

外周动脉粥样硬化患者侵入性干预的血管性血友病因子

von Willebrand factor in patients with peripheral artery disease who undergo invasive treatment

论证。内皮细胞 (EC) 产生抗凝血因子和促凝血因子, 尤其是血管性血友病因子 (vWF)。vWF 导致血小板活化并引发其聚集, 并且在调节血管炎症方面也很重要。

目的: 研究外周动脉粥样硬化患者下肢动脉血管内或开放手术时vWF的水平和活性。

材料与方。根据A. V. Pokrovsky - Fontaine该研究包括115名IIb - IV期慢性下肢缺血患者。55名患者接受了下肢动脉血管内介入治疗, 60名患者接受了开放式分流术。治疗前和治疗后3个月, 所有患者均进行外周血取样, 以评估vWF抗原 (AH) 水平和vWF活性。年内每3个月对患者进行一次随访, 评估不良后果的发展, 包括疾病进展、再狭窄、重建区血栓形成、癌症、心肌梗死 (MI)、肢体丧失、中风和死亡。

结果。血管内手术组的患者中, 检测到AH vWF的最大值为多层次病变类型- 1.25微克/毫升 (vs 0.2微克/毫升, 95%可信区间 (CI) 0.72 - 3.21微克/毫升, $p=0.019$); 3个月内。类似的趋势仍在继续。血管内干预组中与无心脏病发作的患者 (0.9微克/毫升, 95%可信区间0.78 - 1.01微克/毫升, $p=0.015$) 相比, 随后发生心肌梗死的患者的“AH-vWF”在统计学上显著高于无心脏病发作的患者 (1.15微克/毫升, 95%可信区间1.05 - 1.18微克/毫升)。此外, 在一年中具有致死结果的患者中3 个月的 AH vWF 增加达到1.06微克/毫升 (95% CI 0.96 - 1.18 微克/毫升, $p = 0.031$)。血管内治疗后一年内发生心肌梗死的个体的 vWF 活性比没有心肌梗死的个体高 4 倍 ($p = 0.022$); 在死亡的发展方面观察到类似的趋势 ($p = 0.009$)。3 个月内开放手术组的患者中, 观察到最高的 vWF 活动与动脉床的近端病变呈回股股骨闭塞的形式 (1200%, 95% CI 640-1200%) 和 IV 期疾病 (770%, 95% CI 320 - 1200%, $p < 0.05$)。ROC分析显示, 血管内手术组患者的vWF活性等于或高于620%时可预测致死结果; 该方法的灵敏度和特异性分别为 83.3% 和 75.5%。

结论。外周动脉粥样硬化患者的特征是抗原和vWF活性增加, 在动脉床多层次病变和严重缺血的情况下达到最大值。

下肢动脉血管内手术后患者的抗原和vWF活性增加的特点是在观察的一年内发生MI和死亡。

关键词: 血管性血友病因子; vWF; 外周动脉粥样硬化; 血栓形成; 心肌梗塞

BACKGROUND: Endothelial cells (ECs) produce both anti- and procoagulant factors, in particular von Willebrand factor (vWF). vWF leads to platelet activation following platelet aggregation, as well as is actively involved in vascular inflammation.

AIM: To evaluate the level and activity of (vWF) in patients with peripheral artery disease (PAD) who underwent endovascular or open bypass grafting.

MATERIALS AND METHODS: The study included 115 patients with chronic lower limb ischemia due to PAD, stage IIb-IV according to A.V. Pokrovsky-Fontaine. Fifty-five participants underwent endovascular treatment, while sixty underwent open bypass procedures using synthetic grafts. Peripheral blood samples were collected from all patients at baseline and three months after invasive treatment to determine the vWF antigen and activity. All patients were monitored every three months for a year to detect the development of unfavorable outcomes including disease progression, restenosis, graft thrombosis, oncology, myocardial infarction (MI), limb loss, stroke, and lethal outcomes.

RESULTS: The highest values of vWF antigen in patients who underwent endovascular treatment were detected in patients with multilevel lesions — 1.25 $\mu\text{g/mL}$ (vs 0.2 $\mu\text{g/mL}$, 95% confidence interval (CI) 0.72-3.21 mcg/mL $p = 0.019$); with a similar trend observed after a 3-

month follow-up. Baseline vWF antigen was higher in endovascular group patients who developed myocardial infarction (MI) within a year following the procedures as compared to those without MI: 1.15 mcg/mL (95% CI 1.05–1.175 mcg/mL) and 0.9 mcg/mL (95% CI 0.78–1.01 mcg/mL), respectively ($p = 0.015$). Moreover, vWF antigen was increased at the 3-month follow-up in patients with lethal outcomes—1.06 mcg/mL (95% CI 0.96–1.18 mcg/mL, $p = 0.031$). vWF activity in endovascular group patients with developed MI was four times higher than those without MI ($p = 0.022$); a similar trend was detected in the development of lethal outcomes ($p = 0.009$). Those who underwent open bypass grafting presented with high activity of vWF with maximum values detected in participants with proximal iliofemoral lesions (1200%, 95% CI 640%–1200%) and stage IV disease (770%, 95% CI 320%–1200%, $p < 0.05$). ROC analysis revealed that vWF activity at least 6.2 times higher in patients who underwent endovascular treatment associated with the development of lethal outcomes within one year after invasive treatments; sensitivity and specificity of the method were 83.3% and 75.5%, accordingly.

CONCLUSIONS: Patients with PAD presented with increased vWF antigen and activity with maximum values detected in patients with multilevel lesions and critical lower limb ischemia. Increased vWF antigen and activity was associated with development of MI and lethal outcomes within one year following endovascular procedures on lower extremity arteries.

Keywords: *von Willebrand factor; vWF; peripheral artery disease; thrombosis; myocardial infarction*

论证

内皮功能障碍在许多严重疾病的发病机制中起着重要作用，例如动脉粥样硬化、动脉高血压、糖尿病、自身免疫、炎症、感染和肿瘤疾病。内皮细胞 (EC) 产生抗凝血因子和促凝血因子，这使得内皮细胞成为止血系统中的关键环节之一。内皮分泌的具有促凝作用的活性物质传统上包括纤溶酶原激活剂-1抑制剂、蛋白酶激活受体、血小板激活因子、二磷酸腺苷、血栓素、血栓反应素、胶原和弹性蛋白、纤维粘连蛋白和血管性假血友病因子(vWF) [1]。

vWF是一种大型多结构域粘附糖蛋白，在EC和巨核细胞中合成，在内皮细胞或血小板 α 颗粒的Weibel-Palade小体中积聚为超大高分子量多聚体[2-4]。vWF与血小板的糖蛋白Ib α 、 α IIb β 3和内皮下胶原结合，导致血小板活化并触发其聚集。除了在凝血系统中的关键作用外，血管性假血友病因子在血管炎症的调节中也很重要。VWF及其分子调节剂ADAMTS13参与免疫血栓形成、白细胞的激活和迁移、血管通透性、缺血和再灌注、补体激活和程序性细胞死亡的过程，伴随着中性粒细胞释放胞外中性粒细胞陷阱 (netosis) 中性粒细胞 [5]。

目的是研究外周动脉粥样硬化患者下肢动脉血管内或开放手术时血管性假血友病因子的水平和活性。

材料和方法:

俄罗斯卫生部梁赞国立医科大学地方伦理委员会批准的一项前瞻性队列研究 (clinicaltrials.gov 门户网站 NCT04391374 上的注册号) 包括 115 名患有下肢慢性缺血 IIb-IV 期的患者。根据 A. V. 波克罗夫斯基-方丹的说法，由于外周动脉粥样硬化，根据所进行的侵入性治疗分为两组。

血管内手术组包括55例患者，平均年龄为63 (57-69) 岁。有48名男性患者 (87.3%)。19 名 (34.6%) 患者使用未涂层的镍钛诺支架植入下肢动脉，36 名 (65.5%) - 经皮球囊血管成形术。

开放（旁路）手术组包括60名患者，平均年龄为65（60-67）岁。有51（85%）名男性患者。40（66.6%）名患者接受了股腘动脉旁路移植术，13（21.7%）名分叉主动脉-股动脉旁路移植术，5（8.3%）交叉股-股旁路移植术，2（3.3%）主动脉-腘动脉旁路移植术。

患者动脉床损伤程度、疾病分期和伴随病理见表1。

在纳入研究后和侵入性治疗3个月后，所有患者均接受外周静脉采血，以使用S-Monovette真空管（Sarstedt，德国）研究vWF的水平和活性。血浆中的vWF抗原（AG）使用Technozym vWF:Ag ELISA试剂（Diapharma Group Inc.，美国）在自动Lazurit免疫分析仪（Dynex，美国）上通过酶联免疫吸附测定法测定。存在VWF和抗生素瑞斯托菌素A的情况下，使用VWF试剂（Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH，（西门子医疗保健诊断产品有限公司），德国），使用手动血小板凝集技术测定血浆中的vWF活性。

根据目前的临床指南，所有患者均接受了最佳药物治疗[6]。

自患者入组研究之日起一年内，每三个月评估一次不良结局，包括疾病进展、重建区再狭窄和血栓形成的发展、新肿瘤病例的检测、急性心肌梗塞（MI）、失去肢体（截肢）、中风和死亡。

结果

观察年内血管内手术组和开放手术组患者的疾病结局见表2。

血管内手术组中，记录了6例（10.9%）死亡；两人死亡的原因是心肌梗塞，另外两人是恶性肿瘤（确切位置尚未确定），其余两人死亡的可靠原因尚不清楚。开放操作组中，有2个人（3.9%）死亡；其中一名死因是恶性肿瘤（确切位置尚未确定），第二名死因不明。

有创干预前后3个月血管内和开放手术组AH vWF所示图1。

与需要搭桥手术的患者相比，血管内治疗组患者的vWF抗原较低，分别为0.90（0.20；95%置信区间（CI）0.83-0.97）微克/毫升和1.04（0.22；95% CI 0.98-1.12）微克/毫升，分别为（ $p < 0.001$ ）。

血管内手术组的患者中，AH vWF，当纳入研究时，在股腘闭塞（0.87（0.20，95% CI 0.78-0.95）微克/毫升）和多节段病变（1.25（0.20，95% CI 0.72-3.21）微克/毫升， $p = 0.019$ ），以及髂股骨（0.9（0.15，95% CI 0.79 - 1.01）微克/毫升）和多节段病变（ $p = 0.021$ ）。3个月干预后，多节段病变的AH vWF高于孤立性髂股骨闭塞，分别为1.18（95% CI 1.15 - 1.21）微克/毫升和0.87（95% CI 0.79 - 1.08）微克/毫升分别为（ $p = 0.04$ ），这表明止血特征的内皮功能障碍更严重，这是下肢动脉广泛的动脉粥样硬化病变的特征。

血管内介入治疗后3个月时的VWF抗原干预后一年内发生MI的患者（1.15（95% CI 1.05 - 1.175）微克/毫升）与未发生MI的患者相比（0.9（95% CI 0.78-1.01）微克/毫升）显着更高， $p = 0.015$ 。此外，血管内治疗后3个月内的高血压vWF，在1年后可联系的患者中，与发生致死结果的患者相比，在统计学上显着降低，分别为0.90（95% CI 0.78 - 1.08）微克/毫升和1.06（95% CI 0.96 - 1.18）微克/毫升（ $p = 0.031$ ）。

开放手术的特点是AH vWF从1.10（95% CI 0.96 - 1.21）微克/毫升降至0.91（95% CI 0.71 - 1.10）微克/毫升（ $p = 0.005$ ）。分流干预组中AH vWF与不良结果的发展之间没有相关性。

介入前和介入后3个月血管内和开放手术组患者的vWF活性所示如图2。

血管内手术组患者中纳入研究时，一年内发生心肌梗死的患者的vWF活性显着超过未发生心肌梗死的患者的vWF活性，达1200（95% CI分别为900 - 1200）%

和 300 (95% CI 160 - 800)% (p = 0.022)。接受血管内治疗的个体中观察到 vWF 活性增加，他们在观察的一年内出现了致命的结果：在致命结果的情况下纳入研究时的 vWF 活性为 1200 (95% CI 640 - 1200)%在观察年结束时可以联系到 - 300 (95% CI 160 - 600)% (p = 0.009)。

开放手术组的患者中，回肠-股骨闭塞术的 3 个月时 vWF 活性显著高于股骨腘骨闭塞术，分别为 1200 (95% CI 640 - 1200)% 和 600 (95% CI 160 - 1200)%，分别为 (p = 0.045)。尽管 vWF 活性在 3 个月内下降，但仍显著高于正常值 (70-150%，图 2)。术后 3 个月，vWF 活性在不同疾病分期患者之间存在统计学差异，IIb 期为 160 (95% CI 150-320) %，分期为 640 (95% CI 300-1200) % III 和 770 (95% CI 320 - 1200)% - 在阶段 IV (p <0.05)。

两个治疗组中进行 ROC 分析以建立高血压和 vWF 活动依赖性以及不利结果发展的预测模型，使我们能够获得以下数据：血管内手术组中 vWF 活动与死亡之间的关系分析显示 ROC 曲线下的面积为 0.827 ± 0.064 s 95% CI 0.701-0.952 (图 3)。

该模型的显著性为 0.01。使用约登指数确定的 cut-off 点的 vWF 阈值为 620%。因此，如果 vWF 值等于或高于 cut-off 点 (620%)，则预测为致命结果。该方法的灵敏度和特异性分别为 83.3% 和 75.5%。

讨论

因此，我们发现外周动脉粥样硬化患者的 AH 和 vWF 活性增加。同时，它们越高，动脉床病变越广泛，四肢缺血程度越严重。此外，在接受血管内手术的患者中记录到了高 vWF 活性，同时在第二年发生了急性心肌梗塞和死亡。

最近发表的一些作品也表明 vWF 在动脉粥样硬化患者中的重要作用。T.Nowakowski, et al. (2019) 发表的研究结果描述了外周动脉粥样硬化患者的 vWF 水平升高，尤其是再狭窄组的患者。尽管我们的研究和之前的试验均未发现外周动脉粥样硬化患者的 vWF 与再狭窄之间存在明显关联，T.Nowakowski, et al. 不排除增加的 vWF 水平反映了内皮功能障碍的严重程度，并可能影响再狭窄的发展 [7]。

我们关于一年内发生心肌梗死和/或死亡的外周动脉粥样硬化患者高血压升高与 vWF 活性之间关系的数据与世界文献数据并不矛盾，根据这些数据，vWF 被认为是发展为心肌梗死的重要预后标志物。主要心血管事件。根据我们的研究，这对于患有外周动脉粥样硬化的患者也是如此 [8]。VWF 作为 MI 发展预测因子的作用可以通过其生物学特性和作用来解释：vWF 促进血小板粘附到内皮并保护凝血因子 VIII 免受蛋白 C 的蛋白水解，从而确定血栓形成的血小板和纤维蛋白成分。

因此，vWF 反映了外周动脉粥样硬化病程的严重程度，在缺血性心脏病，特别是心肌梗死的发病机制中起重要作用；vWF 可成为影响多灶性动脉粥样硬化患者管理的潜在治疗靶点 [9-11]。

结论

1. 外周动脉粥样硬化患者中，抗原和血管性血友病因子活性升高，其升高程度与动脉病变的患病率和肢体缺血的严重程度相对应，在下肢动脉多节段病变中最大值为疾病的 IV 期。
2. 抗原和血管性血友病因子活性增加的特征是下肢动脉血管内手术后患者在观察一年内发生心肌梗塞和死亡。

表 1 研究组患者的临床特征 (n = 115)

变数	血管内手术组, n = 55	开放操作组, n = 60
失败等级		
股腘窝闭塞, n (%)	34 (61.8)	32 (53.3)
髂股骨闭塞, n (%)	14 (25.5)	9 (15.0)
腘胫骨咬合, n (%)	1 (1.8)	0
多级失败, n (%)	6 (10.9)	11 (18.3)
Leriche 综合征, n (%)	0	8 (13.3)
疾病阶段		
IIb, n (%)	8 (14.6)	6 (10.0)
III, n (%)	33 (60.0)	39 (65.0)
IV, n (%)	14 (25.5)	15 (25.0)
伴随病理		
动脉手术史, n (%)	6 (10.9)	3 (5.0)
梗死后心硬化, n (%)	18 (32.7)	10 (16.7)
缺血性心脏病, n (%)	27 (49.1)	17 (28.3)
2 型糖尿病, n (%)	18 (32.7)	2 (3.3)
高血压, n (%)	37 (67.3)	44 (73.3)

表 2 观察年期间研究组 (n = 115) 的不利结果

结果类型	血管内手术组, n = 55	开放操作组, n = 60
疾病进展, n (%)	11 (20.0)	3 (5.9)
再狭窄, n (%)	13 (23.6)	6 (11.8)
血栓形成, n (%)	1 (1.8)	10 (19.6)
癌症, n (%)	5 (9.1)	5 (9.8)
心脏病发作, n (%)	4 (7.3)	2 (3.9)
截肢, n (%)	1 (1.8)	5 (9.8)
行程, n (%)	1 (1.8)	1 (2.0)
致死结果, n (%)	6 (10.9)	2 (3.9)

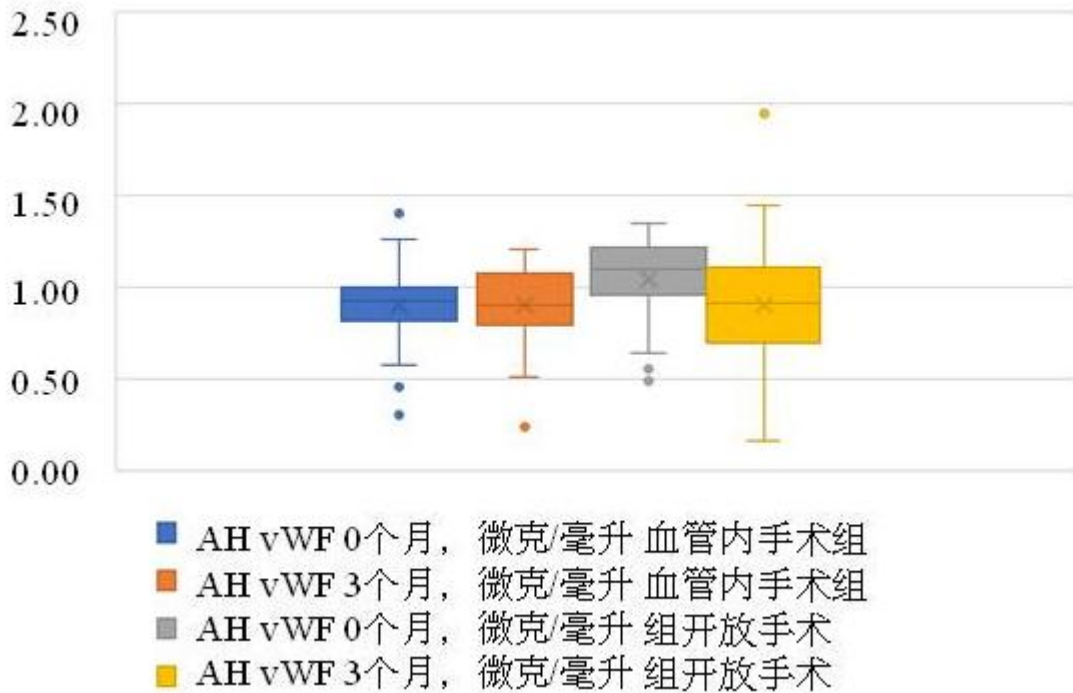


图 1 研究组 (n = 115) 干预前后的 VWF 抗原。

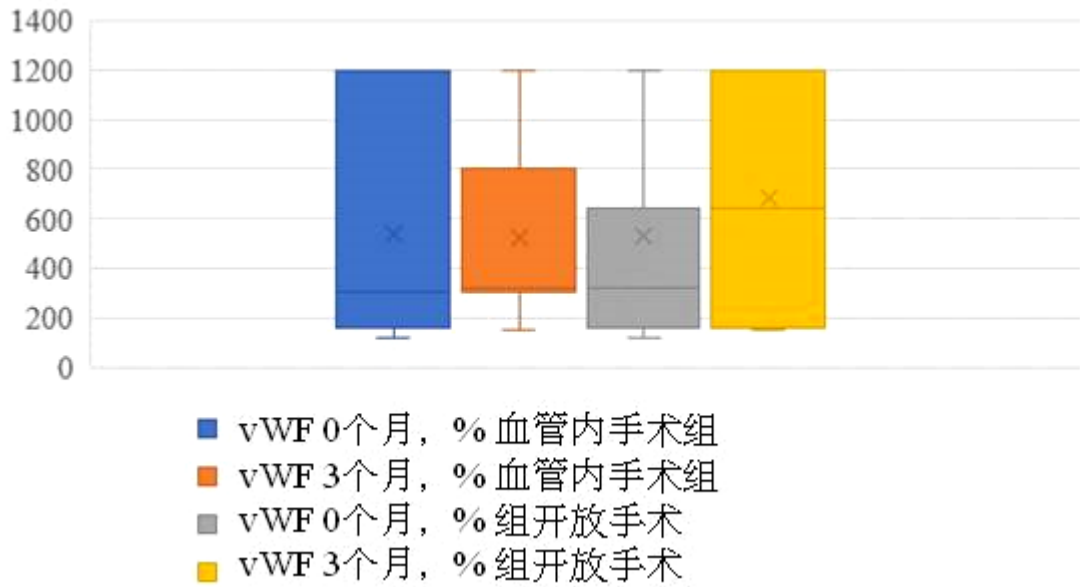


图 2 研究组 (n = 115) 干预前后的 VWF 活动。

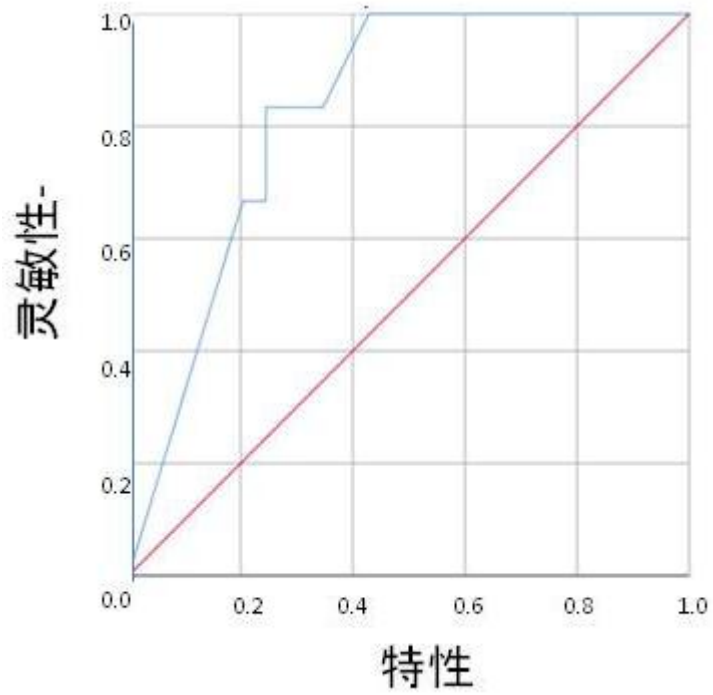


图 3 血管内手术组中 vWF 活动与死亡发展之间关系的预测模型中的 ROC 曲线。