF 抗原水平显著高于对照组($P < 0.05$)。并且急性脑梗死患者组 ADAMTS13 抗原水平与 vWF 抗原水平呈显著负相关($r = -0.226, P = 0.034$)。vWF 抗原水平、高血压病、性别与急性脑梗死患者预后相关。**结论** 急性脑梗死患者 vWF 抗原水平升高, 而 ADAMTS13 抗原水平降低; 急性脑梗死患者 vWF 抗原水平与 ADAMTS13 抗原水平呈显著负相关。具有高 vWF 抗原水平、高血压病史的急性脑梗死患者预后欠佳。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

Changes of Plasma vWF and ADAMTS13 Antigen Levels and Its Relation with Prognosis in Acute Cerebral Infarction

LI Yan-Yan

(Department of Neurology, the Central Hospital of Chaoyang, Chaoyang, Liaoning 122000, China)

[KEY WORDS] Acute Ischemic Stroke; Von Willebrand Factor; Von Willebrand Factor-Cleaving Protease

[ABSTRACT] **Aim** To explore the changes of plasma von willebrand factor (vWF) and von willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) antigen levels in acute cerebral infarction (ACI) and the relationship between these changes and prognosis of ACI. **Methods** This was a case-control study, patients who received treatment were included. 64 patients with ACI were enrolled as the cases, 24 healthy persons were enrolled as the controls. The expression of plasma vWF and ADAMTS13 levels in patients and controls were measured by enzyme linked immunosorbent assay(ELISA). All patients were followed up to evaluate mRS score of 90-day. The correlation was analysed by Pearson correlation analysis. vWF antigen levels, ADAMTS13 antigen levels and their relation with the prognosis of ACI were analysed by the Logistic regression. **Results** ADAMTS13 antigen levels in patients with ACI were significantly lower than control group ($P < 0.05$), vWF antigen levels were significantly higher than that of control group ($P < 0.05$). ADAMTS13 antigen levels was significantly and negatively correlated with vWF antigen levels in patients with ACI ($r = -0.226, P = 0.034$). vWF antigen levels, hypertension, sex was associated with the prognosis of patients with ACI. **Conclusion** In patients with ACI, vWF antigen levels rise and ADAMTS13 antigen levels reduce. ADAMTS13 antigen level is significantly and negatively correlated with vWF antigen levels in patients with ACI. Patients with high vWF antigen levels or hypertension have poor prognosis in ACI.

急性脑梗死(acute cerebral infarction, ACI)是目前致残率及死亡率很高的疾病,严重影响患者及家

属的生活质量。重组组织型纤溶酶原激活剂(the recombinant tissue type plasminogen activator, rt-PA)

[收稿日期] 2014-12-03

[修回日期] 2015-06-09

[作者简介] 李艳艳, 硕士研究生, 医师, 研究方向为急性脑血管病发病机制及诊治, E-mail 为 576253522@qq.com。

的应用,使部分患者短时间内的动脉阻塞可以获益,但是由于该药物时间窗的严格限制,只有 10% 的患者可以获益。脑梗死是一种动脉血栓性疾病,总的发病率约占急性脑血管病的 75%,发病率随着年龄的增加而增加,其发病机制是局部脑组织由于血液供应缺乏而发生缺血性坏死,最常见的原因是血管内形成动脉粥样硬化斑块,斑块破裂及继发血栓形成。血管性假血友病因子(vWF)在血小板聚集及血栓形成过程中起到重要作用,是动脉血栓的主要成分。它介导血小板与血管内皮细胞及内皮下胶原的黏附,诱导循环中血小板聚集于血管内皮下胶原而形成血栓,这种血栓进一步刺激内皮细胞分泌超大 vWF 多聚体(UL-vWF)^[1-3],大分子量的 vWF 多聚体使血栓形成加剧。血管性假血友病因子裂解酶(vWF-CP),又称 ADAMTS13,是调控 vWF 结构与功能的金属蛋白酶^[4-5]。ADAMTS13 通过裂解 vWF 多聚体,可抑制血小板与内皮细胞及内皮下胶原的黏附,从而延缓血栓形成,与冠心病、脑卒中等的发生关系密切。目前关于急性脑梗死患者 vWF 和 ADAMTS13 抗原水平的变化和预后的相关研究较少,没有得到一致的结论。本研究主要探讨急性脑梗死患者 vWF 抗原水平及 ADAMTS13 抗原水平的变化情况,以及 vWF、ADAMTS13 抗原水平和 vWF/ADAMTS13 比值与急性脑梗死患者预后的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本研究共纳入 88 例患者,其中急性脑梗死组为 64 例急性脑梗死患者,发病在 24 h 到 7 天内,男 21 例,女 43 例,年龄 44 ~ 84 岁,平均 64.94 ± 10.13 岁,高血压病患者 15 例;对照组为 24 例非急性脑梗死的住院患者,男 8 例,女 16 例,年龄 41 ~ 88 岁,平均 67.28 ± 10.83 岁,高血压病患者 6 例。所有病例排除:(1)慢性肝、肾、免疫、血液系统疾病及感染性疾病、风湿性心脏瓣膜病、心房颤动、恶性肿瘤等;(2)既往有经皮腔内冠状动脉成形术、支架置入术及冠状动脉旁路移植术病史;(3)入院前服用过抗血小板聚集药物、抗凝药物、止血药物和他汀类药物;(4)近 6 个月有脑卒中、脑出血、心肌梗死病史;(5)糖尿病病史。

1.2 血标本采集

急性脑梗死患者(发病 24 h ~ 7 天内)采集空腹血 4.0 mL,对照组取等量外周肘静脉血置于 EDTA

抗凝的采血管中,置于室温下静置 30 min ~ 2 h,于 2000 r/min 离心机中离心 20 min 分离血浆,然后置于 -80℃ 冰箱中冻存。

1.3 检测方法

vWF 抗原水平的检测采用三抗体夹心 ELISA 法,按照试剂盒使用说明进行检测;ADAMTS13 抗原水平的检测采用三抗体夹心 ELISA 法,按照试剂盒使用说明进行检测。

1.4 数据处理

运用 SPSS18.0 统计学软件进行分析处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,根据数据类型进行相应的 *t* 检验,*P* < 0.05 为差异有显著性。vWF 抗原水平和 ADAMTS13 抗原水平的相关性研究采用 Pearson 相关分析,以双侧 *P* < 0.05 为检验水准。预后相关分析采用 Logistic 回归分析,以急性脑梗死患者血浆 vWF、ADAMTS13 抗原水平及 vWF/ADAMTS13 比值作为预测变量,以 90 天的 mRS 评分作为结果变量,建立二分类 Logistic 回归数学模型对混淆变量进行调整,计算其优势比(OR)和 OR 95% CI,*P* < 0.05 为差异有显著性。

2 结 果

2.1 各组基本情况比较

急性脑梗死组患者年龄、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、高血压比例、空腹血糖、血脂等一般资料差异无显著性(*P* > 0.05;表 1)。

表 1. 两组患者基本情况比较
Table 1. Comparison of baseline data between the two groups

基本资料	对照组 (<i>n</i> = 24)	急性脑梗死组 (<i>n</i> = 64)	<i>P</i>
年龄(岁)	64.94 ± 10.13	67.28 ± 10.83	>0.05
男/女(例)	8/16	21/43	>0.05
高血压(例)	6/24(25.0%)	15/64(23.4%)	>0.05
hs-CRP(mg/L)	2.93 ± 1.39	3.00 ± 1.47	>0.05
空腹血糖(mmol/L)	5.10 ± 0.72	4.97 ± 0.65	>0.05
甘油三酯(mmol/L)	1.47 ± 0.36	1.53 ± 0.41	>0.05
总胆固醇(mmol/L)	4.42 ± 0.74	4.68 ± 0.83	>0.05

2.2 vWF 和 ADAMTS13 抗原水平

急性脑梗死组 vWF 抗原水平高于对照组,而 ADAMTS13 抗原水平低于对照组,vWF/ADAMTS13 比值高于对照组,差异有统计学意义(*P* < 0.05;表 2)。

表 2. 两组血浆 vWF、ADAMTS13 抗原水平及 vWF/ADAMTS13 比值

Table 2. Plasma vWF, ADAMTS13 and the ratio of vWF/ADAMTS13 between the two groups

指 标	对照组	急性脑梗死组	P
vWF 抗原(μg/L)	102. 56 ± 14. 70	156. 82 ± 19. 90	0. 005
ADAMTS13 抗原(mg/L)	36. 33 ± 7. 42	15. 17 ± 7. 04	0. 000
vWF/ADAMTS13	30. 04 ± 15. 78	114. 74 ± 74. 94	0. 000

2.3 Pearson 相关分析

急性脑梗死组患者 vWF 抗原水平与 ADAMTS13 抗原水平呈显著负相关($r = -0.226, P = 0.034$)。

2.4 Logistic 回归分析

为评估急性脑梗死患者预后的相关因素,以急性脑梗死患者血浆 vWF、ADAMTS13 抗原水平及 vWF/ADAMTS13 比值作为预测变量,以 90 天的 mRS 评分作为结果变量(mRS 评分 > 2 预后不良,赋值为 1;mRS 评分 ≤ 2 预后良,赋值为 0),建立二分类 Logistic 回归数学模型对混淆变量进行调整。结果显示性别、高血压病、vWF 抗原水平与患者 90 天时的 mRS 评分相关,即有高血压病史者、具有高 vWF 抗原水平的患者 90 天 mRS 评分较高,预后欠佳;女性患者 90 天 mRS 评分较低(表 3)。

表 3. Logistic 回归分析结果

Table 3. Logistic regression analysis results

因素	OR	95% CI	P
年龄	0. 968	0. 907 ~ 1. 033	0. 329
性别	0. 089	0. 013 ~ 0. 602	0. 013
吸烟	6. 092	0. 915 ~ 40. 558	0. 062
高血压病	6. 915	1. 238 ~ 38. 625	0. 028
vWF 抗原水平(μg/L)	1. 002	1. 000 ~ 1. 004	0. 012
ADAMTS13 抗原水平(mg/L)	1. 003	0. 989 ~ 1. 018	0. 666
vWF/ADAMTS13	0. 533	0. 266 ~ 1. 069	0. 076

3 讨 论

近年来,卒中的发生率呈逐年上升趋势,由于脑卒中的致残率和致死率较高,严重影响人们的生活质量,因此脑卒中的治疗和预防引起了社会的广泛关注。随着 rt-PA 在临床的应用,部分急性脑梗死患者得到临床获益,但是由于 rt-PA 严格的时间窗和出血风险,使得该药物的应用受到限制^[6-7]。

在卒中二级预防中,抗血小板聚集药物如阿司匹林、双密达莫、血小板 P2Y12 受体抑制剂氯吡格雷等也存在有效性的受限,同时增加了致命性出血的风险。即使是直接凝血酶抑制剂(例如达比加群)、X 因子酶原抑制剂(利伐沙班、啊哌沙班)也不能避免颅内出血的风险^[8]。目前这些卒中治疗和二级预防存在瓶颈,需要我们更好地了解急性脑卒中患者血栓形成的病理生理机制,临床需要新的治疗脑卒中药物的出现。

研究发现 vWF 在血栓形成过程中发挥重要作用,它可以促进血小板的黏附和聚集而形成血栓,而血栓的形成会促进内皮细胞分泌更多大分子量的 vWF(UL-vWF)^[1-3],导致血栓的形成加剧,最后导致脑梗死的发生。vWF 被作为确定血管内皮功能的特异性生化标志物,其水平可反映血管内皮细胞受损程度和高凝状态,并可作为治疗、判断预后的评价指标之一^[9]。它的大小、含量和活性受到 ADAMTS13 的调节,该酶可以通过对 vWF 多聚体大小的调控来调节 vWF 多聚体与内皮下胶原和血小板的黏附能力,从而影响血栓的形成,具有明显的抗栓活性^[10-12]。

生理情况下,vWF 与 ADAMTS13 水平保持着一种动态平衡,而 ADAMTS13 和 vWF 水平和活性的变化可能会促进血栓形成^[13]。研究者在小鼠动物模型中发现^[14],vWF^{-/-}的小鼠在大脑中动脉阻断 24 h 后脑梗死面积及神经功能缺失情况明显优于野生小鼠。同时研究者^[15]向野生脑梗死小鼠动脉模型中注入 ADAMTS13 可以缩小脑梗死面积,提示 ADAMTS13 水平的升高,可以缩小脑梗死面积,间接证实 ADAMTS13 可以抑制血栓的形成。

一项前瞻性研究^[16]证实 vWF 是卒中发生的重要危险因素,并且与卒中相关死亡率关系密切。其他研究^[17]同样证实了高 vWF 抗原水平者卒中发生风险较高,并且 vWF 抗原水平在不同卒中病因患者中不同,差异有统计学意义。少数的研究^[17-18]认为缺血性脑卒中患者 vWF 水平并不增高,目前关于急性脑卒中患者 vWF 抗原水平变化情况没有得到一致的结论。由于 ADAMTS13 可以裂解大分子的 vWF,延缓血栓形成,有明显的抗栓和抗炎作用,因此 ADAMTS13 与心脑血管疾病的关系也备受关注。Matsukawa^[19]和 Chion^[20]等关注了急性心肌梗死(AMI)患者血浆 ADAMTS13 水平的变化,结果显示急性心肌梗死患者 ADAMTS13 水平显著低于对照组,vWF/ADAMTS13 显著高于对照组。关于急性脑梗死患者 vWF 和 ADAMTS13 变化情况的研究较少。

Andersson 等^[21]研究发现 vWF 抗原水平的升高和 ADAMTS13 抗原水平的降低会增加脑卒中的发生风险,这为我们关注血浆 vWF 抗原水平与 ADAMTS13 抗原水平间的关系提供了重要依据。

本研究主要关注急性脑梗死(发病 7 天内)患者血浆 vWF 抗原水平和 ADAMTS13 抗原水平的变化情况。研究发现,急性脑梗死患者的 vWF 抗原水平与对照组患者相比显著升高。为了排除脑梗死急性期炎症反应对 vWF 抗原水平的影响,本研究同时检测了急性脑梗死患者和对照组的高敏 C 反应蛋白的水平,发现急性脑梗死患者组和对照组高敏 C 反应蛋白水平无显著差异。急性脑梗死患者血浆 vWF 升高的原因可能为:急性脑梗死急性期血流动力学紊乱,造成高切应力;交感神经兴奋,肾上腺素释放增加;凝血酶和纤维蛋白原增多;血管局部切应力改变等因素,都可能引致内皮细胞释放 vWF^[22]。大量的 vWF 释放入血,导致血浆中 vWF 水平显著升高。高水平的 vWF 介导血小板的黏附、聚集,促进血栓形成和扩大^[23],最终导致急性脑梗死的发生。

同时,研究发现急性脑梗死患者血浆 ADAMTS13 的抗原水平与对照组相比是显著下降的。由于 ADAMTS13 参与水解大分子量的 vWF,使得 vWF 的分子量降低,聚集血小板的能力下降,从而发挥明显的抗栓能力。因此急性脑梗死患者 ADAMTS13 水平是降低的。分析 ADAMTS13 抗原水平下降的原因,急性脑梗死发病初期,斑块破裂损伤血管内皮细胞,使 vWF 多聚体释放出来,循环中大量 ADAMTS13 裂解 vWF 多聚体,使其消耗增加,导致血中 ADAMTS13 含量下降^[24];另一种解释可能是血栓及其调节因子通过蛋白酶等调控机制,促进 ADAMTS13 降解加速或抑制其活性^[25],最终导致 ADAMTS13 水平和活性下降,导致血栓形成和增加,最终导致脑梗死的发生。这些导致急性脑梗死患者 ADAMTS13 抗原水平下降的具体原因需要大规模临床研究证实。

本研究在 Pearson 相关分析中显示,vWF 抗原水平与 ADAMTS13 抗原水平呈显著负相关,这与之前的研究结果不一致,种族不同、检测方法不同可能会造成研究结果的差异,这一结论未来需要大规模的研究来证实。同时我们的研究证实急性脑梗死患者 vWF 抗原水平与 ADAMTS13 抗原水平的比值(即 vWF/ADAMTS13)明显高于对照组,差异有统计学意义。

研究^[26]还发现 vWF 抗原水平和 ADAMTS13 抗原水平的变化与急性脑梗死患者预后的关系。二元 Logistic 回归分析显示,高 vWF 抗原水平、高血压病与患者的 90 天不良预后相关(mRS > 2 分)。由于本研究的样本量限制,该结论需要大样本病例对照研究证实。

综上所述,本研究通过检测 64 例急性脑梗死患者和 24 例非急性脑梗死患者血浆 vWF 抗原水平和 ADAMTS13 抗原水平,结果证实,急性脑梗死患者的血浆 vWF 抗原水平显著升高,ADAMTS13 抗原水平显著下降,差异有统计学意义。血浆 vWF 抗原水平与 ADAMTS13 抗原水平呈明显负相关。具有高 vWF 抗原水平、高血压病史的急性脑梗死患者 90 天的预后欠佳。

[参考文献]

- [1] Arya M, Anvari B, Romo GM, et al. Ultra large multimers of von Willebrand factor form spontaneous high-strength bonds IV in the platelet glycoprotein Ib-IX complex: studies using optical tweezers [J]. *Blood*, 2002, 99: 3 971-977.
- [2] Majerus E M, Anderson P J, Sadler J E. Binding of ADAMTS13 to von Willebrand factor[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(23): 21 773-778.
- [3] Majerus E M, Zheng X, Tuley E A, et al. Cleavage of the ADAMTS13 propeptide is not required for protease activity [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 46 643-648.
- [4] Pimanda J, Hogg P. Control of von Willebrand factor multimer size and implications for disease [J]. *Blood Rev*, 2002, 16(3): 185-192.
- [5] De Cristofaro R, Peyvandi F, Palla R, et al. Role of chloride ions in modulation of the interaction between von Willebrand factor and ADAMTS13 [J]. *J Thromb Haemost*, 2005, 280: 23 295-302.
- [6] Hacke W, Brott T, Caplan L, et al. Thrombolysis in acute ischemic stroke: controlled trials and clinical experience [J]. *Neurology*, 1999, 53(7 suppl 4): S3-S14.
- [7] del Zoppo GJ. Antithrombotic treatments in acute ischemic stroke[J]. *Thromb Haemost*, 1999, 82(2): 938-946.
- [8] Stoll G, Kleinschnitz C, Nieswandt B. Molecular mechanisms of thrombus formation in ischemic stroke: novel insights and targets for treatment[J]. *Blood*, 2008, 112: 3 555-562.
- [9] Hall R I, Smith M S, Rocker G. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations[J]. *Anesth Analg*, 1997, 85(4): 766-782.
- [10] Petri B, Broermann A, Li H, et al. von Willebrand fac-

- tor promotes leukocyte extravasation[J]. *Blood*, 2010, 116; 4 712-719.
- [11] Nishio K, Anderson P J, Zheng X L, et al. Binding of platelet glycoprotein I b α to von Willebrand factor domain A1 stimulates the cleavage of the adjacent domain A2 by ADAMTS13[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101; 10 578-583.
- [12] Bemardo A, Ball C, Nolasco L, et al. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultra-large von Willebrand factor multimers under flow[J]. *Blood*, 2004, 104: 100-106.
- [13] Yoo G, Blomback M, Schenck-Gustafsson K, et al. Decreased levels of von Willebrand factor-cleaving protease in coronary heart disease and thrombotic thrombocytopenic purpura: study of a simplified method for assaying the enzyme activity based on ristocetin-induced platelet aggregation[J]. *British J Haematol*, 2003, 121(1): 123-129.
- [14] Christoph Kleinschnitz, Simon F, Tobias Schwarz, et al. Deficiency of Willebrand factor protect mice from ischemic stroke[J]. *Blood Rev*, 2009, 113; 3 600-602.
- [15] Zhao B Q, Chauhan A K, Canaule M, et al. von Willebrand factor-cleaving protease ADAMTS13 reduces ischemic brain injury in experimental stroke[J]. *Blood*, 2009, 114: 3 329-334.
- [16] 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[J]. *Stroke*, 2010, 41; 2 151-156.
- [17] Hanson E, Jood K, Karlsson S, et al. Plasma levels of von Willebrand factor in the etiologic subtypes of ischemic stroke[J]. *J Thromb Haemost*, 2011, 9; 275-281.
- [18] Johansson L, Jansson J H, Boman K, et al. Prospective study on soluble thrombomodulin and von willebrand factor and the risk of ischemic stroke and he morrhagic stroke [J]. *Thromb Haemost*, 2002, 87; 211.
- [19] Matsukawa M, Kaikita K, Soejimak F, et al. Serial change in von Willebrand Factor-leaving Protease (ADAMTS13) and Prognosis After Acute Myocardial Infraction [J]. *Am J Cardiol*, 2007, 100; 758-763.
- [20] Chion CK, Doggen CJ, Crawley JT, et al. ADAMTS13 and von Willebrand factor and the risk of myocardial infarction in men [J]. *Blood*, 2007, 109 (5): 1 998-2 000.
- [21] Andersson HM, Siegerink B, Luken BM, et al. High vWF, low ADAMTS13, and oral contraceptives increase the risk of ischemic stroke and myocardial infarction in young women[J]. *Blood*, 2012, 119; 1 555-560.
- [22] Galbusera M, Donadelli R, Paris S, et al. Fluid shear stress modulates von Willebrand factor release from human vascular endothelium[J]. *Blood*, 1997, 90; 1 558-564.
- [23] Li M, Goto S, Sakai H, et al. Enhanced shear-induced von Willebrand factor binding to platelets in acute myocardial infarction[J]. *Thromb Res*, 2000, 100; 251-261.
- [24] Van den Born B J, Wan der Hoeven N V, Groot E, et al. Association between thrombotic microangiopathy and reduced ADAMTS13 activity in malignant hypertension[J]. *Hypertension*, 2008, 51; 862-866.
- [25] Mannucci PM, Capoferri C, Canciani MT. Plasma levels of von Willebrand factor regulate ADAMTS13, its major cleaving protease [J]. *Br J Haematol*, 2004, 126 (2): 213-218.
- [26] Crawley JT, Lane DA, Woodward M, et al. Evidence that high von Willebrand factor and low ADAMTS13 levels independently increase the risk of a non-fatal heart attack [J]. *J Thromb Haemost*, 2008, 6; 583-588.

(此文编辑 许雪梅)