

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Aušra Marcijonienė

**MIGRENA SERGANČIŲ MOTERŲ  
LĄSTELINĖS HEMOSTAZĖS IR PERIFERINIŲ  
KRAUJAGYSLIŲ FUNKCIJOS YPATUMAI**

Daktaro disertacija  
Biomedicinos mokslai, medicina (07 B)

Vilnius, 2011

Disertacija rengta 2006–2010 metais Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto  
Vidaus ligų, šeimos medicinos ir onkologijos klinikoje.

Mokslinis vadovas:

prof. dr. Virginijus Šapoka (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai,  
medicina – 07 B), 2007–2010 m.

## TURINYS

SANTRUMPOS.....	5
1. ĮVADAS.....	8
1.1. Tiriamoji problema.....	8
1.2. Darbo aktualumas ir reikšmė.....	10
1.3. Darbo tikslas.....	10
1.4. Darbo uždaviniai.....	11
1.5. Darbo naujumas.....	12
1.6. Ginamieji teiginiai.....	12
2. LITERATŪROS APŽVALGA.....	13
2.1. Migrena, jos tipai ir ryšys su kardiovaskulinėmis komplikacijomis.....	13
2.2. Uždegiminio proceso vaidmuo migrenos patogenezėje.....	13
2.3. Migrenos priepuoliai ir trombocitų funkcinis aktyvumas.....	20
2.4. Kraujagyslių funkciniai ir struktūriniai kitimai sergantiems migrena.....	27
2.4.1. Endotelio aktyvacijos žymenys.....	28
2.4.2. Kraujagyslių reaktyvumas.....	30
3. TIRIAMIEJI IR TYRIMO METODAI.....	35
3.1. Tiriamųjų atranka ir grupių sudarymas.....	35
3.2. Tyrimo eiga.....	35
3.3. Tyrimo metodika.....	36
3.3.1. Kardiovaskulinių ligų tradiciniai rizikos veiksniai ir antropometriniai duomenys.....	36
3.3.2. Uždegiminių žymenų: C reaktyvaus baltymo ir serumo amiloido A nustatymo metodika.....	38
3.3.3. Trombocitų funkcinio aktyvumo vertinimas tėkmės citometrijos metodu.....	38
3.3.4. Neinvaziniai endotelio funkcijos tyrimai.....	39
3.3.4.1. Ultragarinis endotelio funkcijos tyrimas žasto arterijoje - nuo endotelio priklausoma tėkmės sąlygota dilatacija.....	40
3.3.4.2. Lazerinė doplerografija.....	41
3.3.4.3. Periferinių arterijų tonometrijos metodas.....	42
3.3.5. Arterijų standumo tyrimas aplanacinės tonometrijos metodu.....	43
3.4. Statistiniai metodai.....	46

4. REZULTATAI.....	48
4.1. Kardiovaskulinių ligų rizikos veiksnių ir antropometrinių duomenų palyginimas.....	48
4.1.1. Sergančiųjų migrena ir kontrolinės grupės lyginamoji analizė.....	48
4.1.2. Sergančiųjų skirtingomis migrenos formomis ir kontrolinės grupės veiksnių lyginamoji analizė.....	49
4.2. Trombocitų funkcinio aktyvumo kitimai.....	52
4.2.1. Trombocitų funkcinio aktyvumo palyginimas sergančių migrena ir kontrolinėje grupėse.....	52
4.2.2. Trombocitų funkcinio aktyvumo palyginimas pagal migrenos pobūdį....	59
4.2.3. Trombocitų funkcinio aktyvumo sąsajos su migrenos intensyvumu.....	62
4.3. Migrena ir kraujagyslių reaktyvumas.....	63
4.3.1. Endotelio funkcijos ir kraujagyslių standumo palyginimas sergančiųjų migrena ir kontrolinėje grupėse.....	64
4.3.2. Kraujagyslių reaktyvumo palyginimas kontrolinėje ir migrenos grupėse diferencijuojant pagal migrenos pobūdį.....	68
4.3.3. Kraujagyslių reaktyvumo sąsajos su migrenos intensyvumu.....	72
4.4. Trombocitų aktyvacijos, kraujagyslių reaktyvumo ir migrenos ryšys.....	73
5. REZULTATŲ APTARIMAS.....	77
5.1. Kardiovaskulinių ligų rizikos veiksnių ir antropometrinių duomenų palyginimas.....	77
5.2. Migrena ir trombocitų aktyvacijos žymenys.....	80
5.3. Migrena ir kraujagyslių reaktyvumas.....	85
5.4. Trombocitų aktyvacijos, kraujagyslių reaktyvumo ir migrenos ryšys.....	93
IŠVADOS.....	97
PRAKTINĖS IŠVADOS.....	98
DISERTACIJOS TEMA PASKELBTŲ DARBŲ SĄRAŠAS.....	99
LITERATŪRA.....	100

## SANTRUMPOS

5-HT	(5-hidroksitriptaminas) serotoninas
ADF	adenozino difosfatas
AIx	augmentacijos indeksas
AIx/HR	pagal širdies susitraukimų dažnį koreguotas augmentacijos indeksas
AKS	arterinis kraujospūdis
Ao	aorta
B. Chol	bendrasis cholesterolis
BZ	biologinis nulis (angl. <i>biological zero</i> )
cGMP	ciklinis guanozino monofosfatas
CGRP	su kalcitonino genu susijęs peptidas (angl. <i>calcitonin gene related peptide</i> )
CRB	C reaktyvus baltymas
CVL	cerebrovaskulinė liga
dAKS	diastolinis arterinis kraujospūdis
DTL	didelio tankio lipoproteinų cholesterolis
EKG	elektrokardiograma
EPC	endotelio ląstelės pirmtakės (angl. <i>endothelial progenitor cells</i> )
ET-1	endotelinas-1
FRHI	Framinghamo reakcinės hiperemijos indeksas
GP	glikoproteinas
HA	plotas po hiperemijos kreive (angl. <i>hyperaemia area</i> )
HR	rizikų santykis (angl. <i>hazard ratio</i> )
hs-CRB	didelio jautrumo (angl. <i>high sensitivity</i> ) C reaktyvus baltymas
ICAM-1	intraląstelinės adhezijos molekulė-1 (angl. <i>intracellular adhesion molecule-1</i> )
HIS	Tarptautinė galvos skausmo draugija (angl. <i>International Headache Society</i> )

IL	interleukinas
IMS	intimos ir medijos storis
KAD	kaklo arterijų disekacija
KMI	kūno masės indeksas
KŠL	koronarinė širdies liga
KVL	kardiovaskulinės ligos
LR	lygieji raumenys
M0	migrena be auros
MA	migrena su aura
MCP-1	monocitus stimuliuojantis baltymas- 1
MHz	megahercai
Mm	milimetrai
mmol/l	milimoliai litre
mmHg	milimetrai gyvsidabrio stulpelio
MTL	mažo tankio lipoproteinų cholesterolis
NO	azoto oksidas
OA	plotas po okliuzijos kreive (angl. <i>occlusion area</i> )
OR	galimybių santykis (angl. <i>odds ratio</i> )
PAC-1	antikūnas prieš glikoproteinų IIb/IIIa kompleksą (angl. <i>platelet activation complex-1</i> )
PAT	periferinių arterijų tonometrija
PBG	pulsinės bangos greitis (angl. PWV – <i>pulse wave velocity</i> )
PD	plintanti depresija
PF	maksimali perfuzija (angl. <i>peak flow</i> )
PI	pasikliautinis intervalas
PORH	pookliuzinė reakcinė hiperemija
PSO	Pasaulio sveikatos organizacija
PV	perfuzijos vienetai
RHI	reakcinės hiperemijos indeksas
RF	ramybės perfuzija (angl. <i>rest flow</i> )

RR	santykinė rizika (angl. <i>relative risk</i> )
s	sekundė
SAA	serumo amiloidas A
sAKS	sistolinis arterinis kraujospūdis
SCORE	koronarinės rizikos sisteminis įvertinimas (angl. <i>systemic coronary risk evaluation</i> )
sICAM-1	tirpi intraląstelinės adhezijos molekulė-1 (angl. <i>soluble vascularadhesion molecule-1</i> )
SN	standartinis nuokrypis
SPSS	statistinių programų paketas
sVCAM-1	tirpi kraujagyslinė adhezijos molekulė-1 (angl. <i>soluble vascular adhesion molecule-1</i> )
TAF	trombocitus aktyvuojantis faktorius
TF4	4 trombocitų faktorius
TG	trigliceridai
TNF	naviko nekrozės faktoriaus (angl. <i>tumor necrosis factor</i> )
t-PA	audinių plazminogeno aktyvatorius
TSD	tėkmės sąlygota dilatacija
VCAM-1	kraujagyslinė adhezijos molekulė-1 (angl. <i>vascular adhesion molecule-1</i> )
Vid.	vidurkis
VKK	vidinis klasės koreliacijos koeficientas
VUL SK	Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikos
vWF	von Willebrando faktorius

# 1. ĮVADAS

## 1.1. Tiriamoji problema

Migrena - lėtinis susirgimas, kuriam būdingi pasikartojantys, dažniausiai vienos pusės galvos skausmai, neretai lydimi pykinimo, garso ir šviesos tolerancijos sumažėjimo. Epidemiologinių tyrimų duomenimis, jos paplitimas bendroje populiacijoje siekia apie 10-20 % [1, 2, 3]. Moterys net 3-4 kartus dažniau negu vyrai serga šia liga [4, 5]. Migrena labiausiai vargina 25-55 metų amžiaus asmenis. Tik apie 10 % visų sergančiųjų migrenos priepuolio metu gali dirbti, mokytis, atlikti namų ruošos darbus.

1881 m. pasirodė pirmoji publikacija apie insulto galimą ryšį su migrena. Vėlesniuose tyrimuose nustatyta, kad migrena, ir ypač migrena su aura (MA), siejasi su padidėjusia smegenų išeminių infarktų rizika [1, 2, 6]. 2005 m. pasirodžiusi 11-os atvejų - kontrolės bei 3-jų kohortinių tyrimų (tiriamųjų amžius svyravo nuo 15 iki 84 metų) metaanalizė [7], parodė, kad sergantiems migrena santykinė (reliatyvioji) rizika (RR) įvykti galvos smegenų infarktui yra 2,16 (95% PI 1,89-2,48). Sergant MA ši rizika yra 2,27 (95% PI 1,61-3,19), kai tuo tarpu migrena be auros (M0) – tik 1,83 (95% PI 1,06-3,15). Didesnė rizika nustatyta jauname amžiuje (iki 45 m. RR 2,76) bei moterims vartojančioms kontraceptikus (RR 8,72; 95% PI 5,05- 15,05).

Minėtą metaanalizę papildė vėliau publikuoti didelės apimties prospektyviniai kohortiniai tyrimai. Daugiau nei 39000 moterų vyresnių nei 45-erių metų amžiaus (iš jų migrena diagnozuota 13%), stebėtos 9 metus [1]. Sergančioms MA rasta smegenų infarkto rizika 1,7 karto didesnė nei sveikoms moterims. Ši rizika taip pat didesnė jaunesnių nei 55 metų amžiaus grupėje (RR 2,25; 95% PI 1,30-3,91). *The Stroke Prevention in Young Women Study* duomenimis, jaunoms (15 – 49 m.) moterims, kurioms nustatyta migrena su vizualine aura, išeminio insulto galimybių santykis (OR) padidėja 1,5 (95% PI 1,1-2,00) [6]. Vėlesnių tyrimų rezultatai parodė, kad migrena su aura yra išeminio insulto rizikos veiksnys ne tik moterims, bet ir vyrams [8, 2].



Taigi daugelis tyrėjų patvirtino spėjimus, kad migrena, o ypač MA yra susijusi su 2-3 kartus padidėjusia smegenų išeminio infarkto rizika [1, 2, 6, 8, 9,10] ir kuri ypač didelė jaunos moterims [1, 8, 6, 10]. Tai paskatino sąsają tarp šių ligų tolimesnę paiešką. Pasirodė, kad sergantiems migrena yra dažniau nustatomi kardiovaskulinės rizikos veiksniai (padidėjęs arterinis kraujo spaudimas, didesnės cholesterolio koncentracijos, dažnesnis rūkymas ir kt.) [11]. Be to, priepuolio metu nustatyti ir kraujotakos kitimai galvos smegenyse. Taip susiformavo kraujagyslinės disfunkcijos teorija, apimanti ne tik lokalius pakitimus galvos smegenų arterijose, bet ir kitose kraujagyslėse [12, 13]. 2006 m. svarbias išvadas pateikė T. Kurth su kolegomis, atlikę *Women's Health Study* (tyrime dalyvavo 27840 moterų) analizę [14]. Jie moterims sergančioms MA (skirtingai nuo M0) patvirtino padidėjusią išeminio kraujagyslinio pažeidimo (insulto, miokardo infarkto, krūtinės anginos, kardiovaskulinės mirties) riziką. Didesnė širdies ir kraujagyslių ligų rizika nustatyta ir vyrams sergantiems migrena [8]. 2010 m. paskelbti dar vieno didelės apimties tyrimo rezultatai parodė, kad tiek MA, tiek M0 pacientams yra dažnesnės išeminės komplikacijos, tarp jų ir klaidikacijos atsiradimas [15]. Šių tyrimų rezultatai patvirtino, kad migreną lydi įvairių kraujagyslinių baseinų pažeidimai.

Sergantiems MA įrodyta padidėjusi išeminių insultų (ypač jauniems), ir kitų išeminių - kraujagyslinių komplikacijų (tarp jų ir koronarinės širdies ligos) rizika įvairių mokslininkų yra skirtingai interpretuojama. Manoma, kad šią riziką lemia auros patogenezės ypatumai. Tikėtina, jog MA yra susijusi su sisteminiu kraujagyslių pažeidimu, galbūt ir perivaskuliniu uždegimu. Tai galėtų skatinti biologiškai aktyvių medžiagų išsiskyrimą, trombocitų agregaciją (tiek priepuolių metu, tiek tarp jų) bei mikrotrombų susidarymą. Be to, antrinis koaguliacinės sistemos suaktyvėjimas gali nulemti įvairių lokalizacijų išeminių kraujagyslinių įvykių atsiradimą. Tačiau iki šiol atlikti tik pavieniai tyrimai, vertinę periferinių kraujagyslių pokyčius sergantiems migrena asmenims, o ankstesni trombocitų funkcijos tyrimai turi nemažai trūkumų. Todėl, vykdydami šį tyrimą sergantiesiems migrena, siekėme nustatyti specifinius ir jautrius uždegiminio atsako žymenis, jų ryšius

ne tik su MA ar MO, bet ir su trombocitų funkciniu aktyvumu bei įvairaus diametro periferinių kraujagyslių endotelio funkcija. Gauti rezultatai galbūt padėtų ne tik paaiškinti, kodėl sergant MA yra didesnė širdies ir kraujagyslių ligų rizika, bet ir leistų atrinkti didelės rizikos pacientus ir jiems skirti atitinkamų prevencinių priemonių.

## **1.2. Darbo aktualumas ir reikšmė**

Įrodyta, kad sergantiems migrena su aura nustatomos dažnesnės įvairios išeminės komplikacijos, tačiau migrenos kaip ligos, o ypač auros įtaka jų išsivystymui išlieka neaiški. Be to, paskelbtų tyrimų rezultatai sunkiai palyginami dėl didelės metodikų įvairovės. Šio darbo aktualumas siejamas su tikslu laikotarpyje tarp migrenos priepuolių nustatyti priepuolio metu atsirandančius trombocitų funkcijos kitimų ypatumus, jų ryšį su periferinių kraujagyslių standumu, endotelio funkcija, o taip pat ir bendraisiais kardiovaskulinės rizikos veiksniais. Be to, įvertintas ne tik migrenos, bet ir jos atskirų pasireiškimo tipų (su aura ir be jos) specifinis poveikis ląstelinei hemostazei, t.y. trombocitų agregacinei funkcijai, jų degranuliacijos reakcijai, įtaka trombocitų - monocitų agregatų susidarymui, o taip pat periferinių kraujagyslių endotelio funkcijos ir standumo kitimams, jų ryšys su uždegiminiais rodikliais. Atliktas darbas leidžia ne tik geriau suprasti skirtingų migrenos tipų priepuolių sukeltus specifinius sisteminius kitimus, bet ir jų reikšmę galimoms kardiovaskulinėms komplikacijoms atsirasti.

## **1.3. Darbo tikslas**

Laikotarpyje tarp priepuolių nustatyti moterų, sergančių migrena su aura ir be auros, ryšį ne tik su bendraisiais širdies bei kraujagyslių rizikos veiksniais, bet ir su uždegiminių žymenų specifiškumu, ląstelinės hemostazės ypatumais bei su įvairaus diametro periferinių kraujagyslių endotelio funkcijos bei standumo kitimais.

#### 1.4. Darbo uždaviniai

1. Įvertinti migrena sergančiųjų moterų bendrųjų širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksnių dažnį ir jų ryšį su skirtingomis migrenos klinikinėmis priepuolio pasireiškimo formomis.
2. Nustatyti uždegiminių rodiklių (C reaktyvaus baltymo ir serumo amiloido A) ypatumus ir jų sąsajas su migrena, jos skirtingomis klinikinio pasireiškimo formomis bei trombocitų funkcinio aktyvumo kitimais.
3. Laikotarpyje tarp priepuolių įvertinti migrenos poveikį trombocitų agregacijai, trombocitų degranuliacijos reakcijai bei trombocitų-monocitų agregatų susidarymui.
4. Nustatyti skirtingų migrenos klinikinių formų poveikį funkciniam trombocitų aktyvumui.
5. Įvertinti migrenos priepuolių, jų dažnio ir intensyvumo įtaką trombocitų agregacinei funkcijai, trombocitų degranuliacijos reakcijai bei trombocitų - monocitų agregatų susidarymui ir jų ryšį su skirtingomis migrenos klinikinėmis formomis.
6. Laikotarpyje tarp priepuolių migrena sergančiosioms nustatyti įvairaus diametro periferinių kraujagyslių standumo bei endotelio funkcijos pokyčius.
7. Nustatyti bendrųjų širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksnių ir skirtingų migrenos klinikinių formų poveikį periferinių kraujagyslių standumui bei endotelio funkcijai.
8. Migrena sergančiosioms nustatyti koreliacinius trombocitų agregacijos, degranuliacijos, trombocitų- monocitų agregatų susidarymo ryšius su periferinių kraujagyslių funkciniais ir anatomiais pakitimais.
9. Įvertinti migrenos auros poveikį trombocitų funkcijos aktyvumo koreliaciniams ryšiams su įvairaus kalibro periferinių kraujagyslių endotelio funkcijos bei standumo kitimais.

## **1.5. Darbo naujumas**

Migrena sergančioms moterims laikotarpiu tarp priepuolių kompleksiskai įvertinome ne tik trombocitų funkcinį aktyvumą (trombocitų agregacinę funkciją, degranuliacijos fazę bei trombocitų - monocitų agregatų susidarymą), panaudodami naują, išorinių faktorių mažai veikiamą tėkmės citometrijos metodą, bet ir nustatėme šių pokyčių ryšį su kitais tradiciniais aterosklerozės rizikos veiksniais, tarp jų ir uždegiminį procesą atspindinčiais rodikliais. Pirmą kartą migrena sergančioms moterims ieškota skirtingų uždegiminių žymenų specifiškumo įrodymų. Be to, vertinome ne tik migrenos, bet ir skirtingų jos klinikinio pasireiškimo formų, t.y. migrenos su aura ir migrenos be auros priepuolių intensyvumo bei dažnio įtaką ląstelinei hemostazei bei uždegiminiams rodikliams. Pirmą kartą migrena su aura ir be auros sergančioms moterims pritaikydami neinvazines kraujagyslių tyrimų metodikas (nuo endotelio priklausomą tėkmės sąlygotą dilataciją, lazerinę doplerografiją, periferinių arterijų tonometriją, kraujagyslių standumo matavimą aplanacinės tonometrijos metodu) kompleksiskai ištyrėme periferinių bei mikrocirkuliacijos kraujagyslių funkciją, taip pat nustatėme šių pokyčių koreliacinius ryšius su uždegiminiais rodikliais bei trombocitų funkcinio aktyvumu.

## **1.6. Ginamieji teiginiai**

1. Migrena su aura ir migrena be auros skirtingai veikia trombocitų funkcinį aktyvumą ir periferinių kraujagyslių funkcijos pakitimus.
2. Moterims sergančioms migrena su aura ir be jos trombocitų agregacinė funkcija, degranuliacija, trombocitų monocitų agregatų susidarymas turi ryšį su periferinių kraujagyslių funkcijos pakitimais, uždegiminiais rodikliais ir gali skatinti greitesnę širdies ir kraujagyslių ligų komplikacijų atsiradimą.

## 2. LITERATŪROS APŽVALGA

### 2.1. Migrena, jos tipai ir ryšys su kardiovaskulinėmis komplikacijomis

Išeminių komplikacijų ženkliai didesnis dažnis yra sergantiems MA ir tai siejama su auros patogenezė. Migreninės auros iniciaciją aiškina dvi teorijos. Kraujagyslinė teorija teigia, kad MA kyla dėl kraujagyslių spazmo sukeltų metabolizmo pakitimų smegenų žievėje. Tačiau šie kitimai galėtų turėti įtakos tik galvos baseino kraujagyslėms. Neurogeninio uždegimo teorija aiškina, kad MA kyla dėl pačios žievės pakitimų, taip vadinamos plintančios depresijos (PD). Tai 3-5 mm/min greičiu sklindanti žievės neuronų depolarizacijos banga, kuri suaktyvina trigeminalinę sistemą, todėl išskiriami neuromediatoriai (pvz. su kalcitonino genu susijęs peptidas, CGRP, angl. *calcitonine gene related peptide*) bei citokinai [16]. Manoma, kad tai sukelia kraujotakos pokyčius: iš pradžių trumpalaikę smegenų hiperemiją su vėlesne 1-2 val. trunkančia hipoperfuzija [17, 18]. Be to, aktyvuojamas uždegiminis procesas, pasikeičia trombocitų funkcinis aktyvumas [16, 19]. Manoma, kad migreninė vaskulopatija apima ne tik galvos smegenų, bet ir kitas kraujagysles.

### 2.2. Uždegiminio proceso vaidmuo migrenos patogenezėje

Migrenos priepuolio metu smegenų audinyje dėl neuroninės aktyvacijos, uždegiminių baltymų atsipalaidavimo, plintančios depresijos aktyvuojamas uždegiminis procesas. Pastaraisiais metais vis dažniau prabylama apie tai, kad šie pakitimai nėra lokalūs ir trumpalaikiai, bet apima sisteminę kraujotaką, užsitęsia laikotarpyje tarp priepuolių ir todėl gali vaidinti svarbų vaidmenį kitų organų ir sistemų funkcijai. Uždegiminis procesas kartu su kitais širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksniais yra svarbus aterosklerozės kaip ligos bei jos komplikacijų vystymuisi [20]: bet kurioje šios ligos stadijoje (plokštelės atsiradimas, augimas, plyšimas ir kt.) vykstančius

pokyčius galima priskirti uždegiminiams. Yra pasiūlyta visa eilė ši procesą atspindinčių žymenų, kurių koncentracijų tyrimas padėtų kuo anksčiau nustatyti pacientus, turinčius didelę riziką arterosklerotinėms komplikacijoms. Šie uždegiminiai žymenys skirstomi į tris grupes: citokinai ir chemokinai, tirpios adhezijos molekulės bei ūmios fazės reaktantai.

**Citokinai** – tai mažos molekulinės masės baltymai, kurie užtikrina ryšį tarp skirtingų imuninės sistemos ląstelių, reguliuoja daugelį svarbių organizme vykstančių patofiziologinių, pataloginių procesų, taip pat uždegiminį atsaką bei skausmą. Yra įrodytas interleukino-1 (IL-1), IL-6, IL-8, IL-10, naviko nekrozės faktoriaus (angl. *tumor necrosis factor*- TNF) bei monocitus stimuliuojančio baltymo (MCP-1) ryšys su ateroskleroze. Citokinų koncentracijų pokyčių tyrimai sudėtingi, nes šios molekulės yra „nestabilios“ serume, todėl serumas ar plazma turi būti greitai atskiriami nuo ląstelinio kraujo komponento arba užšaldomi, kad būtų galima jas apsaugoti nuo suirimo [21].

Jau žinoma, kad citokinai gali sukelti galvos skausmą, o IL-1 [22, 23], TNF [24, 25] ir priešūždegiminiai citokinai ( IL-10, IL-4, IL-13, IL-2) [26, 27] vaidina svarbų vaidmenį reguliuojant skausmo slenkstį . Eksperimentinių skausmo modelių pagalba buvo nustatyta, kad skausmo metu išsiskiria su kalcitonino genu susijęs peptidas (CGRP, angl. *calcitonin gene related peptide*), kuris plečia kraujagysles [28], skatina leukocitų ekstravazaciją, reguliuoja citokinų gamybą [29, 30]. Migrenos priepuolio metu šio sensorinio neuropeptido koncentracija didėja [31], o jo suleidimas migrena sergančiam pacientui išprovokuoja galvos skausmo priepuolį [32]. Kadangi kraujotakos pokyčiai trunka ilgiau nei pats skausmas, tai galima galvoti apie „užsitęsusių“ uždegiminį atsaką. Pradėta ieškoti citokinų koncentracijų kitimų ryšio su migrenos priepuoliu bei su cirkuliuojančio CGPR kiekiu. Pirmieji eksperimentiniai tyrimai, nustatę IL-1 ir IL-6 koncentracijų didėjimą pirmomis valandomis po nitroglicerino infuzijos [33], paskatino tolesnius tyrinėjimus [34].

M. Empl ir kt. tyrė TNF ir IL-6 koncentracijas migrena sergantiems pacientams priepuolio metu ir po jo, tačiau skirtumų nei lygindami grupes, nei tyrimų laiką negavo [35]. Autoriai mano, kad tokius rezultatus lėmė trumpas šių citokinių gyvavimo pusperiodis. Be to, kraujo pavyzdžiai imti iš periferinės venos, o vėliau dar buvo praskiedžiami. P. Sarchielli ir kt. septyniems sergantiems migrena pacientams ištyrė veninį kraują iš vidinės jungo venos ir nustatė citokinių kiekio didėjimą pirmomis priepuolio valandomis: IL-6 ir TNF koncentracijos padidėjo po kateterio įvedimo praėjus 1-ai valandai, o po to grįžo į pradinį lygį, o IL-1 nežymiai didėjo nuo 1 iki 4 val. [36]. Tai patvirtino kiti tyrėjai papildomai atkreipdami dėmesį, kad TNF didžiausia koncentracija stebima per pirmas dvi valandas [37, 38], panašiai kaip ir IL-10 [31, 36]. IL-1 kiekio didėjimas taip pat nustatytas priepuolio metu [39, 40], nors IL-6, IL-4 ir IL-2 koncentracijos nekito [29, 41, 42, 43].

Apibendrinant minėtų tyrimų rezultatus, galima teigti, kad migrenos priepuolių metu išsiskiria vazoaktyvūs baltymai bei suaktyvėja uždegiminis atsakas, kuris gali trukti ilgiau nei pats skausmas. Dauguma autorių dėmesį sutelkė į citokinių koncentracijos kitimus tarp ir priepuolių metu, tačiau neišskyrė MA ir M0 grupių, kuriose galima tikėtis esminių skirtumų. Tačiau akivaizdu, kad citokinių koncentracijos kitimai būdingi sergant migrena, ypač pirmomis valandomis po priepuolio. Nustatomas koncentracijų skirtumas vidinėje jungo venoje geriau atspindi procesus, vykstančius smegenų audinyje, bet pakankamai gerai koreliuoja su kitimais periferiniame kraujyje. Nors atliekami moksliniai tyrinėjimai bei gauti rezultatai atrodo daug žadantys, tačiau dėl metodologinių bei standartizacijos trūkumų citokinių tyrimai išlieka skirti daugiau moksliniams tikslams nei pritaikomi kasdieninėje praktikoje.

Aterosklerozės procese svarbios ir labiausiai ištirtos šios **adhezijos molekulės**: E-selektinas, P-selektinas, intraląstelinė adhezijos molekulė-1 (angl. *intracellular adhesion molecule-1* (ICAM-1)), bei kraujagyslinė adhezijos molekulė-1 (angl. *vascular adhesion molecule-1* (VCAM-1)). Tirpios ICAM-1 (sICAM-1) išskiriamos daugelio ląstelių, tarp jų endotelio bei



leukocitų. Šį procesą reguliuoja citokinai. Padidėjusi sICAM-1 koncentracija periferiniame kraujyje nustatyta nestabilios krūtinės anginos atveju [44], sergant tiek periferinių, tiek vainikinių arterijų liga [45, 46]. Sveikiems vyrams, kuriems sICAM-1 siekė aukščiausią kvartilį, yra žymiai didesnė rizika išsivystyti miokardo infarktui [47]. Vieno tyrimo metu konstatuota, kad kiekvienas šios molekulės koncentracijos padidėjimas 100 ng/ml buvo susijęs su beveik 30% padidėjusia širdies ir kraujagyslių ligų rizika [48]. Tuo tarpu tirpios VCAM-1 (sVCAM-1) koncentracija nedidėja esant nestabiliai krūtinės anginai, išeminei širdies ligai [39, 49], nežymiai didėja esant periferinių kraujagyslių ligai bei po ūmaus miokardo infarkto [50]. E - selektinas išskiriamas endotelio ląstelių. Jo koncentracija rasta padidėjusi sergant išemine širdies liga [51], krūtinės angina [43]. Tirpus P-selektinas yra aktyvuotų trombocitų produktas. Padidėjusi jo koncentracija rasta sergantiems cukriniu diabetu, išemine širdies liga, įvykus įvairioms trombotinėms komplikacijoms [52].

Nors galvojama, kad sergantiems migrena yra suaktyvėjęs uždegiminis procesas, tačiau adhezijos molekulių tyrimai yra pavieniai, koncentracijos tirtos tik priepuolių metu, o rezultatai gauti nevienareikšmiai. Vieni tyrėjai migreninio priepuolio metu nustatė žymiai sumažėjusią ICAM-1 koncentraciją [37], tuo tarpu kiti rado ją padidėjusią [30,53], be to, nevertintas ryšys su migrenos tipais.

Dėl šių molekulių „nestabilumo“ bei standartizacijos trūkumų, tyrimai kol kas lieka tik mokslinio tyrinėjimo objektu ir būtų sunkiai pritaikomi praktikoje.

**C reaktyvus baltymas (CRB)**, o ypač didelio jautrumo (*high sensivity*) (hs-CRB), yra jautrus sisteminio uždegimo indikatorius bei nepriklausomas išeminio insulto [54] bei koronarinės širdies ligos rizikos veiksnys [20]. Hs-CRB vadinamas didelio jautrumo dėl to, kad galima nustatyti labai nedidelius koncentracijų svyravimus, kas svarbu vertinat KVL riziką tarp sveikų žmonių. Pagal CRB reikšmę rizika skirstoma į: mažą – kai  $CRB < 1,0$  mg/l, vidutinę- CRB 1,0-3,0 mg/l bei didelę, kai  $CRB > 3,0$  mg/l.



Didelės rizikos terciliui nustatoma apytiksliai du kartus didesnė KVL rizika nei mažos rizikos terciliui.

Panašu, kad migrena yra susijusi su neurovaskuliniu uždegimu, apimančiu ne tik galvos kraujagysles [55], tačiau trūksta duomenų rodančių CRB koncentracijos padidėjimo ryšį su migrena. Atlikta vos keletas tyrimų, vertinusių šio uždegiminio baltymo koncentracijų kitimus. K. Welch ir kt. 60 pacientų, sergančių migrena, ištyrė didelio jautrumo CRB. Jo koncentracijos padidėjimas virš normos ( $>3,0$  mg/l) nustatytas 43% asmenų, 25% iš jų nebuvo rasta kitų būklių, galinčių paaiškinti šį faktą [56]. Minėto tyrimo trūkumas, kad nebuvo kontrolinės grupės. Be to, sunku paaiškinti, kodėl CRB koncentracijos padidėjimas nustatytas daugiau tarp M0 sergančių pacientų. Panašios apimties tyrimas, kuriame jau dalyvavo ir kontrolinė grupė [57], taip pat nustatė CRB padidėjimą migrena sergantiesiems ( $p = 0,045$ ), kuris didesnis buvo M0 grupėje ( $p = 0,003$ ). Šiame tyrime nebuvo kreipiamas dėmesys į alkoholio vartojimą bei fizinį aktyvumą, kurie turi įtakos CRB koncentracijai. Tyrėjai teigia, kad remiantis populiaciniais tyrimais, migrena sergantieji linkę mažiau vartoti alkoholio bei sportuoti [58].

*Women's Health Study* duomenimis (ištyrė 27626 moteris, 5087 iš jų sirgo migrena) CRB padidėjimas stebėtas 39,8% sergančių migrena bei 36,4% neturinčių šios ligos. Statistiškai reikšmingų šio uždegiminio baltymo pokyčių migrenos su aura ir migrenos be auros grupėse nestebėta [1, 59]. Dar vienas didelės apimties tyrimas žymesnių CRB koncentracijos skirtumų tarp MA, M0 ir sveikų asmenų taip pat nenustatė (vyrai sergantys migrena vs kontrolė – 0,83 vs. 0,79 mg/l,  $p = 0,44$ , moterys - 0,87 vs. 0,87 mg/l,  $p = 0,90$ ). [60]. 2009 m. publikuotas dar vienas tyrimas, kuris vis tik įrodė CRB padidėjimą migrena sergančioms moterims, ypač MA grupėje (OR 7,99, 95% PI; 2,32–27,61) [61].

Iš negausių darbų, kuriuose tirtas CRB, kaip uždegiminio baltymo, koncentracijos ryšys su migrena, gaunami prieštaringi rezultatai. Atlikti tyrimai buvo nepakankamos apimties statistiškai reikšmingoms išvadoms suformuluoti arba turėjo metodologinių trūkumų. Be to, jų rezultatai, kai CRB padidėjimas

gautas M0 grupėse, sunkiai suderinami su didelės apimties prospektyvinių tyrimų išvadomis, kad būtent MA yra susijusi su padidėjusia kardiovaskuline rizika [1, 2, 15]. Galbūt rezultatai būtų kitokie, jei CRB koncentracija būtų vertinama priepuolio metu, o dar geriau praėjus parai nuo jo pradžios, nes šio rodiklio pokyčiai atsiranda praėjus 5-10 valandų nuo dirgiklio poveikio, o maksimali vertė pasiekama per 24 val.

**Fibrinogenas** – krešėjimo faktorius, sintezuojamas kepenyse – yra gausiai ištirtas kaip uždegiminis žymuo, dalyvaujantis aterosklerozės procese. Hiperkoaguliacija, sukelta fibrinogeno koncentracijos padidėjimo, žinoma kaip nepriklausomas insulto bei miokardo infarkto rizikos veiksnys [62]. Fibrinogeno koncentracijos kitimai sergantiems migrena asmenims tirti vos keliuose tyrimuose. D. Intisoa ir kt. 102-iems migrena sergantiems bei 94-iems sveikiems asmenims atliko galvos smegenų magnetinio branduolinio rezonanso tyrimą ir, jei buvo patvirtinti židininiai pakitimai, tyrė kraujo koaguliacijos parametrus [63]. Jie reikšmingo fibrinogeno koncentracijos skirtumo tarp migrenos ir sveikų asmenų grupių nenustatė. Vaikams, persirgusiems išeminiu insultu, fibrinogeno koncentracijos padidėjimo nei MA, nei M0 grupėse taip pat nebuvo [64]. Tuo tarpu A. Bianchi nustatė gerokai mažesnę fibrinogeno koncentraciją sergantiems M0 [65]. *Women's Health Study* duomenimis fibrinogeno koncentracija taip pat buvo šiek tiek mažesnė migrenos grupėje lyginant su kontroline, tačiau skirtumas buvo vos 3,5 mg/l- neturintis didelės klinikinės reikšmės [1]. MA ir M0 grupėse fibrinogeno koncentracija aiškiau nesiskyrė B. Salobir, ištyręs 192 moteris su įvykiu lakūniniu smegenų infarktu, priešingai ankstesniems rezultatams, migrenos grupėje nustatė didesnę fibrinogeno koncentraciją, nors statistiškai reikšmingo skirtumo negavo [66].

Galima teigti, kad daugelyje tyrimų migrena sergantiems pacientams nustatytas fibrinogeno koncentracijos sumažėjimas. Tai galėtų būti koaguliacinės sistemos suaktyvėjimo ir fibrinogeno, o taip pat kitų, šiame procese dalyvaujančių elementų, „sunaudojimo“ migreninio priepuolio metu pasekmė, nors labiausiai tikėtino skirtumo tarp MA ir M0 nebuvo stebėta.

**Serumo amiloidas A (SAA)** – tai apolipoproteinas, priskiriamas ūmios fazės baltymams. Jo sintezę kepenyse, kaip atsaką į infekciją, audinių pažeidimą, neoplazmą [67], stimuliuoja Il-1, Il-6 ir TNF [68]. SAA yra vienas iš „dinamiškiausių“ ūmios fazės reaktantų – uždegimo metu šio baltymo koncentracija kraujyje gali padidėti iki tūkstančio kartų. Į kraujotaką jis patenka susijungęs su didelio tankio lipoproteinų (DTL) cholesterolio dalelėmis, kuriose, kaip manoma, jis pakeičia apolipoproteiną A-I, A-II ir A-III [69]. Ūmios fazės metu SAA gali pakeisti nuo 17 % iki 87 % apolipoproteino A-I [70], tuo sutrikdydamas ne tik cholesterolio apykaitą [71], bet ir antioksidacines DTL savybes [72]. Šis junginys pasižymi 3-4 kartus didesniu afinitetu makrofagams nei paprastas DTL. Be to, uždegimo metu makrofaguose padaugėja DTL - SAA prijungimo vietų [73]. SAA koncentracija kraujyje didėja plyšus aterosklerotinei plokštei [74], o taip pat jo randama pačiuose aterosklerotiniuose pakitimuose [73]. SAA yra svarbus hemostazėje. Jis reguliuoja trombocitų agregaciją ir adheziją prie endotelio ląstelių, ypač kraujagyslių pažeidimo vietose [73], slopina tromboksano sintezę, serotonino atsipalaidavimą iš trombocitų ir jų agregaciją [75], veikia kaip citokinas į endotelio ląsteles [76]. Jau yra duomenų, kad šis ūmios fazės baltymas sukelia greitą audinių faktoriaus ekspresiją ir aktyvumą [77].

SAA, nors žymiai mažiau ištirtas nei CRB, gali būti kardiovaskulinių įvykių prognostiniu rodikliu [78, 79]. Padidėjusi šio uždegiminio baltymo koncentracija nustatyta sergantiems nestabilia krūtinės angina, miokardo infarktu [80, 81], įvykus insultui [82]. Tokie tradiciniai aterosklerozės rizikos faktoriai kaip hipercholerteroleminė dieta [83], rezistencija insulinui [84, 85, 86], cukrinis diabetas [85, 86], nutukimas [84] didina SAA koncentraciją. Dėl labai plataus reikšmių spektro šis baltymas gali būti labiau tinkamas vertinti ligos aktyvumą nei CRB. Be to, SAA (o ne CRB) koreliavo su vidutinio laipsnio ir ženkliais aterosklerotiniais pakitimais vainikinėse arterijose [87]. Manoma, kad šio baltymo koncentracija didėja dėl jo sintezės pažeistose kraujagyslėse. *WISE* (*Women's ischemia syndrome evaluation*) tyrimo duomenimis [81], SAA kaip ir CRB yra svarbus

kardiovaskulinių įvykių prognozuojantis rodiklis ( $p < 0,0001$ ). KVL rizika maža - kai SAA  $< 3,9$  mg/l, vidutinė - kai SAA  $3,9-8,2$  mg/l ir didelė - SAA  $\geq 8,3$  mg/l. Jo koncentracijai didėjant kiekvienu  $1$  mg/l įvykių dažnis didėja  $3,2$  % [81]. Tačiau tik SAA buvo nepriklausomai susijęs su angiografiškai patvirtinta koronarine širdies liga ( $p = 0,004$ ), todėl kai kuriais atvejais galėtų būti informatyvesnis nei CRB.

Kadangi svarstoma uždegiminio proceso įtaka pačios migrenos bei vėlesnių išeminių komplikacijų patogenezėje, ieškoma tikslesnių ši procesą atspindinčių rodiklių. Dėl plataus reikšmių spektro bei jautrumo aterosklerotiniam procesui, SAA kitimų kraujyje nustatymas galbūt yra informatyvesnis ir specifiškesnis negu kitų uždegiminių baltymų. Deja, bet migrena sergantiems pacientams jis nebuvo tirtas.

### **2.3. Migrenos priepuoliai ir trombocitų funkcinis aktyvumas**

Šiuo metu įrodyta, kad trombocitai yra svarbūs ne tik užtikrinant optimalią pirminę hemostazę, bet ir dalyvaujant trombozės procese. Šios kraujo ląstelės dalyvauja uždegiminiame, audinių atsinaujinimo, smulkių kraujagyslių tonuso palaikymo ir reguliavimo procesuose. Jų funkcinio aktyvumo pakitimai svarbūs aterosklerozės atsiradimui ir vystymuisi [88, 89]. Trombocitų aktyvumo padidėjimas stebėtas pacientams su aterosklerotiniais miego arterijų pakitimais [81,90], sergantiems periferinių arterijų liga, vainikinių arterijų liga bei ūmiu miokardo infarktu [91].

Dėl didelės serotonino (5-hidroksitriptaminas, 5-HT) koncentracijos (90 % viso organizme esančio serotonino) trombocitai seniai kelia susidomėjimą migrenos atveju. Apie jų aktyvacijos kitimus bei šių kitimų reikšmę migrenos patogenezėje pradėta kalbėti jau nuo 1960 metų. Trombocituose yra visa eilė su serotoninu susijusių elementų: 5-HT-2A receptoriai, membranos 5-HT transporteris, kurio pagalba iš plazmos serotoninas pernešamas ir koncentruojasi tankiosiose granulėse. Taigi trombocituose yra didžiausia organizmo serotonino „saugykla“. Pasirodžius

publikacijoms apie serotonino atsipalaidavimą iš trombocitų migreninio priepuolio metu [92], prasidėjo ilgalaikiai svarstymai apie serotonino ir trombocitų įtaką migrenos patogenezei. Šie svarstymai tęsiasi iki šiol. Ilgą laiką manyta, kad migreną provokuoja staiga pakitęs trombocitų funkcinis aktyvumas [93]. Gerokai vėliau atsirado nuomonė, kad padidėjęs trombocitų funkcinis aktyvumas yra ne priežastis, bet migrenos priepuolio pasekmė. Daugėjant duomenų apie migrenos ir insultų ryšį, domėjimasis trombocitų funkcija vėl išaugo.

Trombocitų aktyvumo pokyčiams vertinti yra sukurta visa eilė šiuolaikinių tiesioginių ir netiesioginių tyrimo metodų. Netiesioginiai metodai pagrįsti trombocitų aktyvumo tyrimais *ex vivo*, tikintis, kad jie atspindi pokyčius *in vivo*. Taip galima įvertinti tiek grįžtamą trombocitų aktyvaciją - agregaciją bei adheziją, tiek negrįžtamą - sekretinį atsaką.

Trombocitų agregacinė funkcija buvo vienas iš labiausiai tyrinėjamų objektų esant migrenai. Trombocitai gali agreguoti spontaniškai, taip pat yra visa eilė medžiagų, kurios tai skatina: trombinas, kolagenas, adrenalinas, adenzindifosfatas (ADF), trombocitus aktyvuojantis faktorius (TAF) ir serotoninas. Padidėjusi trombocitų agregacija nustatyta tiek tarp migrenos priepuolių, tiek jų metu. Tai ir ADF [94, 95, 96, 97], ir serotonino [98, 99, 100, 101], ir TAF [102] bei adrenalino [102, 103, 104] sukelta trombocitų agregacija, tačiau yra ir prieštaringų rezultatų, kai nebuvo stebėta agregacijos pokyčių [105, 106, 107, 108]. Pavyzdžiui, kolagenu provokuota agregacija buvo panaši kaip ir kontrolinėje grupėje [107, 108], trombino sukelta agregacija rasta padidėjusi tarp migreninio skausmo atakų, bet sumažėjusi priepuolio metu [109]. Spontantinė trombocitų agregacija rasta padidėjusi tiek priepuolio metu, tiek tarp jų [95].

Pakitusios trombocitų agregacijos priežastis sergant migrena lieka neaiški. W. Kozubski ir kt., tirdami migrena sergančius pacientus, nustatė padidėjusį fibrinogeno receptorių skaičių bei didesnę jautrumą jiems [110]. Z. Palowska ir kt. įrodė, kad trombocitų membranoje žymiai padaugėja glikoproteino IIb (GPIIb) tiek priepuolio metu, tiek tarp jų [111]. T. Oxman ir

kt. nustatė, kad trombocitų funkcinis aktyvumas veikia jų membranos klampumą, sukeldamas lipidų koncentracijos pasikeitimus [112].

Nors atlikta daug tyrimų, tačiau rezultatus tarpusavyje sunku lyginti. Kadangi dauguma jų atlikti dar iki 1990 metų, iškyla keletas problemų. Sunku buvo atrinkti pacientus tyrimams dėl to, kad nebuvo vieningos standartizuotos klasifikacijos (*IHS (International Headache Society)* klasifikacija paskelbta tik 1988m.). Be to, dažniausiai buvo tiriamos migrenos ir kontrolinė grupės, neišskiriant MA bei M0. Antroji problema susijusi su techninėmis galimybėmis. Trombocitų agregacija gali būti tirama kraujyje ir plazmoje (1 lentelė). Tuo metu plačiai naudotas optinis agregometras, kuriame tirama trombocitais turtinga plazma *ex vivo*. Tokių tyrimų metu baltosios ir raudonosios kraujo ląstelės pašalinamos centrifuguojant, kai tuo tarpu *in vivo* jos atlieka modulatoriaus vaidmenį. Taigi, trombocitų atskyrimas nuo kitų ląstelių centrifuguojant, gali keisti jų dydį, tankį bei elgesį, be to, pašalinami sunkiausi trombocitai, kurie yra jauniausi ir aktyviausi. Kita vertus, naudotos skirtingos induktorių koncentracijos, skirtingos kraujo rinkimo metodikos bei laikas nuo migrenos priepuolio pradžios. Norint išvengti minėtų problemų, kai kurie tyrimai atlikti tiriant natyvinį kraują. Naudojant impedanso agregometrą (2 lentelė) nustatyta, kad migrena sergančių pacientų trombocitų atsakas į kolageną yra normalus [113] arba šiek tiek mažesnis [114].

Šie metodai ne visada atspindi tikruosius organizme vykstančius pokyčius, nes trombocitų funkcinis aktyvumas yra dinaminis ir greitai kintantis procesas, veikiamas kitų kraujo ląstelių bei aplinkinės terpės pokyčių [115]. Todėl šiuo metu vis dažniau naudojami tiesioginiai tyrimo metodai. Tai paviršiaus glikoproteinų, kurie aktyvacijos metu išskiriami iš trombocitų membranos paviršių, analizė tėkmės citometrijos metodu, o taip pat sekrecijos produktų ištyrimas plazmoje ar šlapime.

### 1 lentelė. Trombocitų agregacijos tyrimo būdai.

Turbidimetrinis arba optinis metodas	Tiriama specialiai paruošta plazma, naudojant įvairius agregacijos induktorių derinius ir jų koncentracijas
Impedanso metodas [116]	Tiriamas atskiestas fiziologiniu tirpalu antikoaguluotas kraujas, naudojant įvairius agregacijos induktorių derinius ir jų koncentracijas
Liuminescencinis metodas [117]	Pusiau kiekybinis tyrimas, skirtas trombocitų agregacijai ir ADF išsiskyrimui nustatyti
Trombocitų agregacijos tyrimo sistema („Platelet works“) [118]	Nustatomas trombocitų skaičius ir agregacija (naudojama ADF arba kolagenas) 1 ml antikoaguluoto kraujo. Galima stebėti gydymą trombocitų aktyvumą slopinančiais vaistais
Lazerinis agregometras PA-200 [108]	Jautrus. Skirtas vertinti trombocitų aktyvumui ir mikroagregatų susidarymui
Trombocitų agregacijos kūginis analizatorius [107]	Trombocitų adhezija ir aktyvacija vertinama citruotame kraujyje pusiau automatinio (ar automatinio) būdu

### 2 lentelė. Dažniausiai naudojami trombocitų agregacijos tyrimo metodai ir jų charakteristika

Tyrimo metodas	Privalumas	Trūkumas
Turbidimetrinis arba optinis metodas	Tyrimas nesudėtingas, galima naudoti įvairių agregacijos induktorių	Nefiziologiškas, nes tiriamas ne kraujas, o trombocitais turtinga plazma, ilgai trunka plazmos paruošimas ir tyrimas, jo rezultatai, esant lipeminei plazmai, klaidingi
Impedanso metodas	Tyrimas nesudėtingas,, galima naudoti įvairius induktorius ir jų koncentracijas, išvengiama lipemijos įtakos	Nejautrus, nepakankamai tikslus

Trombocituose yra kelių tipų granulės, kurios atlieka specifines funkcijas: lizosomos (fermentinė saugykla), tankiosios dalelės (jose kaupiamas kalcis ir serotoninas),  $\alpha$  granulės (kaupiama daug įvairių medžiagų, pavyzdžiui, von Willebrando faktorius (vWF),  $\beta$  tromboglobulinas, fibrinogenas, 4 trombocitų faktorius, vitronektinas, fibronektinas). Šios medžiagos, aktyvuojantis trombocitams, išskiriamos į kraujotaką. Pavyzdžiui, veikiant trombocitus aktyvuojančiam faktoriui (TAF) ne tik prasideda intravaskulinė trombocitų



agregacija, bet ir išskirimas 4 trombocitų faktorius (TF4), bei tromboksanas B2 [119]. Taigi, jų atsiradimas kraujyje rodo trombocitų aktyvaciją. Nustatyta, kad migrenos priepuolius lydi vWF [120],  $\beta$ -tromboglobulino ir TF4 koncentracijų padidėjimas [42, 121, 122]. Dauguma tyrėjų tiek MA, tiek M0 pacientams tarp priepuolių rado sumažėjusią serotonino koncentraciją kraujyje bei padidėjusią jo metabolito koncentraciją šlapime [123, 124, 125].

Vienas iš svarbių veiksnių indukuojantis trombocitų agregaciją yra TAF. P. Sarchielli ir kt. galvojo, kad migreniniai priepuoliai gali būti susiję su šio faktoriaus koncentracijos kitimais [126]. Kraujas buvo imamas iš vidinės jungo venos, o tai daug geriau atspindi pokyčius, vykstančius smegenų audinyje. Didžiausia TAF koncentracija gauta pirmąją migreninio priepuolio valandą ir ji patikimai skyrėsi nuo kontrolinės grupės ( $868,4 \pm 65,24$  p < 0,0001). Galima manyti, kad padidėjusi TAF koncentracija priepuolio metu yra trombocitų aktyvacijos ir hipersekrecijos pasekmė. Tačiau šiame tyrime ištirti vos 5 sergantys M0 pacientai. Todėl apie galimą trombocitų aktyvumo padidėjimą tarp priepuolių MA grupėje negalima spręsti. Svarbu paminėti, kad tai buvo pirmasis tyrimas, kuriame tiesiogiai išmatuota šio faktoriaus koncentracija kraujyje.

Jau yra eksperimentinių tyrimų duomenų, kad TAF skatina su kalcitonino genu susijusio peptido (CGRP) išsiskyrimą [127], aktyvuoja endotelio NO (azoto oksido) sintetazę [128] - taigi, skatina NO gamybą. Tai dar dvi biologiškai aktyvios medžiagos, kurių koncentracija didėja didėjant trombocitų aktyvumui. Be to, ir ramybės būsenoje, ir kolagenu aktyvuoti trombocitai patys išskiria azoto oksidą [129]. Tai signalinė molekulė, kuri laisvai juda per membranas bei aktyvuoja intraląstelinę guanilatciklazę, sukeldama ciklinio guanozino monofosfato sintezę. To pasekoje atsipalaiduoja lygieji kraujagyslių raumenys ir išsiplečia kraujagyslės. Sulipdami trombocitai išskiria aktyviai NO, kuris atgaliniu ryšiu slopina agregaciją [130]. Trombocitų ir endotelio ląstelių išskiriamo NO kiekis atitinkamai nuo 50 iki 150:1. Taip galima paaiškinti trombocitų įtaką kraujagyslių tonusui ir kraujotakai. NO yra labai labili molekulė, kurios gyvavimo pusperiodis yra vos kelios sekundės. Ji



greitai oksiduojama iki stabilių junginių: nitritų ir nitratų. Keletas autorių patvirtino šių junginių koncentracijos padidėjimą migreninio priepuolio metu [131, 132, 133], tačiau aiškesnio skirtumo tarp MA ir M0 nestebėjo, duomenys išsiskyrė ir dėl koncentracijų tarp priepuolių.

Nors migrena sergančių asmenų sekrecinę trombocitų funkciją vertinusių tyrimų rezultatai prieštaringi, juose nemažai metodologinių trūkumų, tačiau neabejojama, kad trombocitai vaidina svarbų vaidmenį ir jų aktyvumas turėtų būti pakitęs esant migrenai.

Trombocitų funkcinio aktyvumo pokyčiams bei šių pokyčių reikšmei įrodyti pastaraisiais metais vis dažniau pasirenkamas tėkmės citometrijos metodas. Pagrindinis jo privalumas yra tas, kad matavimai atliekami ne turtingoje trombocitais plazmoje, bet kraujyje. Tokiu būdu išsaugojami aktyviausi trombocitai, maksimaliai objektyviai įvertinamas jų atsakas į organizmo vidinės terpės kitimus, o taip pat sąveika su kitais kraujo forminiais elementais. Be to, nenaudojami jokie papildomi išoriniai stimulai, dirbtiniu būdu aktyvinantys agregacinę funkciją. Panaudojant tėkmės citometrijos metodą, galima ištirti ne tik trombocitų agregacinį potencialą, bet ir įvertinti degranuliacijos fazę bei nustatyti trombocitų-leukocitų agregatų susidarymą. Agregacijos fazei vertinti dažniausiai naudojamas antikūnas PAC-1 (*platelet activation complex*). Jis specifiškai jungiasi prie glikoproteinų IIb/IIIa komplekso, kuris ekspresuojamas aktyvuotų trombocitų paviršiuje [134]. Taigi, PAC-1 – tai aktyvuoto GP IIb/IIIa žymuo, rodantis trombocitų aktyvaciją *in vivo*. Antigenų CD62 (dar vadinamas P-selektinu, membranos integralinis baltymas gaminamas  $\alpha$  granulėse ) ir CD63 (lizosomose gaminamas membranos integralinis baltymas) [135] ekspresija atspindi degranuliacijos fazę. Trombocitų paviršiuje jiems aptikti naudojami atitinkami antikūnai: CD62 ir CD63. Sumaišius kraują su pasirinktu žymeniu ir po to jį ištyrus naudojant tėkmės citometriją, pagal švytėjimo intensyvumą bei žymenis prijungusių trombocitų skaičių galima nustatyti trombocitų funkcinį aktyvumą, jo kitimus sąlygojamus įvairių būklių. Pavyzdžiui, ūmios galvos smegenų išemijos metu nustatyta žymiai daugiau trombocitų prisijungė CD62 ir CD63

antikūnus, tačiau vėliau išliko padidėjęs tik CD63 prisijungimas [136]. Pacientams sirgusiems galvos smegenų infarktu žymiai daugiau nustatyta PAC-1 ir CD62 teigiamų trombocitų tiek ūmiame periode [137], tiek vėliau [138]. Be to, abiejų žymenų daugiau aptikta pacientams, kurie nesirgo insultu, tačiau turėjo miego arterijų aterosklerotinių pakitimų [139]. Taigi, būtų galima galvoti, kad aktyvuoti trombocitai galėtų būti ankstyvas aterosklerozės indikatorius, nesvarbu, ar pakitęs jų aktyvumas yra pasekmė, ar priežastis. P-selektinas ilgą laiką buvo laikomas „auksiniu standartu“, kuris atspindi degranuliacinės fazės pokyčius [139, 140]. Tačiau paaiškėjo, kad trombocitai greitai praranda P-selektiną nuo paviršiaus ir jungiasi su monocitais, sudarydami agregatus [141]. Kaip parodė A. D. Michelsono ir bendraautorių tyrimas, šių agregatų nustatymas yra labai jautrus požymis, geriau negu P-selektino aptikimas, atspindintis padidėjusį trombocitų aktyvumą [142].

Pastaraisiais metais trombocitų aktyvumo kitimams vertinti įvairių ligų bei trombotinių komplikacijų vystymesi vis dažniau pasirenkamas tėkmės citometrijos metodas, migrena sergantiems, mūsų aptiktais duomenimis, yra atliktas tik vienas toks tyrimas. J. Zeller su kolegomis, ištyrę tarp priepuolių 48 M0 ir 24 MA sergančius pacientus, nustatė trombocitų aktyvumo padidėjimą: daugiau nustatyta P-selektino trombocitų paviršiuje bei daugiau trombocitų – leukocitų agregatų (CD45/CD61) [143].

Sunku suformuluoti galutinę išvadą apie trombocitų aktyvumo ypatumus sergantiems migrena. Tyrimų rezultatai per daug prieštaringi, metodologija - skirtinga. Galima teigti, kad trombocitų funkcinis aktyvumas turėtų būti padidėjęs, tačiau nepakanka tai aiškinti tiesiog padidėjusia trombotine rizika, žinant, kokia kintanti ir įvairių veiksnių (stresas, rūkymas ir kiti) veikiama yra agregacija. Apibendrinant galima teigti, kad nepaisant atliktų tyrimų, nors trombocitų hiperagregacijos teorija išlieka patraukli kalbant apie migrenos ir išeminių pakitimų ryšį, pateikti duomenys reikšmingai neįrodo vyraujančio trombocitų vaidmens, nors sudėtinga jų elgsena negali būti ignoruojama. Reikia tolimesnių tyrimų, kurie išsamiau įvertintų hemostazinės sistemos kitimus, taip pat būtų atsižvelgta į metodologinius trūkumus.

Šiuolaikinių metodų taikymas galbūt padėtų atskleisti trombocitų aktyvumo kitimų tendencijas, jų ryšį su migrenos tipais bei įtaką komplikacijų atsiradimui.

#### **2.4. Kraujagyslių funkciniai ir struktūriniai kitimai sergantiems migrena**

Arterijos sienelę sudaro trys sluoksniai: vidinis – intima (tai vienas sluoksnis endotelio ląstelių dengiančių vidinę elastinę plokštelę), vidurinis – media ir išorinis – adventicija. Endotelinių ląstelių sluoksnis vadinamas endotelium, sudaro apie 1% visos kūno masės, o paviršiaus plotas apima apie 5000 m<sup>2</sup>. Jis yra ne tik mechaninis barjeras tarp kraujo ir kraujagyslės sienelės. Endotelis vadinamas didžiausia organizmo liauka [144]. Reaguodamos į tam tikrus dirgiklius, endotelio ląstelės išskiria įvairias aktyvias medžiagas, pasižyminčias antikoaguliacinėmis, antiagregacinėmis bei fibrinolizininėmis savybėmis, kurios svarbios palaikant homeostazę (pvz., prostaciklinas, endotelinas-1, azoto oksidas). Oksidacinis stresas sukelia endotelio pažeidimą, taip vadinamą endotelio disfunkciją. Terminas endotelio disfunkcija apima keletą patologinių būklių: pakitusias antikoaguliacines ir priešuždegimines endotelio savybes, sutrikusį kraujagyslių augimo bei remodeliacijos reguliavimą [145]. Tačiau daugelyje literatūros šaltinių šis terminas naudojamas, kai kalbama apie pakitusią nuo endotelio priklausomą vazorelaksaciją, sukliamą azoto oksido bioaktyvumo sumažėjimo kraujagyslės sienelėje. Bet koku atveju endotelio disfunkcija laikoma ankstyvuoju aterosklerozės požymiu ir yra vienu iš veiksnų kardiovaskulinių ligų išsivystyme [146].

Endotelio funkciją galima įvertinti, nustatant tam tikrų endotelio išskiriamų vazoaktyvių medžiagų koncentracijas (von Willebrando faktorius; audinių plazminogeno aktyvatorius, trombomodulino, E- ir P-selektinų kt.) arba instrumentiniais invaziniais bei neinvaziniais metodais (nuo endotelio priklausomos tėkmės sąlygotos dilatacijos tyrimas (TSD) tyrimas žasto arterijoje ultragarsiniu būdu, nuo endotelio priklausomos tėkmės sąlygotos

vazodilatacijos tyrimas periferinės arterijų tonometrijos metodu, lazeriniu dopleriu). Apie endotelio disfunkcijos atsiradimą galvos smegenų bei kitose kraujagyslėse sergantiems migrena kalbama jau kurį laiką.

#### **2.4.1. Endotelio aktyvacijos žymenys**

Atlikta nemažai tyrimų, vertinančių endotelio funkciją sergantiems migrena. Tirtos įvairių medžiagų koncentracijos, ieškant endotelio funkciją veikiančių (oksidacinis stresas), o tai pat dėl endotelio pažeidimo aktyvuojamų procesų (uždegimas, trombozė, sutrikęs kraujagyslių reaktyvumas) įrodymų.

Beveik visi stimulai, kurie sukelia vazodilataciją, skatina azoto oksido gamybą. Vienu pagrindiniu fiziologiniu dirgikliu, skatinančiu NO gamybą, yra šlyties jėgos, kurias sukelia pagreitėjusi kraujo tėkmė. Proporcingai veikiančioms jėgoms endotelio ląstelės išskiria atitinkamą NO kiekį, dėl ko išsiplečia kraujagyslės [147]. Tai vadinama nuo endotelio priklausoma dilatacija. Ten, kur šlyties jėgos veikia silpniausiai, mažiau išskiriama NO, daugiau išskiriama adhezijos molekulių, augimo faktorių ir aktyvuojamas uždegiminis procesas. Tačiau azoto oksido gamyba nukenčia ir ten, kur veikia itin stiprios šlyties jėgos - sukiamas mechaninis endotelio pažeidimas.

Sergantiems migrena tarp priepuolių nustatyta oksidacinio streso žymenų (tiobarbiturinės rūgšties reaktyvioji substancija) padidėjusi koncentracija [148], tuo tarpu azoto oksido ir jo metabolitų (nitritai ir nitratai) tyrimų rezultatai išsiskyrė: keletas tyrėjų nenustatė pokyčių lygindami su sveikais asmenimis [149, 150, 151], nors kitiems pavyko nustatyti koncentracijos padidėjimą [149, 152, 62], kuri reikšmingesnė buvo M0 grupėje [62]. P. Sarchieli, tyręs kraują iš vidinės jugularinės bei periferinės venų, nustatė aiškų metabolitų kiekio padidėjimą abiejuose kraujo pavyzdžiuose migrenos grupėje [31]. Didžiausia koncentracija stebėta pirmomis valandomis, be to, kitimai centrinėje venoje bei periferijoje buvo panašūs. Tik vieno tyrimo metu azoto oksido metabolitų kiekis buvo mažesnis [153].

Von Willebrando faktorius (vWF) - tai glikoproteinas, sekretuojamas endotelio ląstelių, megakariocitų. Jis svarbus pirminėje homeostazėje. Atsiradus endotelio pažeidimui, vWF išskiriamas į paviršių, aktyvuojami trombocitų glikoproteino IIb/IIIa receptoriai, sukeliama trombocitų adhezija ir agregacija [154]. vWF koncentracija didėja kaip atsakas į oksidacinį stresą. Jis yra vienas svarbiausių endotelio disfunkcijos žymuo [155], o taip pat insulto [156, 157] ir miokardo infarkto [158, 159] nepriklausomas rizikos veiksnys. Tyrimų esant migrenai atlikta nedaug. vWF koncentracija buvo padidėjusi migreninio priepuolio metu [160], bei tarp priepuolių [161], kiek daugiau migrenos su aura (MA) grupėje [62], bei po persirgto insulto [162].

Pakitusios fibrinolizės atspindys – padidėjusi audinių plazminogeno aktyvatoriaus (t-PA) antigeno koncentracija. Fibrinolizės sutrikimas laikomas ankstyvu ir nepriklausomu padidėjusios aterotrombotinių komplikacijų rizikos požymiu [163, 164]. Ilgą laiką manyta, kad t-PA antigeno koncentracijos padidėjimas svarbus nepriklausomas išeminio insulto rizikos veiksnys yra tik vyresniame amžiuje [165, 166], nes jaunos moterys turi aktyvesnę endogeninę fibrinolizę, mažiau aterosklerotinių pakitimų. Vėliau atlikti populiaciniai tyrimai parodė, kad t-PA antigeno koncentracijos didėjimas yra nepriklausomas išeminio insulto rizikos veiksnys ir jauname amžiuje [167]. Migrena sergantiems pacientams t-PA antigenas tirtas tik keliuose tyrimuose. Atvejo - kontrolės tyrime, kur ištirta tik 17 pacientų sergančių migrena be auros, nustatytas sumažėjusi [168], tuo tarpu kitų tyrimų metu nustatytas t-PA antigeno koncentracijos padidėjimas tiek MA, tiek M0 grupėse [62].

Jei yra pažeistos endotelio ląstelės, sutrikusi jų veika, aktyvuojamas endotelio ląstelių pirmtakių (EPC, angl. *endothelial progenitor cells*) patekimas iš kaulų čiulpų į sisteminę kraujotaką [169]. Cirkuliuojančios periferiniame kraujyje EPC yra rezervuaras, iš kurio „atauga“ pažeistas endotelis. Eksperimentiniais tyrimais įrodyta, kad šių ląstelių suleidus į išemijos pažeistą vietą, aktyvinama neovaskuliarizacija [170, 171, 172].

Žinoma, kad EPC kiekis mažėja senstant, sergant išemine širdies liga ar ištikus insultui, veikiant tradiciniams širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksniams [173]. Todėl teigiama, kad EPC kiekis yra susijęs su ateroskleroze. Sergantiems migrena asmenims EPC tyrimų duomenys kol kas paskelbti viename straipsnyje [174]. Sveikiems asmenims nustatyti 55,6 (23,0) EPS kolonijas sudarantys vienetai, sergantiems M0 – 20,4 (22,2), sergantiems MA – tik 8,6 (10,1). Sergantiems M0 ir MA EPC migracija buvo sutrikusi.

#### **2.4.2. Kraujagyslių reaktyvumas**

Kraujagyslių pokyčiai pacientams, sergantiems migrena tirti dažnai. Didžiausias dėmesys buvo kreipiamas į galvos kraujagysles, be to, gauti rezultatai prieštaringi. Pavyzdžiui, tirdami transkranijiniu dopleriu vieni autoriai tarp priepuolių nustatė sumažėjusį smegenų kraujagyslių vazodilatacinį atsaką į hiperkapniją [175], kiti pakitusią kraujotaką stebėjo tik pamatinės arterijos (*a. basilaris*) baseine [176], kai tuo tarpu dar keletu tyrimų metu nustatyta žymiai suintensyvėjusi kraujotaka migrena sergantiems asmenims [177, 178, 179].

Sisteminės kraujotakos endotelio funkcijos tyrimų, tokių kaip ultragarsinis endotelio funkcijos tyrimas žasto arterijoje, lazerinė doplerografija, periferinė arterijų tonometrija bei kraujagyslių standumas, atlikta daug mažiau. Endotelio funkcija ilgą laiką buvo įvertinama tik invaziniu būdu, dėl to kėlė daug sunkumų. 1992 m. D. S. Celermajer su kolegomis pasiūlė neinvazinį tyrimo būdą – nuo endotelio priklausomos tėkmės sąlygotos dilatacijos tyrimą (TSD, ang. *FMD*) [180]. Jo principas: ultragarsu įvertinti žasto arterijos diametro pokyčius prieš ir po išemijos, kuri sukeliama užspaudus penkioms minutėms manžete tiriamosios rankos žasto srityje. TSD – tai procentais išreikštas žasto arterijos diametro padidėjimas po išemijos. Ši dilatacija stebima dėl NO atsipalaidavimo [181], kaip atsako į šlyties jėgų pokytį [182]. Įrodyta, kad žasto arterijos TSD koreliuoja su invaziniais

vainikinių arterijų endotelio tyrimais [183, 184] bei yra kardiovaskulinius įvykius prognozuojantis rodiklis [185, 186].

Nors TSD tapo labiausiai naudojamu endotelio reaktyvumo tyrimu [187], migrena sergantiems atlikti vos keli darbai: nuo endotelio priklausoma tėkmės sąlygota dilatacija rasta nepakitusi [151] arba sumažėjusi [188, 189]. E. Yetkin su kolegomis 24-ioms migrena be auros sergančioms pacientėms nustatė, žymiai mažesnę tėkmės sąlygotą dilataciją negu sveikoms moterims ( $7,6\pm 3,7\%$  vs  $10,4\pm 3,5\%$ ,  $p = 0,008$ ) [189]. Panašius rezultatus gavo ir FH. Vanmolkot [188], tačiau abiem atvejais MA arba nebuvo įtraukta, arba nebuvo išskirta. F. Silva su kolegomis panašaus amžiaus tiriamuosius skirstė į MA, M0 ir kontrolinę grupes, tačiau reikšmingesnio TSD skirtumo tarp grupių nenustatė (atitinkamai  $15,58\pm 1,59$ ,  $15,63\pm 1,26$  ir  $16,02\pm 1,31$ ,  $p = 0,97$ ) [151].

Dėl endotelio disfunkcijos gali didėti arterijų standumas, kuris yra ikiklinikinės aterosklerozės rodiklis [190]. Pagal Windkessel teoriją kraujo cirkuliacija vertinama kaip centrinis elastinis rezervuaras, į kurį širdis pumpuoja kraują, ir iš kurio kraujas patenka į įvairius organus per iš dalies neelastingas struktūras (periferines kraujagysles). Proksimalinių arterijų elastingumas priklauso nuo didelio elastino - kolageno santykio jų sienelėje. Šis santykis tolygiai mažėja nuo centrinių iki periferinių kraujagyslių. Senstant [191] ir veikiant įvairiems rizikos veiksniams (rūkymui, hipercholesterolemijai, arterinei hipertenzijai, cukriniam diabetui, hipodinamijai), periferinių arterijų elastingumas keičiasi nežymiai, tačiau aorta standėja anksčiausiai ir labiausiai [192, 193, 194, 195, 196]. Dėl to greitėja iš širdies sklindanti pulsinė banga ir anksčiau negu normaliai (vėlyvoje sistolėje) atsiranda atspindžio bangos – didėja sistolinis AKS ir pulsinis spaudimas, kuris didina kairiojo skilvelio prieškrūvį ir mažina miokardo perfuziją [197, 198]. Su amžiumi didėjantis arterijų standumas [199] dažniausiai nulemiamas elastinių skaidulų degeneracijos [200].

Kraujagyslių elastingumas priklauso nuo endotelio funkcijos [190, 201, 202], kraujagyslės sienelės lygiųjų raumenų tonuso [203, 204], taip pat numanoma įvairių genetinių veiksnių įtaka.



Kraujagyslių standumą apibūdinantys rodikliai yra pulsinės bangos greitis (PBG) aortoje, augmentacijos indeksas (AIx) ir centrinis arterinis kraujospūdis [205]. Pulsinės bangos greitis aortoje yra laikomas arterijų standumo vertinimo „aukso standartu“. Remiantis laiko skirtumu (sklidimo laiku) ir atstumu tarp pulsinės bangos registravimo vietų, gali būti apskaičiuojamas aortos (miego arterijos – šlaunies arterijos) ir radialinis (stipininė arterija – miego arterija) PBG.

Arterinė spaudimo banga susideda iš dviejų komponentų: iš kairiojo skilvelio sklindančios pulsinės bangos ir atspindėtos bangos. Į priekį keliaujanti pulsinė banga atsispindi daugiausia nuo kraujagyslių išsišakojimo vietų arba tų vietų, kur keičiasi pasipriešinimas. Esant elastingoms kraujagyslėms, dėl mažo pulsinės bangos greičio atspindėta banga grįžta į aortos šaknį diastolės metu. Padidėjus arterijų standumui, PBG didėja, todėl atspindėta banga grįžta į centrinės arterijas anksčiau, prisideda prie pirmyn sklindančios bangos ir didina sistolinį spaudimo komponentą. Šis reiškinys vadinamas augmentacija, o augmentacijos indeksas yra procentinė tokio sustiprėjimo išraiška. AIx ir PBG pokyčiai susiję su amžiumi: AIx didėjimas dažniau stebėtas jaunesniems negu 50 metų asmenims, PBG padidėjimas – vyresniems negu 50 metų tiriamiesiems. Taigi, AIx galėtų būti jautresnis arterijų pokyčių rodiklis jaunesniems asmenims [206].

Domėtis kraujagyslių sienelėse vykstančiais pokyčiais paskatino pastebėjimai, kad migrena sergantiems asmenims dažniau nustatomos kaklo arterijų disekacijos (KAD) [207], ypač miego arterijos [208], ir tai turi ryšį su migrenos tipu (KAD dažniau nustatoma sergantiems migrena be auros) [209]. S. Rubinstein ir kt. [210] atlikdami sisteminę KAD rizikos veiksnių apžvalgą, rėmėsi C. Tzourio ir kt. [211] duomenimis, pagal kuriuos galimybių santykis, kad migrena sergančiam asmeniui įvyks KAD, yra 3,6 [95 % PI; 1,5-8,6]. Migrenos ryšio su KAD priežastys nėra aiškios, manoma, kad tai gali lemti arterijų sienelių struktūriniai ir funkciniai pakitimai. D. Calvet ir kt. tyrė bendrosios miego arterijos, stipininės arterijos ir aortos sienelių savybes 32 KAD patyrusiems ligoniams (praėjus vidutiniškai 2 metams nuo įvykio) bei 32



kontroliniams asmenims [212]. Padidėję standumo rodikliai (sumažėjęs arterijų sienelių išsitempimas širdies ciklo metu, padidėjęs Youngo elastingumo modulis) ligoniams, patyrusiems KAD, buvo rasti tik bendrosiose miego arterijose. Tai nebuvo randiniai pakitimai, nes jie nepriklausė nuo disekacijos lokalizacijos. Todėl manoma, kad migrena sergančių asmenų arterijų sienelių pakitimai gali būti ne tik aterosklerozinės kilmės.

T. Nagai ir kt. ištyrė 30 migrena sergančių, 102 nemigreninius galvos skausmus patiriančių ir 140 kontrolinių asmenų, AIX nustatė didžiausią migrenos grupėje – atitinkamai  $97\pm 12\%$ ,  $89\pm 11\%$ ,  $88\pm 13\%$  ( $p < 0,001$ ) [213]. Tarp nustatytų nepriklausomų veiksnių, turinčių ryšį su AIX, autoriai nurodė ne tik kituose tyrimuose minimus ūgį, sistolinį AKS ir širdies susitraukimų dažnį, bet ir migrenos diagnozę (regresijos koeficientas 6,095,  $p = 0,002$ ). Nemigreninis galvos skausmas ryšio su arterijų standumu neturėjo.

De Hoon ir kt. [214] tiriamieji, kurių vidutinis amžius buvo 38 metai, vidutinė migrenos trukmė 15 metų. Lygindami 50 sergančių migrena ir 50 kontrolinių asmenų mokslininkai konstatavo, kad tarp priepuolių migrena sergančių pacientų smilkinio arterijos buvo platesnės, o bendrosios miego arterijos (BMA) rodikliai (imtimos- medijos storis, diametras, sienelės išsitempimas širdies ciklo metu) ir širdies kraujo išmetimo tūris bei sisteminis pasipriešinimas tarp grupių nesiskyrė. Sergančiųjų migrena žasto arterija buvo standesnė (išsitempimas širdies ciklo metu  $95 (8) \mu\text{m}$  migrena sergantiems ir  $119 (7) \mu\text{m}$  kontroliniams asmenims,  $p = 0,021$ ). Tie patys tyrėjai, norėdami kuo labiau sumažinti dažnų migrenos priepuolių ir vazokonstriktinių vaistų (triptanų ir ergotaminų) poveikį rezultatams, kraujagyslių tyrimus atliko 18-35 metų amžiaus asmenims, migrena sergantiems 1-6 metus ir patiriantiems ne daugiau kaip 1 priepuolį per mėnesį. BMA rodikliai ir PBG aortoje tarp grupių nesiskyrė, tačiau migrena sergančiųjų periferinių raumeninių arterijų (žasto ir šlaunies) diametras ir elastiškumas (gebėjimas pasiduoti spaudimui, angl. *compliance*) buvo mažesni, o AIX padidėjęs [188]. AIX padidėjimas priklausė nuo migrenos diagnozės, ūgio ir vidutinio AKS.

Nei vieni iš minėtų tyrėjų neskirstė pacientų į atskiras MA ir M0 grupes. Vieninteliu atveju, kai buvo skirstoma,, AIx nustatytas reikšmingai mažesnis MA sergantiems ligoniams, tačiau būtent aukštesnio ūgio tiriamieji ir didesnis vyrų skaičius MA grupėje lėmė tokius rezultatus [215]. Todėl tyrėjai apibendrinę duomenis teigia, kad MA ir M0 sergančių ligonių vietiniai ir sisteminiai arterijų sienelės rodikliai nesiskyrė.

Lazerinė doplerometrija taip pat naudojama endotelio funkcijai vertinti. Jos metu tiriama odos kraujagyslės, taigi, vertinama mikrocirkuliacija [216]. Lazerinio doplerio pagalba registruojama perfuzija ramybės būsenoje ir po 5 minučių žasto užspaudimo kraujospūdžio matavimo manžete. Atleidus manžetę, dėl pagreitėjusios kraujo tėkmės sukkelto azoto oksido išsiskyrimo iš endotelio, plečiasi periferinės arterijos. Literatūroje pavyko aptikti tik vieną šį metodą taikiusį tyrimą. Migrena sergantiems vertinta nuo endotelio priklausoma ir nuo endotelio nepriklausoma vazodilatacija atliekant lazerinę doplerometriją, ramybės metu kraujo tėkmės skirtumų nuo kontrolinės grupės nenustatyta [217].

Taigi, yra duomenų, kad migrenos priepuoliai turi poveikį ne tik smegenų, bet ir sistemei kraujotakai bei yra susiję su endotelio disfunkcija. Kalbama apie vaskulopatiją, kurią rodo įvairių aktyvių medžiagų koncentracijų pokyčiai kraujyje bei instrumentiniai tyrimai. Kadangi sergantiems MA dažniau nustatomos įvairios išeminės komplikacijos, tikėtina, kad auros buvimas svarbus jų išsivystymui. Tačiau labai mažai atlikta tyrimų, kuriuose vertinta sisteminės kraujotakos, ypač mikrocirkuliacijos, kitimai migrena sergantiems pacientams. Be to, tik pavieniauose tyrimuose ieškota periferinių kraujagyslių reaktyvumo skirtumų sergantiems skirtingais migrenos tipais. Taip pat nėra tyrimų, kurie būtų analizavę kraujagyslių standumo, endotelio funkcijos pakitimų reikšmę trombocitų aktyvumui. Todėl reikalingi tolimesni išsamūs tyrimai, kurie pabandytų įvertinti auros įtaką įvairiems kraujagyslių baseinams, atsirandančių pokyčių ryšį su homeostaze.

### **3. TIRIAMIEJI IR TYRIMO METODAI**

Tyrimas vyko 2006–2010 metais Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikose (VUL SK). Jį atlikti gautas Lietuvos bioetikos komiteto leidimas Nr.5/026.

#### **3.1. Tiriamųjų atranka ir grupių sudarymas**

Tyrime dalyvavo 60 vidutinio amžiaus (nuo 25 metų iki menopauzės) moterų, kurioms atsižvelgiant į 2004 metų Tarptautinės galvos skausmų klasifikacijos kriterijus VUL SK Nervų ligų centre buvo diagnozuota migrena [218]. Pagal diagnozę jos suskirstytos į dvi grupes: sergančiųjų migrena su aura (MA) – 30, ir sergančiųjų migrena be auros (M0) – 30 moterų. Kontrolinė grupė sudaryta iš 60 sveikų savanoriškai sutikusių dalyvauti moterų. Į tyrimą neįtrauktos: cukriniu diabetu, krūtinės angina, miokardo infarktu, galvos smegenų infarktu sirgusios, praeinančios smegenų išemijos priepuolį patyrusios, nėščios moterys, o taip pat vartojančios antikoaguliantus bei antiagregacinius vaistus. Tyrimai buvo atliekami ne anksčiau kaip po 5-ių dienų po migreninio priepuolio, mėnesinių ciklo vidury, tarp 8-10 valandos ryte, nevalgusioms, nerūkiusioms bei negėrusioms kavos moterims. Be to, jos bent savaitę turėjo nevirtoti jokių trombotinių funkciniam aktyvumui įtakos turinčių vaistų, pavyzdžiui, nesteroidinių vaistų nuo uždegimo, įvairių analgetikų, triptanų. Tyrimą atlikti buvo gautas regioninio etikos komiteto leidimas, o visos tiriamosios pasirašė Asmens informavimo bei Informuoto asmens sutikimo formą.

#### **3.2. Tyrimo eiga**

Anamnezės duomenys apie migreną, KVL rizikos veiksnius, kitas ligas ir vartojamus vaistus surinkti apklausiant moteris. Tiriamosioms išmatuotas ūgis, kūno masė, arterinis kraujospūdis bei paimti veninio kraujo

pavyzdžiai biocheminiams ir tĕkmĕs citometrijos tyrimams. To paties apsilankymo metu pacientĕms buvo atliekamas periferinių kraujagyslių endotelio bei arterijų standumo ištjrimas.

### **3.3. Tyrimo metodika**

#### **3.3.1. Kardiovaskulinių ligų tradiciniai rizikos veiksniai ir antropometriniai duomenys**

Įvertinti KVL rizikos veiksniai (arterinė hipertenzija, dislipidemija, rūkymas, fizinio aktyvumo stoka, nutukimas, ankstyvos koronarinės širdies ligos šeiminė anamnezė) bei vartojami vaistai. Arterinis kraujo spaudimas (AKS) matuotas automatiniu oscilometriniu prietaisu Schiller Argus VCM (Šveicarija) du kartus tiriamajai sėdint; analizei naudotas matavimų vidurkis. Arterine hipertenzija buvo vadinamas sistolinis AKS didesnis negu 140 mm Hg, diastolinis AKS didesnis negu 90 mm Hg arba anksčiau diagnozuota arterinė hipertenzija, kontroliuojama vaistais. Vidutinis AKS apskaičiuotas pagal formulę:  $1/3$  sistolinio AKS +  $2/3$  diastolinio AKS.

Vertinant lipidų apykaitos sutrikimus, VUL SK Laboratorinės diagnostikos centre tirta lipidograma: veniniame kraujyje nustatyta bendrojo cholesterolio (B.Chol), mažo tankio lipoproteinų cholesterolio (MTL), didelio tankio lipoproteinų cholesterolio (DTL) ir trigliceridų (TG) koncentracija. Atskirų lipidogramos komponentų absoliučias vertes pagal patvirtintas VUL SK laboratorijos normas (B. Chol mažiau negu 5,0 mmol/l, MTL 2,6-3,5 mmol/l, DTL daugiau negu 1,2 mmol/l, TG daugiau negu 1,8 mmol/l) suskirstėme į dvi grupes (koncentracija normali arba pakitusi).

Rūkančia buvo vadinama bent 1 cigaretę per pastarąjį mėnesį surūkiusi tiriamoji, nerūkančia – iš viso nerūkiusi ar ilgiau kaip 1 metus nerūkanti moteris. Fiziškai aktyviu buvo vadinamas 3 ir daugiau kartų per savaitę daugiau kaip 30 min. aktyvia fizine veikla užsiimantis asmuo. Mažesnis fizinis aktyvumas buvo vadinamas hipodinamija.

Kūno masę ir ūgį matavome standartizuotomis ir kalibruotomis medicininėmis elektroninėmis svarstyklėmis ir ūgio matuokliu SECA 704 (SECA GmbH & Co, Vokietija), matavimai atlikti apvalinant iki sveikųjų skaičių. Kūno masės indeksas (KMI) apskaičiuotas kūno masę kilogramais dalinant iš ūgio, išreikšto metrais, pakėlus kvadratu. Viršsvoriu buvo vadinamas  $KMI \geq 25\text{kg/m}^2$ .

Ankstyvos koronarinės širdies ligos (KŠL) šeimininė anamnezė buvo teigiama, jei tarp pirmos eilės giminių buvo ištiktų miokardo infarkto ar staigios koronarinės mirties jaunesnių negu 55 m. vyrų arba jaunesnių negu 65 m. moterų.

Visoms tiriamosioms kardiovaskulinę riziką vertinome naudodami NCEP (*National Cholesterol Education Program*) rekomenduotą ATP III (Adult Treatment Panel III) Framingham rizikos vertinimo skalę, kuri padeda įtarti miokardo infarkto bei koronarinės mirties 10 metų riziką [219]. Vertinami rodikliai: amžius, lytis, bendras cholesterolis ir DTL kiekis, sistolinis AKS (bent 2 matavimų vidurkis), rūkymas (bent 1 cigaretė per paskutinį mėnesį), antihipertenzinių vaistų vartojimas. Kiekvienas rodiklis vertinamas taškais, kurie vėliau paverčiami rizikos procentais. Riziką galima apskaičiuoti naudojantis lentelėmis arba elektroniniu skaičiuotuvu [220], kurio apskaičiavimai yra tikslesni. Išskiriamos 3 rizikos kategorijos: mažiau negu 10 %, 10-20 % ir daugiau negu 20 %. Jei asmuo serga kardiovaskuline liga arba cukriniu diabetu, jo rizika iš karto vertinama daugiau negu 20 % [201]. Europos šalyse nuo 2003 metų rekomenduojama kardiovaskulinę riziką vertinti naudojant SCORE (sisteminės koronarinės rizikos vertinimo) sistema (angl. Systemic Coronary Risk Evaluation) [221]. Savo tyrime naujosios SCORE sistemos naudoti negalėjome dėl skirtingų amžiaus grupių: ji vertina 40-65 metų asmenų riziką.

Migrena sergančios moterys papildomai apklaustos bei reikiami duomenys imti iš ambulatorinės asmens sveikatos istorijos (paskutiniai apsilankymai pas neurologą VUL SK neurologijos centre), ligos trukmei bei priepuolių sunkumui ir dažniui įvertinti. Galvos skausmo dažnis – tai dienų

skaičius, kuriomis per pastaruosius tris mėnesius buvo migreninio skausmo priepuoliai. Paskutinių trijų mėnesių patiriamų priepuolių skausmo stiprumas vertintas 10 balų skale, kur 0 – nėra skausmo, 10 – stipriausias galimas skausmas.

### **3.3.2. Uždegiminių žymenų: C reaktyvaus baltymo ir serumo amiloido A nustatymo metodika**

VUL SK Laboratorinės diagnostikos centre naudojant standartinę didelio jautrumo (high-sensitivity) metodiką tirti kraujyje C reaktyvus baltymas (CRP) Architect analizatoriumi (Abbott, US) bei serumo amiloidas A (SAA) BNII analizatoriumi (Dade Behring).

### **3.3.3. Trombocitų funkcinio aktyvumo vertinimas tėkmės citometrijos metodu**

Trombocitų funkcinis aktyvumas nustatytas tėkmės citometrijos (angl. *flow cytometry*) metodu, naudojant trijų spalvų/trijų antikūnų (angl. *three color/three antibody*) techniką FACSCanto aparatu (BD, US), nestimuliuotame kraujyje laikantis tyrimo rekomendacijų [222]. Duomenys analizuoti naudojant BD FACSDiVa programinę įrangą (versija 6.1.2.).

Trombocitams identifikuoti naudojome tris antikūnus: CD42a (GP IX), CD41a (GP IIb) ir CD61 (GP IIIa), o vertinant aktyvumą pasirinkti antikūnai PAC-1(*platelet activation complex*) – specifiskai jungiasi prie aktyvuoto GP IIb/IIIa komplekso (agregacijos fazei vertinti) ir CD63- specifiskai jungiasi prie trombocitų paviršiaus antigeno CD63 (lizosomose gaminamo membranos integralinio baltymo) (degranuliacijos fazei vertinti). Trombocitų - monocitų agregatai nustatyti monocitų populiacijoje aptinkant abu žymenis: trombocitų - CD42a bei monocitų - CD14. Agregatų kiekis vertintas absoliučiu skaičiumi bei procentine išraiška visoje monocitų populiacijoje.

Tyrimams veninis kraujas surinktas į K-EDTA bei natrio citrato turinčius Vacutainer® (BD, UK) mėgintuvėlius, sumaišytas su antikoagulantu švelniai apverčiant vakuteinerius. Kraujas pradėtas tirti tėkmės citometru ne vėliau nei per 30 minučių po kraujo paėmimo. 100µl kraujo buvo skiedžiama 900 µl buferinio tirpalo (Cellwash, BD, US). CD63 nustatymui 50 µl paruošto kraujo buvo inkubuoti su 5 µl kiekvieno antikūno: fykoeritrinu konjugotu CD63 (CD63 PE) (Pharmingen, US), fluorescein-isotiocianatu konjugotu CD61 (CD61 FITC) ir peridinin-chlorofilo baltymu konjugotu CD41 (PerCP CD41) (BD, US). PAC-1 nustatymui 50 µl paruošto kraujo buvo inkubuoti su 5 mcl kiekvieno antikūno: PAC-1 FITC, PerCP CD42a (BD, US). Trombocitų - monocitų agregatų nustatymui naudotas neskiestas kraujas, jį inkubuojant su 5 µl kiekvieno antikūno: PerCP CD42a (BD, San Jose, US), CD45 ir CD14. Po 20 min pavyzdžiai fiksuoti 500 µl CellFix tirpalu (BD, US). Mėgintuvėliai su CD45/CD14/CD42a papildomai lizuoti 2 ml PharmLyse buferiu (BD, US). Galutinis tyrimas atliktas tiriant keturis mėgintuvėlius: su kontroliniais imunoglobulinais, CD61/CD63/CD41, PAC-1/CD41/CD42a bei CD45/CD14/CD42a. Agregacinis trombocitų aktyvumas buvo vertinamas pagal PAC-1 (PAC-1/CD42a), o degranuliacinis aktyvumas pagal CD63 (CD63/CD61 ir CD63/CD41) antikūnus prijungusių trombocitų skaičių. Gauti tyrimų rezultatai išreikšti absoliučiais atvejų skaičiais (kiek tirtų trombocitų prisijungė žymenį), procentais (vertinant, kuri dalis tirtos populiacijos prisijungė žymenį) ir vidutiniu fluorescencijos intensyvumu (VFI) (kaip stipriai švyti trombocitų populiacija, prisijungusi tiriamą žymenį).

#### **3.3.4. Neinvaziniai endotelio funkcijos tyrimai**

Kraujagyslių sienelių tyrimus atliko vienas ir tas pats tikros diagnozės nežinantis patyręs kardiologas Prevencinės kardiologijos poskyryje ryte, patalpoje, kurioje palaikoma pastovi 22° C oro temperatūra. Tiriamoji turėjo būti nerūkiusi, nevalgiusi, negėrusi alkoholio ir kavos mažiausiai 12



valandų, po paskutinio migrenos priepuolio turėjo praeiti bent 5 paros. Tyrimas pradedamas moteriai ramiai pagulėjus 10-15 minučių.

#### **3.3.4.1. Ultragarsinis endotelio funkcijos tyrimas žasto arterijoje - nuo endotelio priklausoma tėkmės sąlygota dilatacija**

Žasto arterijos skersmeniui matuoti naudojamas didelio tikslumo ultragarsinis prietaisas (Prosound α-10, Aloka) su 12 MHz dažnio elektroniniu linijiniu davikliu. Tiriamoji paguldoma ant nugaros, dešinioji jos ranka, kurioje vertinama kraujotaka, patogiai padedama ant specialiai pritaikyto stalelio. Žasto arterija buvo skenuojama išilginiame skerspjūvyje 1-8 cm virš alkūnės linkio. Pasirenkamas kraujagyslės segmentas, kuriame aiškiai matoma artimosios ir tolimosios arterijos sienelės intimos-spindžio riba, skenuotas dvimačiu pilkos skalės režimu. Parinkus optimalią daviklio vietą, ji išlaikoma viso tyrimo metu, atsižvelgiant į ultragarsinio vaizdo anatominius žymenis (tokius kaip venos, raumenų fascijos) bei fiksuojant daviklį specialiu laikikliu. Tėkmės sąlygotai dilatacijai (TSD) sukelti dilbio viduriniame-proksimaliniame trečdalyje uždedama sfigmomanometro manžetė (naudota standartinė kraujospūdžio matavimo suaugusiems manžetė), kuri penkioms minutėms staiga pripučiama 100 mmHg daugiau už prieš tai išmatuotą sistolinį spaudimą, po to staiga atleidžiama. Vertinamas žasto arterijos diametras ramybės būsenoje ir po 5 minučių dilbio užspaudimo kraujospūdžio matavimo manžete. Ultragarsinė sistema tyrimo metu nuolat analizuoja arterijos diametro pokytį viename taške, naudodama radiodažnuminio signalo informaciją (echo-tracking metodu). Reakcinės hiperemijos dydis vertinamas apskaičiuojant procentinį tėkmės maksimalios reakcinės hiperemijos metu ( $V_2$ ) ir ramybėje ( $V_1$ ) santykį. TSD apskaičiuojamas automatiškai programinės įrangos pagalba (arterijos skersmens ( $D$ ) pakitimai hipereminės tėkmės sąlygojamos dilatacijos metu lyginami su išeities matavimais ramybėje ir išreikšti pokyčio procentais nuo arterijos skersmens ramybėje (prilyginto 100 procentų)):

$$\text{TSD\%} = \frac{D \text{ reaktyvinė hiperenzija} - D \text{ ramybė}}{D \text{ ramybė}} \times 100 \%$$



Tokiu būdu apskaičiuotas TSD procentas yra endotelio funkciją atspindintis dydis.

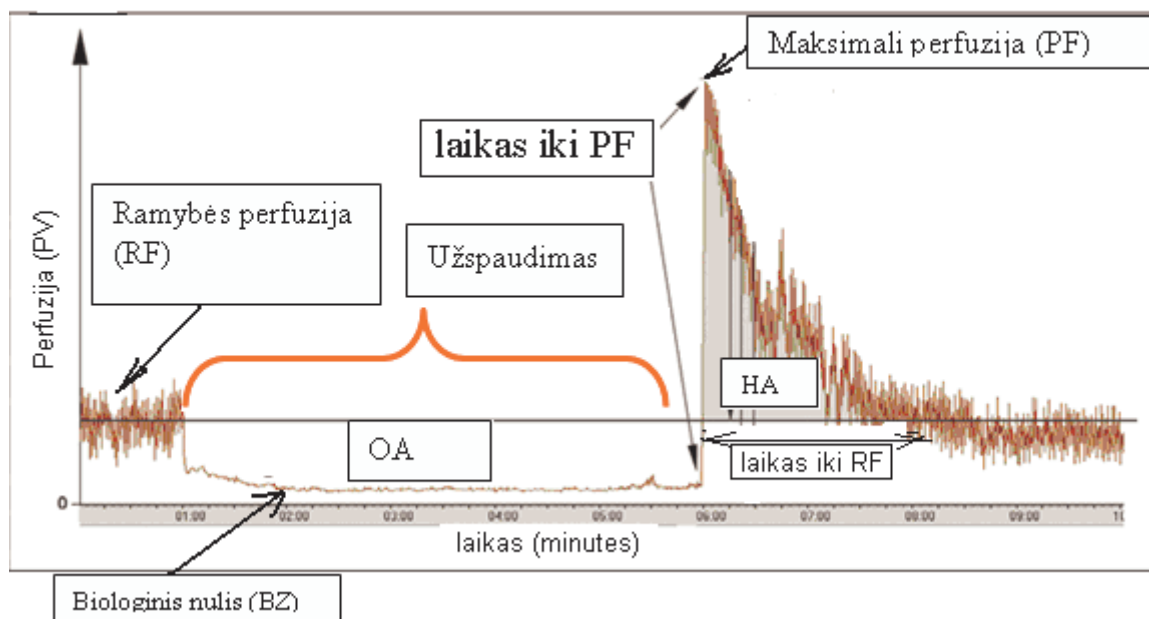
### 3.3.4.2. Lazerinė doplerografija

Lazeriniu dopleriu vertinama endotelio funkcija mikrocirkuliacijoje – odos kapiliaruose, arteriolėse, venulėse ir šuntuose. Naudojama PeriFlux System 5000 (Perimed, Švedija).

Lazerinio doplerio daviklis dedamas nedominuojančios rankos piršto vidurinės falangos nugariniame paviršiuje. Pookliuzinė reakcinė hiperemija (PORH) registruojama kaip perfuzijos pokytis ramybės būsenoje ir po 5 minučių žasto užspaudimo kraujospūdžio matavimo manžete 100 mmHg daugiau nei sistolinis AKS. Atleidus manžetę, dėl pagreitinotos kraujo tėkmės sukkelto azoto oksido išsiskyrimo iš endotelio, plečiasi periferinės arterijos. Periferinė perfuzija išreiškiama perfuzijos vienetais (PV) ir apskaičiuojama pagal formulę:

$$\text{Perfuzija} = \frac{\text{judančių kraujo kūnelių koncentracija}}{\text{koncentracija}} \times \text{vidutinis kraujo kūnelio judėjimo greitis.}$$

Nustatomi įvairūs mikrocirkuliacijos kitimo parametrai, kurių svarbiausi yra šie: ramybės perfuzija (angl. *Rest flow*, RF), biologinis nulisperfuzija, kuri nustatoma užspaudus manžetę (angl. *Biological zero*, BZ), maksimali perfuzija- didžiausia nustatoma perfuzija po manžetės atleidimo (angl. *Peak Flow*, PF), laikas iki RF- laikas iki ramybės perfuzijos atsistatymo (angl. *TimeToRecovery*), laikas iki PF- laikas iki maksimalios perfuzijos (angl. *TimeToMax*), plotai po hiperemijos (angl. *Hyperaemia area*, HA) ir okliuzijos kreivėmis (angl. *Occlusion area*, OA) (1 pav.). Taip pat skaičiuojami kraujotakos pokyčiai, kurie išreikiami procentais: RF–BZ (skirtumas tarp ramybės perfuzijos ir perfuzija, kuri nustatoma užspaudus manžetę), BZ–PF (skirtumas tarp perfuzijos, kuri nustatoma užspaudus manžetę ir maksimalios perfuzijos) ir RF–PF (skirtumas tarp ramybės ir maksimalios perfuzijos) [223].



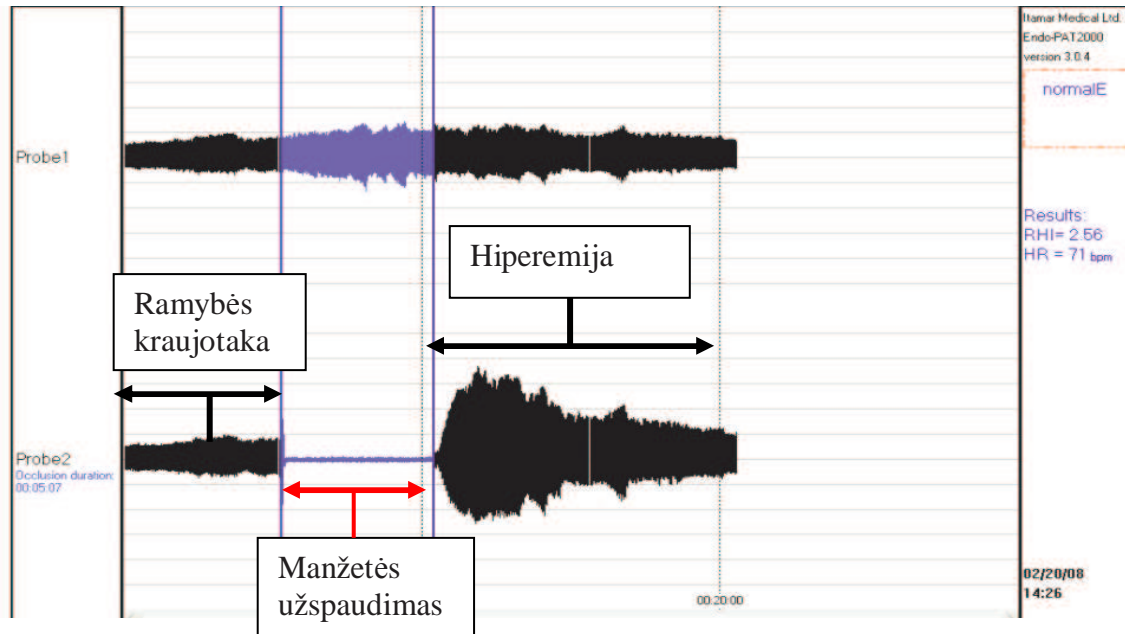
**1 pav. Lazerinės doplerografijos tyrimo metu apskaičiuojami mikrocirkuliaciją atspindintys parametrai**

RF – ramybės perfuzija, BZ (biologinis nulis) – perfuzija, kuri nustatoma užspaudus manžetę, PF (maksimali perfuzija) – didžiausia nustatoma perfuzija po manžetės atleidimo, HA – plotas po hiperemijos kreivę, OA – plotas po okliuzijos kreivę, laikas iki PF – laikas iki maksimalios perfuzijos, laikas iki RF – laikas iki ramybės perfuzijos atsistatymo.

### 3.3.4.3. Periferinių arterijų tonometrijos metodas

Kartu su lazerine doplerografija atliekama ir periferinė arterijų tonometrija (PAT) (Endo-PAT, Itamar, Izraelis). Šiuo metodu vertinama nuo endotelio priklausoma pookliuzinės reakcinės hiperemijos (PORH) sukelta tėkmės sąlygojama vazodilatacija. Tyrimas yra visiškai automatizuotas, nuo tyrėjo nepriklausomas. Tyrimo metu ant abiejų rankų rodomųjų pirštų uždėti pletizmografiniu principu veikiantys davikliai registruoja arterinės pulsinės bangos tūrio pokytį PORH metu nedominuojančioje rankoje. Antrasis daviklis registruoja sisteminius kraujotakos pokyčius kontrolinėje rankoje. Nuo endotelio priklausoma vazodilatacija vertinama tiriamojo piršto arteriniame baseine. Pagrindinis PAT vertinamas parametras – reakcinės hiperemijos indeksas (RHI), atspindintis signalo amplitudžių prieš ir po okliuzijos santykį (programinė įranga apskaičiuoja pagal pookliuzinės hiperemijos santykį su sisteminės kraujotakos pokyčiais, registruojamu kontrolinėje rankoje) (2 pav.).

Maksimali hiperemija stebima praėjus 60-90 s po okliuzijos. Pastarųjų metų tyrimai parodė, kad reakcinės hiperemijos indeksas, skaičiuotas vertinat kraujotaką praėjus 90-120 s po okliuzijos (FRHI- Framinghamo reakcinės hiperemijos indeksas) geriau koreliuoja su tradiciniais KVL rizikos veiksniais [224]. Todėl savo tyrime vertinome abi reikšmes.



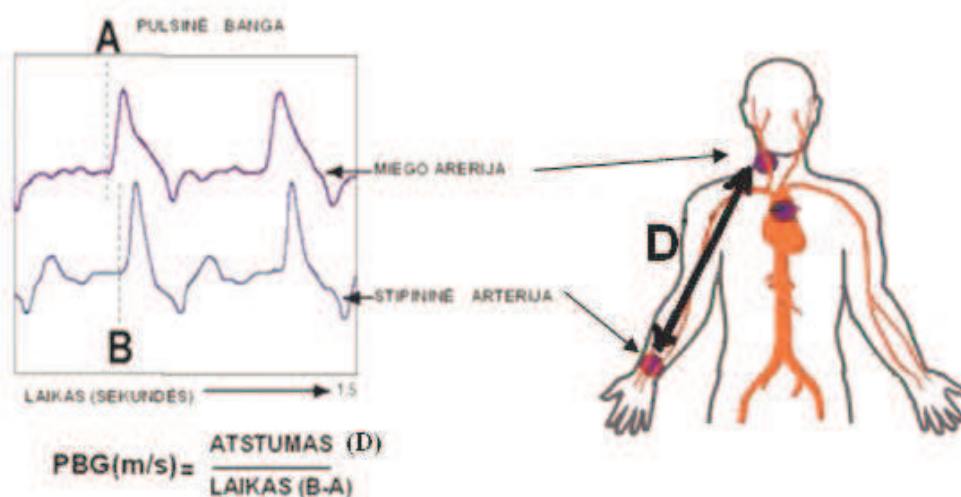
**2 pav. Periferinių arterijų tonometrijos tyrimas**

Nustatytas RHI = 2,56

### 3.3.5. Arterijų standumo tyrimas aplanacinės tonometrijos metodu

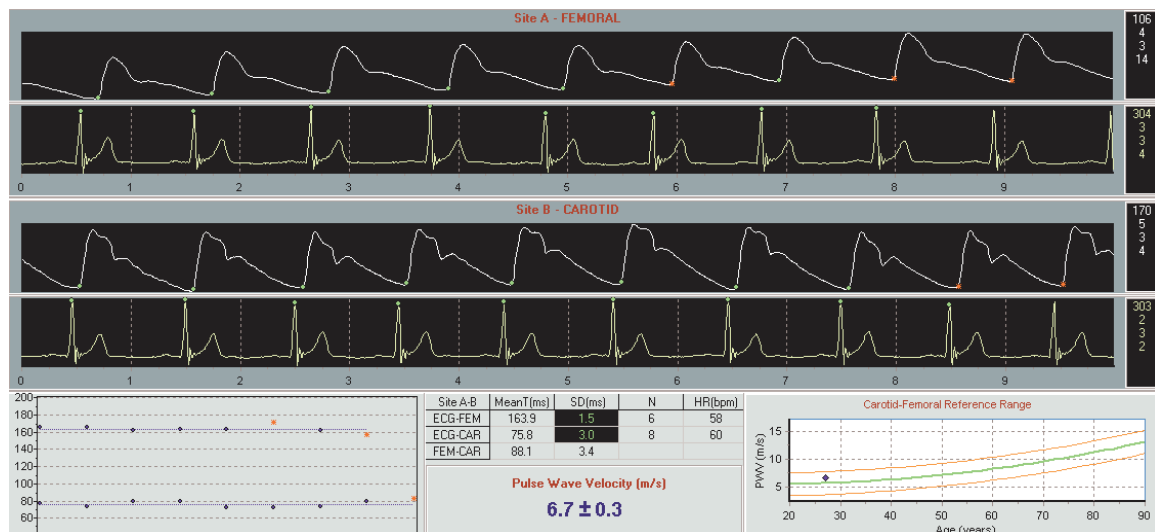
Vertinant arterijų standumą naudojamas Sphygmocor v.8. (AtCor Medical, Sydney, Australia) aplanacinės tonometrijos sistema su didelio tikslumo pjezoelektrinių kristalų mikromanometru (Millar®, Millar Instruments, Houston, TX). Surandamas stipininės, miego ir šlaunies arterijų pulsas ten, kur jos arčiausiai kūno paviršiaus ir remiasi į kietas anatomines struktūras - riešo, kaklo ir kirkšnies srityse. Šiose vietose tyrimo metu paėiliui uždedamas specialus aplanacinės tonometrijos pjezokristalų daviklis. Prieš pradėdant tyrimą centimetrine juostele kūno paviršiuje išmatuojami šie atstumai: tarp daviklio uždėjimo vietos bendrosios miego arterijos projekcijoje ir jungo duobės, jungo duobės ir daviklio uždėjimo vietos stipininės arterijos

projekcijoje, bei jungo duobės ir daviklio uždėjimo vietos šlaunies arterijos projekcijoje. Specialioje programinėje įrangoje suvedami paciento duomenys: ūgis, svoris, amžius, periferinis arterinis spaudimas ir išmatuoti atstumai. Paeiliui registruojama proksimalinės (t.y. bendrosios miego arterijos) ir distalinės paviršinės arterijos (t.y. stipininės ir šlaunies arterijų) pulsinės bangos kreivės. Spaudimo bei pulsinio tūrio kreivės kiekvienos matavimų serijos metu registruojamos 30 sekundžių ir paskaičiuojami kiekvieno matavimo rezultatų vidurkiai. Siekiama, kad programinės įrangos apskaičiuotas tyrimo kokybės indeksas būtų >85%. Registravus šias kreives SphygmoCor® programinė įranga duomenis analizuoja, remiantis laiko skirtumu (sklidimo laiku) ir atstumu tarp pulsinės bangos registravimo vietų, apskaičiuoja arterijų standumo rodiklius: stipininės arterijos pulsinės bangos greitį (stipininės a. PBG) (stipininė arterija – miego arterija), aortos pulsinės bangos greitį (aortos PBG) (miego arterijos – šlaunies arterijos), augmentacijos indeksą (AIx).



### 3 pav. Stipininės a. pulsinės bangos greičio apskaičiavimas.

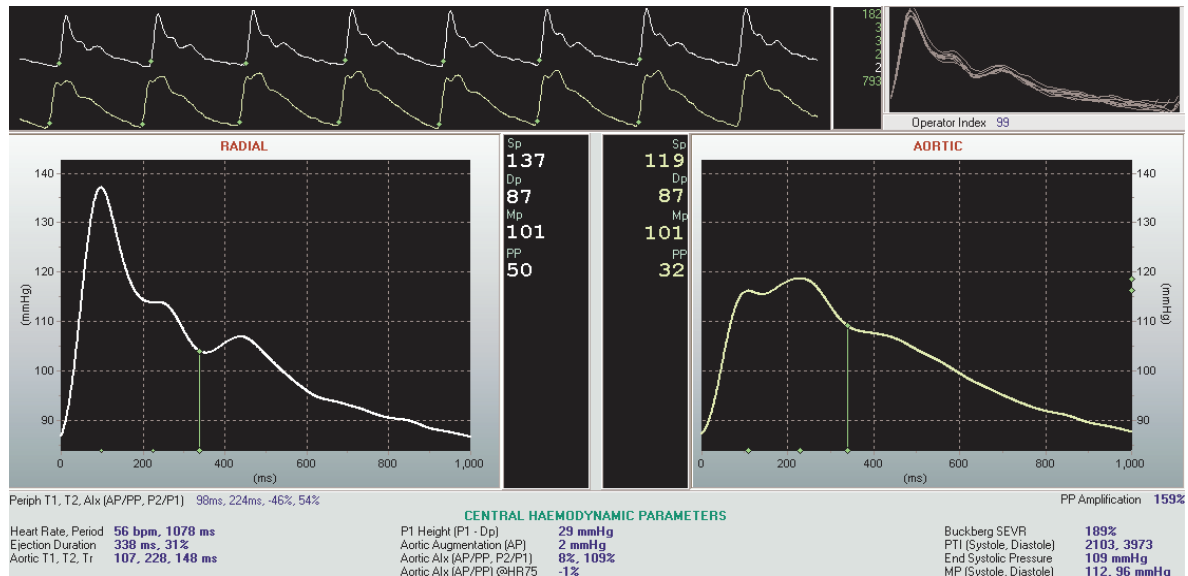
PBG – pulsinės bangos greitis.



**4 pav. Aortos pulsinės bangos greitis, išmatuotas SphygmoCor aparatu.**

Aortos pulsinės bangos greitis (pulse wave velocity) 6,7 m/s.

Arterinė spaudimo banga susideda iš dviejų komponentų: iš kairiojo skilvelio sklindančios bangos ir atspindėtos bangos. Banga atsispindi daugiausia dėl arteriniam medžiui šakojantis mažėjančio suminio arterijų skersmens, taip pat nuo kraujagyslių išsišakojimo vietų, aterosklerotinių plokštelių ir distaliai esančių rezistencinio tipo arterijų. Elastingose kraujagyslėse dėl mažo PBG atspindėta banga grįžta į aortos šaknį diastolės metu ar sistolės pradžioje. Padidėjus arterijų standumui, PBG didėja, todėl atspindėta banga grįžta į centrinės arterijas anksčiau, prisideda prie pirmyn sklindančios bangos ir didina sistolinį spaudimą. Šis reiškinys vadinamas arterinio spaudimo augmentacija. Standumui vertinti apskaičiuojamas augmentacijos indeksas (AIx), kuris atspindi augmentacinio spaudimo santykinę dalį nuo pulsinio spaudimo. Jis priklauso ne tik nuo diastolinio kraujospūdžio, ūgio, bet ir nuo amžiaus bei širdies susitraukimų dažnio. Todėl standartiškai AIx apskaičiuojamas pakoregavus pagal širdies susitraukimų dažnį 75 k/min.(AIx/HR).



### 5 pav. Augmentacijos indeksas, išmatuotas SphygmoCor aparatu.

Šio tyrimo metu nustatytas augmentacijos indeksas 8 %, koreguotas pagal širdies susitraukimų dažnį –1 % (viduriniame stulpelyje – Aortic AIX[AP/PP]@HR75).

Gauti rodikliai įvertinami atsižvelgiant į literatūroje pateiktas ir aparato programinėje įrangoje integruotas nuo amžiaus ir lyties priklausomas normines vertes [225].

### 3.4. Statistiniai metodai

Duomenys apdoroti statistinių programų paketu SPSS 17.0 (*version for Windows*). Kiekybiniams kintamiesiems aprašomoji statistika pateikiama vidurkių – standartinių nuokrypių (vid.± SN), kokybiniams – absoliutaus skaičiaus (n) ir procentinės dalies (%) pavidalu.

Lyginant dvi grupes kiekybinio kintamojo atžvilgiu, taikytas t-testas arba neparametrinis Man-Whitney testas (jei duomenys yra nepasiskirstę tolygiai). Lyginant daugiau nei dvi grupes kiekybinio kintamojo atžvilgiu, taikyta vienfaktorinė dispersinė analizė (nelygių dispersijų atveju naudota Welch testo statistika). Poriniai palyginimai atlikti naudojant LSD (nelygių dispersijų atveju - Tamhane) testą. Neparametriniams duomenims taikytas  $\chi^2$  nepriklausomumo kriterijus.

Ieškant ryšio tarp migrenos – kraujagyslių reaktyvumo, taikyti paprastos logistinės regresijos modeliai, kuriuose priklausomu kintamuoju ėmėme kintamąjį, indikuojantį ligos buvimą (migrena - kontrolė). Įvykiu laikytas migrenos buvimas. Rodikliams, turintiems prognostinę vertę, braižytos ROC kreivės ir vertintas plotas po jomis.

Tiriant migrenos, kraujagyslių reaktyvumo rodiklių bei trombocitų funkcinio aktyvumo ryšį, buvo skaičiuoti koreliacijos koeficientai sveikų ir sergančių migrena grupėse.

Visur pateikiamos dvipusės p reikšmės. Reikšmingumo lygmuo laikomas lygiu 0,05.

## 4. REZULTATAI

### 4.1. Kardiovaskulinių ligų rizikos veiksnių ir antropometrinių duomenų palyginimas

Vertinome migrena sergančiųjų moterų bendrųjų širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksnių dažnį ir jų ryšį su skirtingais migrenos priepuolio pasireiškimo tipais. Analizę atlikome dviem etapais:

1) palyginome visų sergančių migrena ir kontrolinės grupės moterų rodiklius.

2) palyginome skirtingais migrenos tipais sergančių moterų ir kontrolinės grupės rodiklius.

#### 4.1.1. Sergančiųjų migrena ir kontrolinės grupės lyginamoji analizė

Siekdami įsitikinti, ar yra korektiškas tiriamosios (sergančiųjų migrena) ir kontrolinės grupės lyginimas analizuojant tolesnius veiksnius, palyginome šias grupes pagal sociodemografines ir klinikines charakteristikas. Analizei naudoti 120 moterų duomenys: 60 moterų sirgo migrena, 60 moterų sudarė kontrolinę grupę. Kai analizuojami kintamieji buvo tolydūs, taikėme Stjudento t testą nepriklausomoms imtims, o jei kintamieji yra diskretūs –  $\chi^2$  kriterijų. Grupių charakteristikos pateikiamos 3 lentelėje.

Analizuojant mūsų tyrime gautus duomenis, matome, kad dauguma bendrųjų aterosklerozės rizikos veiksnių abiejose grupėse pasiskirstymas buvo panašus. Skirtumas stebėtas tik arterinio kraujo spaudimo atžvilgiu: sergančios migrena statistiškai reikšmingai turėjo didesnę diastolinį ( $p = 0,001$ ) bei vidutinį kraujo spaudimą ( $p < 0,001$ ), o pagal sistolinį nesiskyrė ( $p = 0,051$ ).



### 3 lentelė. Migrena sergančių pacientų ir kontrolinės grupės charakteristikos

Kintamasis*	Sergančios migrena (n=60)	Kontrolinė grupė (n=60)	p
Amžius (metai)	38,79±9,21	35,60±8,03	0,057
KMI (kg/m <sup>2</sup> )	23,40±3,91	23,30±3,62	0,892
Ankstyvos KŠL šeimininė anamnezė, n (%)	24 (40)	25 (41,6)	0,853
Hipodinamija, n (%)	26 (43,3)	32 (53,3)	0,361
Rūkymas, n (%)	5 (8,33)	6 (10)	0,752
Sistolinis AKS (mmHg)	125,72±11,13	122,18±7,81	0,051
Diastolinis AKS (mmHg)	82,33±10,35	75,25±8,10	<0,001
Vidutinis AKS (mmHg)	96,79±9,76	90,90±7,27	<0,001
B. Chol (mmol/l)	5,16±1,07	5,51±0,91	0,065
TG (mmol/l)	1,01±0,62	0,97±0,40	0,752
DTL (mmol/l)	1,62±0,38	1,72±0,29	0,120
MTL (mmol/l)	3,07±0,92	3,35±0,79	0,099
CRB (g/l)	1,51±2,13	1,61±2,76	0,349
SAA (mg/l)	4,16±5,82	4,68±4,19	0,387
Rizika pagal Framingham (%)	1,46±1,40	1,18±0,62	0,288

\* – pateikiami vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai (Vid.±SN), pilkas fonas reiškia statistškai reikšmingus skirtumus, n – skaičius; procentai pateikti nuo bendro tiriamųjų skaičiaus (N) grupėje, KMI – kūno masės indeksas, KŠL – koronarinė širdies liga, AKS – arterinis kraujo spaudimas, Vidutinis AKS – apskaičiuojama 1/3 sistolinio AKS + 2/3 diastolinio AKS, B. Chol – bendrojo cholesterolio koncentracija, TG – trigliceridų koncentracija, DTL – didelio tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracija, MTL – mažo tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracija, CRB – C reaktyvus baltymas, SAA – serumo amiloidas A.

#### 4.1.2. Sergančiųjų skirtingomis migrenos formomis ir kontrolinės grupės veiksmų lyginamoji analizė

Migrena pagal savo klinikinę eigą gali būti skirstoma į migreną su aura ir be jos. Mūsų tyrime iš 60 migrena sergančiųjų moterų 30 –iai migrenos priepuoliai pasireiškė su aura (MA) ir 30 – be auros (M0). Norėdami įsitikinti, ar šios dvi tiriamosios pacientų grupės yra panašios, palyginome jas pagal kontroliuojamuosius kintamuosius. Pasirodė, kad sergančiųjų migrena su aura ir be jos grupės nesiskiria pagal ligos trukmę, priepuolių dažnį ir skausmo stiprumą (vertinome taikant Stjudento t testą). Kitas parametras, kurio rezultatai yra svarbūs interpretuojant rezultatus – tai grupių homogeniškumo palyginimas pagal triptanų vartojimą. Šiuo tikslu taikėme  $\chi^2$  kriterijų. Tačiau ir čia nebuvo nustatyta statistiškai reikšmingas skirtumas (4 lentelė).

**4 lentelė. Sergančiųjų migrena su aura ir migrena be auros palyginimas pagal ligos charakteristikas**

<b>Kintamasis*</b>	<b>Sergančios migrena be auros (M0) (n=30)</b>	<b>Sergančios migrena su aura (MA) (n=30)</b>	<b>p</b>
Ligos trukmė (metai)	17,58±9,46	19,89±10,25	0,401
Priepuolių dažnis per mėn., n	3,80±3,83	3,37±5,40	0,747
Vidutinė galvos skausmo trukmė (d per 3 mėn.)	16,16±11,08	15,65±12,86	0,881
Vidutinis galvos skausmo stiprumas	6,00±1,47	5,69±1,93	0,533
Triptanų vartojimas, n (%)	6 (20,0)	9 (30,0)	0,276

\* – pateikiami vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai (Vid.±SN); diskretiems kintamiesiems n – skaičius; procentai pateikti nuo bendro tiriamųjų skaičiaus (N) grupėje, d – dienos.

Taikydami vienfaktorinę dispersinę analizę (ANOVA) tolydiems kintamiesiems, o diskretiems -  $\chi^2$  nepriklausomumo kriterijų atlikome tarpgrupinį kintamųjų palyginimą. Šia metodika įvertinome MA ir M0 ir kontrolinės grupės bendrųjų charakteristikos požymių skirtumus bei tapatumus. Rezultatai pateikiami 5 lentelėje.

Nustatėme, kad sergančiosios skirtingomis migrenos formomis nesiskyrė nuo kontrolinės grupės moterų pagal daugumą bendrosios charakteristikos parametrų, išskyrus arterinį kraujo spaudimą. Be to, didesniu kraujospūdžiu pasižymėjo migrena be auros sergančios pacientės, lyginant su MA sergančiomis ar kontroline grupe (sistolinis AKS M0 vs MA p = 0,002, M0 vs. Kontrolė p = 0,001; diastolinis AKS M0 vs MA p = 0,020, M0 vs. Kontrolė p < 0,001; vidutinis AKS M0 vs MA p = 0,015, M0 vs. Kontrolė p < 0,001).

Sergančios MA apklausiamos nurodė daugiau sportuojančios nei kontrolinės ar sergančių M0 grupių tiriamosios (tarpgrupinis palyginimas pagal  $\chi^2$  nepriklausomumo kriterijų MA vs kontrolinė grupė p = 0,007, MA vs M0 p = 0,048, Kontrolinė grupė vs M0 = 0,379 ). Kitais rodikliais grupės statistiškai reikšmingai nesiskyrė .

### 5 lentelė. Tiriamųjų grupių charakteristikos

Kintamasis*	Sergančios migrena be auros (M0) (n=30)	Sergančios migrena su aura (MA) (n=30)	Kontrolinė grupė (n=60)	p	Post hoc
Amžius (metai)	38,03±8,62	39,52±9,83	35,60±8,03	0,131	
KMI (kg/m <sup>2</sup> )	23,43±3,76	23,37±4,11	23,30±3,62	0,989	
Ankstyvos KŠL šeiminė anamnezė, n (%)	11 (36,6)	13 (43,3)	25 (41,6)	0,541	
Hipodinamija, n (%)	17 (56,6)	10 (33,3)	32 (53,3)	0,024	2<1,3 **
Rūkymas, n (%)	2 (6,6)	3 (10)	6 (10)	0,758	
Sistolinis AKS (mmHg)	129,67±11,71	121,90±9,20	122,18±7,81	0,001	1>2,3
Diastolinis AKS (mmHg)	84,47±8,49	80,26±11,64	75,25±8,10	<0,001	1>2,3
Vidutinis AKS (mmHg)	93,53±8,94	94,14±9,92	90,90±7,27	<0,001	1>2,3
B. Chol (mmol/l)	5,13±0,97	5,19±1,18	5,51±0,91	0,178	
TG (mmol/l)	0,89±0,40	1,14±0,76	0,97±0,40	0,166	
DTL (mmol/l)	1,59±0,30	1,66±0,44	1,72±0,29	0,221	
MTL (mmol/l)	3,12±0,85	3,03±1,01	3,35±0,79	0,239	
CRB (g/l)	1,37±2,26	1,65±2,02	1,61±2,76	0,881	
SAA (mg/l)	4,67±7,75	3,66±3,02	4,68±4,19	0,648	
Rizika pagal Framingham, (%)	1,67±1,8	1,26±0,82	1,18±0,62	0,391	

\* – pateikiami vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai (Vid.±SN), pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingus skirtumus; diskretiems kintamiesiems n – skaičius; procentai pateikti nuo bendro tiriamųjų skaičiaus (N) grupėje, KMI – kūno masės indeksas, KŠL – koronarinė širdies liga, AKS – arterinis kraujo spaudimas, Vidutinis AKS – apskaičiuojama 1/3 sistolinio AKS + 2/3 diastolinio AKS, B. Chol – bendrojo cholesterolio koncentracija, TG – trigliceridų koncentracija, DTL – didelio tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracija, MTL – mažo tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracija, CRB- C reaktyvus baltymas, SAA- serumo amiloidas A.

\*\* skaičiuotas  $\chi^2$  nepriklausomumo kriterijus atskirai grupuojant po dvi tiriamąsias grupes

Apibendrinat gautuosius rezultatus nustatėme, kad ne visuomet įmanoma kontroliuoti šalutinius kintamuosius. Todėl vėliau pritaikėme griežtesnes šalutinių kintamųjų kontrolės priemones (pvz., ne tik grupių palyginimą pagal Stjudento t testo ar Mann Whitney kriterijus, bet ir kovariacinę analizę).

## 4.2. Trombocitų funkcinio aktyvumo kitimai

Norėdami išsiaiškinti, ar yra ryšys tarp migrenos ir trombocitų aktyvacijos žymenų ir kokios jų sąsajos su ligos intensyvumu, tai atlikome trimis etapais:

- lyginome kontrolinę ir migrenos grupes, neatsižvelgdami į migrenos pobūdį;
- lyginome kontrolinę ir migrenos grupes, diferencijuodami migrena sergančias moteris pagal aurą;
- apskaičiavome trombocitų funkcinio aktyvumo ir ligos intensyvumo koreliacijas.

Svarbu atkreipti dėmesį, kad prieš atlikdami trombocitų funkcinio aktyvumo tyrimą nustatėme, kad trombocitų skaičius tarp grupių nesiskyrė (migrenos grupėje  $271,00 \pm 58,88$  vs  $286,80 \pm 54,28$  kontrolinėje grupėje,  $p = 0,146$ ). Todėl tolesnės išvados siejamos būtent su migrenos ligos specifika.

### 4.2.1. Trombocitų funkcinio aktyvumo palyginimas sergančių migrena ir kontrolinėje grupėse

Norėdami nustatyti, ar skiriasi sergančiųjų migrena ir kontrolinės grupės skirtingų trombocitų antikūnų aktyvacija, palyginime gautus rezultatus taikant Stjudento t testą. Palyginimų rezultatai pateikiami 6 lentelėje.

Analizuojant 6 lentelėje pateiktus duomenis matome, kad praktiškai pagal visus kintamuosius buvo rasti statistiškai reikšmingi skirtumai. Nustatyta, kad migrena sergančiųjų grupėje buvo daugiau trombocitų (tiek procentine išraiška, tiek ir absoliučiais skaičiais) prisijungusių tiek PAC-1, tiek CD63 antikūnų. Tai rodo padidėjusį trombocitų funkcinį (agregacinį ir degranuliacinį) aktyvumą. Kita vertus, migrena sergančiųjų grupėje vidutinis fluorescencijos švytėjimo intensyvumas tiek su tiek PAC-1, tiek CD63 buvo mažesnis migrenos grupėje, o taip pat nustatytas ir mažesnis procentinis trombocitų monocitų agregatų susidarymas.

**6 lentelė. Trombocitų aktyvacijos rodikliai sergančiųjų migrena ir kontrolinėje grupėse (palyginimas taikant Stjudento t testą)**

Kintamasis*	Sergančios migrena (n=60)	Kontrolinė grupė (n=60)	p
VFI CD63	75,62±93,27	147,04±82,81	<0,001
VFI PAC-1	44,89±7,68	51,80±9,10	<0,001
% PAC-1/CD42a	15,13±15,40	5,59± 7,25	0,001
Abs. sk. PAC-1/CD42a	4347,35± 4447,70	1641,33± 2114,70	0,001
% CD63/CD61	0,61±0,63	0,34±0,32	0,010
Abs. sk. CD63/CD61	176,03±178,04	101,78±88,97	0,013
% CD63/CD41	0,61±0,63	0,35±0,32	0,011
Abs. sk. CD63/CD41	175,21±178,54	101,80±88,67	0,021
% trombocitų- monocitų agregatai	7,63±1,75	8,48±1,88	0,015
Abs. sk. trombocitų- monocitų agregatai	520,13±188,76	543,71±163,05	0,485

\* – pateikiami vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai, pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingus skirtumus; VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, % – procentinė išraiška trombocitų prijungusių abu antikūnus, Abs. sk. – skaičius trombocitų prijungusių abu antikūnus, CD63 – antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti), CD42a, CD61, CD41 – specifiniai antikūnai trombocitams aptikti.

Gauti tyrimų rezultatai skatino pažiūrėti, kokį vaidmenį trombocitų funkciniam aktyvumui turi atskiri širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksniai. Vertinta KMI (ar moterys turi viršsvorį, ar ne), dislipidemijos (ar tiriamųjų cholesterolio kiekis atitinka normą, ar ją viršija), C reaktyvaus baltymo (CRB) (ar rezultatai atitinka normą, ar yra suaktyvėjęs uždegiminis procesas) ir serumo amiloido A (SAA) (maža kardiovaskulinių įvykių rizika kai SAA < 3,8 mg/l, vidutinė kai SAA 3,9 - 8,2 mg/l ir didelė kai SAA ≥ 8,3 mg/l) reikšmė trombocitų funkcinio aktyvumo parametru kitimams. Grupių palyginimo rezultatai pateikiami 7-10 lentelėse.

Nustatėme, kad moterys, sergančios migrena ir turinčios viršsvorį (KMI ≥ 25) nesiskyrė nuo turinčių normalų svorį (KMI < 25), t.y. viršsvoris nėra susijęs su trombocitų funkciniu aktyvumu (7 lentelė).

Analogiška išvada gauta ir vertinant CRB ir serumo amiloido A sąsajas su trombocitų funkciniu aktyvumu: uždegiminių žymenų padidėjimas neturėjo statistiškai patikimos reikšmės migrena sergančių moterų trombocitų funkciniam aktyvumui (9 ir 10 lentelės).

**7 lentelė. Migrena sergančių moterų kūno masės indekso ryšys su trombocitų funkciniu aktyvumu**

Kintamasis*	KMI		p
	< 25 kg/m <sup>2</sup> (n = 38)	≥ 25 kg/m <sup>2</sup> (n = 22)	
VFI CD63	82,92±93,86	62,68±92,95	0,344
VFI PAC-1	45,26± 7,28	44,23±8,47	0,701
% PAC-1/CD42a	13,37±11,75	18,17±20,27	0,595
Abs. sk. PAC-1/CD42a	3932,24±3477,37	5068,32±5803,44	0,754
% CD63/CD61	0,64±0,58	0,56±0,71	0,431
Abs. sk. CD63/CD61	185,36±166,98	159,50±199,16	0,367
% CD63/CD41	0,64±0,58	0,56±0,71	0,431
Abs. sk. CD63/CD41	184,31±167,66	159,09±199,45	0,404
% trombocitų- monocitų agregatai	7,46±1,36	7,93±2,29	0,857
Abs. sk. trombocitų- monocitų agregatai	512,72±192,52	533,27±185,60	0,822

\* – pateikiami vidurkių įverčiai ir standartinės paklaidos, gauti naudojantis modelio lygtimi, VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, % – procentinė išraiška trombocitų prijungusių abu antikūnus, Abs. sk.- skaičius trombocitų prijungusių abu antikūnus, CD63 – antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti), CD42a, CD61, CD41– specifiniai antikūnai trombocitams aptikti, KMI – kūno masės indeksas.

**8 lentelė. Migrena sergančių moterų cholesterolio koncentracijos ryšys su trombocitų funkciniu aktyvumu**

Kintamasis*	Bendras cholesterolis		p
	< 5,00 mmol/l (n = 31)	≥ 5,00 mmol/l (n = 29)	
VFI CD63	75,72±81,28	75,52±106,42	0,800
VFI PAC-1	44,03±7,08	45,83±8,31	0,659
% PAC-1/CD42a	12,14±11,01	18,61±18,97	0,152
Abs. sk. PAC-1/CD42a	3445,96±3166,41	5398,96±5472,27	0,123
% CD63/CD61	0,54±0,48	0,68±0,76	0,636
Abs. sk. CD63/CD61	156,09±136,00	198,03±215,61	0,554
% CD63/CD41	0,54±0,48	0,68±0,76	0,636
Abs. sk. CD63/CD41	155,59±136,35	196,86±216,32	0,578
% trombocitų- monocitų agregatai	8,09±1,85	7,12±1,51	0,024
Abs. sk. trombocitų- monocitų agregatai	557,25±197,27	479,17±173,07	0,073

\* – pateikiami vidurkių įverčiai ir standartinės paklaidos, gauti naudojantis modelio lygtimi, VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, % – procentinė išraiška trombocitų prijungusių abu antikūnus, Abs. sk.- skaičius trombocitų prijungusių abu antikūnus, CD63 – antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti), CD42a, CD61, CD41– specifiniai antikūnai trombocitams aptikti.



**9 lentelė. Migrena sergančių moterų C reaktyvaus baltymo ryšys su trombocitų funkciniu aktyvumu**

Kintamasis*	CRB		P
	< 3,00 g/l (n=51)	≥3,00 g/l (n=9)	
VFI CD63	81,17±93,73	43,56±88,75	0,304
VFI PAC-1	44,69±7,62	46,00±8,40	0,745
% PAC-1/CD42a	15,01±15,42	15,76±16,34	0,872
Abs. sk. PAC-1/CD42a	4302,43±4456,14	4594,38±4695,20	0,852
% CD63/CD61	0,64±0,66	0,42±0,28	0,566
Abs. sk. CD63/CD61	185,63±188,97	120,56±77,56	0,569
% CD63/CD41	0,64±0,66	0,42±0,28	0,566
Abs. sk. CD63/CD41	184,67±189,57	120,56±77,56	0,611
% trombocitų- monocitų agregatai	7,73±1,79	7,03±1,42	0,281
Abs. sk. trombocitų- monocitų agregatai	521,10±187,63	514,56±206,72	0,699

\* – pateikiami vidurkių įverčiai ir standartinės paklaidos, gauti naudojantis modelio lygtimi, VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, % – procentinė išraiška trombocitų prijungusių abu antikūnus, Abs. sk.- skaičius trombocitų prijungusių abu antikūnus, CD63 – antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti), CD42a, CD61, CD41– specifiniai antikūnai trombocitams aptikti.

**10 lentelė. Migrena sergančių moterų serumo amiloido A ryšys su trombocitų funkciniu aktyvumu**

Kintamasis*	SAA			P
	< 3,9 mg/l (n=43)	3,9-8,2 mg/l (n=15)	≥ 8,3 mg/l (n=5)	
VFI CD63	79,30±98,52	68,00±67,03	63,80±120,71	0,893
VFI PAC-1	44,65±7,5	45,76±9,42	44,60±3,28	0,899
% PAC-1/CD42a	15,42±16,32	14,94±16,18	13,34±5,57	0,961
Abs. sk. PAC-1/CD42a	4395,75±4720,04	4375,54±4661,49	3941,20±1641,58	0,978
% CD63/CD61	0,64±0,71	0,53±0,35	0,48±0,21	0,758
Abs. sk. CD63/CD61	186,25±203,76	154,53±102,49	144,00±63,75	0,787
% CD63/CD41	0,64±0,71	0,53±0,35	0,48±0,21	0,758
Abs. sk. CD63/CD41	185,46±204,22	153,30±103,67	144,00±63,75	0,788
% trombocitų- monocitų agregatai	7,58±1,74	7,97±20,6	7,10±0,65	0,617
Abs. sk. trombocitų- monocitų agregatai	510,55±173,01	559,38±259,22	500,40±109,78	0,702

\* – pateikiami vidurkių įverčiai ir standartinės paklaidos, gauti naudojantis modelio lygtimi, VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, % – procentinė išraiška trombocitų prijungusių abu antikūnus, Abs. sk.- skaičius trombocitų prijungusių abu antikūnus, CD63 – antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti), CD42a, CD61, CD41– specifiniai antikūnai trombocitams aptikti, SAA- serumo amiloidas A.

Neįrodytas ir hipercholesterolemijos (bendras cholesterolis  $\geq 5,00$  mmol/l) vaidmuo trombocitų funkciniam aktyvumui (8 lentelė). Tačiau reikia paminėti, kad gauti kiek netikėti rezultatai dėl didesnio trombocitų - monocitų agregatų susidarymo esant mažesniai cholesteroliui.

Taikant sudėtingesnę tiesinį modelį – kovariacinę analizę ir į analizės modelį įjungiant amžių, vidutinį arterinį kraujospūdį, KMI, bendras cholesterolį, DTL, TG [MTL nebuvo naudojamas, nes buvo nustatyta labai stipri koreliacija su bendro cholesterolio matavimais ( $r = 0,938$ ;  $p < 0,001$ )], C reaktyvų baltymą (CRB) ir serumo amiloidą A (SAA) vertinome sergančiųjų migrena ir kontrolinės grupės trombocitų funkcinio aktyvumo rodiklių reikšmes (11 lentelė).

**11 lentelė. Sergančiųjų migrena ir kontrolinės grupės trombocitų funkcinis aktyvumas (palyginimas taikant kovariacinę analizę)**

Kintamasis*	Sergančios migrena (n=60)	Kontrolinė grupė (n=60)	p
VFI CD63	75,68±13,62	144,25±15,31	0,004
VFI PAC-1	45,18±1,22	51,33±1,37	0,004
% PAC-1/CD42a	15,32±15,49	7,71±11,21	0,461
Abs. sk. PAC-1/CD42a	4401,94±4474,02	2256,62±3266,01	0,436
% CD63/CD61	0,57±0,08	0,38±0,09	0,149
Abs. sk. CD63/CD61	165,63±22,05	112,78±24,79	0,162
% CD63/CD41	0,58±0,08	0,38±0,09	0,152
Abs. sk. CD63/CD41	164,53±22,12	113,12±24,86	0,175
% trombocitų- monocitų agregatai	7,66±0,28	8,43±0,31	0,107
Abs. sk. trombocitų- monocitų agregatai	515,38±27,17	552,77±30,54	0,421

\* – pateikiami vidurkių įverčiai ir standartinės paklaidos, gauti naudojantis modelio lygtimi, pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingus skirtumus; VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, % – procentinė išraiška trombocitų prijungusių abu antikūnus, Abs. sk.– skaičius trombocitų prijungusių abu antikūnus, CD63 – antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti), CD42a, CD61, CD41 – specifiniai antikūnai trombocitams aptikti.

Kovariacinė analizė parodė, kad trombocitų prijungusių PAC-1 ir CD63 antikūnus vidutinis fluorescencijos intensyvumas (VFI) migrena sergančiųjų grupėje buvo žymiai mažesnis nei kontrolinėje grupėje. Tai rodo, kad tik šie kintamieji yra tiesiogiai sietini su migrenos poveikiu. Kita vertus,



kitus mūsų pasirinktus kintamuosius gali paveikti širdies ir kraujagyslių rizikos veiksnių visuma.

Tiems rodikliams, kurie tarp grupių skyrėsi statistiškai reikšmingai, nubraižėme ROC kreives ir apskaičiavome plotus po jomis (12 lentelė ir 6-7 pav.). Priklausomu kintamuoju laikėme ligą indikuojantį kintamąjį (kontrolė – migrena); „įvykiu“ (angl. *event*) laikoma migrena, nepriklausomu ėmėme vieną iš trombocitų aktyvacijos žymenų: VFI CD63 , VFI PAC-1, CD63/CD61 išreikštą procentais ir absoliučiais skaičiais, trombocitų - monocitų agregatų procentas, CD63/CD41 išreikštą procentais ir absoliučiais skaičiais (žr. 6 ir 11 lenteles). Kadangi žymenys VFI CD63 ir VFI PAC-1 skyrėsi tarp grupių lyginant abiem būdais, ir jų prognostinė vertė buvo didesnė nei kitų žymenų, jiems braižytas ROC kreives išskyrėme į atskirą grafiką.

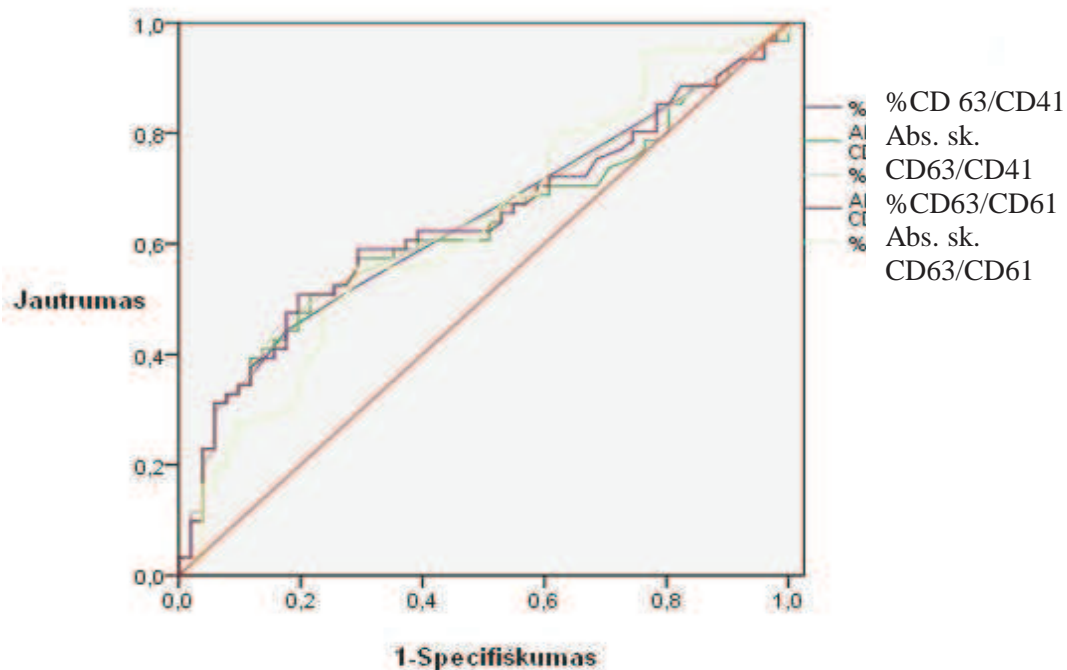
**12 lentelė. Trombocitų aktyvacijos ROC kreivių charakteristikos**

Kintamasis*	Plotas (SP)**	p***	95 proc. PI
VFI CD63 (-)	0,722 (0,048)	<0,001	(0,628;0,816)
VFI PAC-1 (-)	0,744 (0,046)	<0,001	(0,653;0,835)
% CD63/CD61(+)	0,640 (0,052)	0,011	(0,537;0,742)
Abs. sk. CD63/CD61 (+)	0,637 (0,053)	0,013	(0,534;0,740)
% trombocitų- monocitų agregatai (-)	0,631 (0,053)	0,017	(0,528;0,734)
% CD63/CD41 (+)	0,637 (0,052)	0,013	(0,535;0,740)
Abs. sk. CD63/CD41 (+)	0,627 (0,053)	0,021	(0,523;0,731)

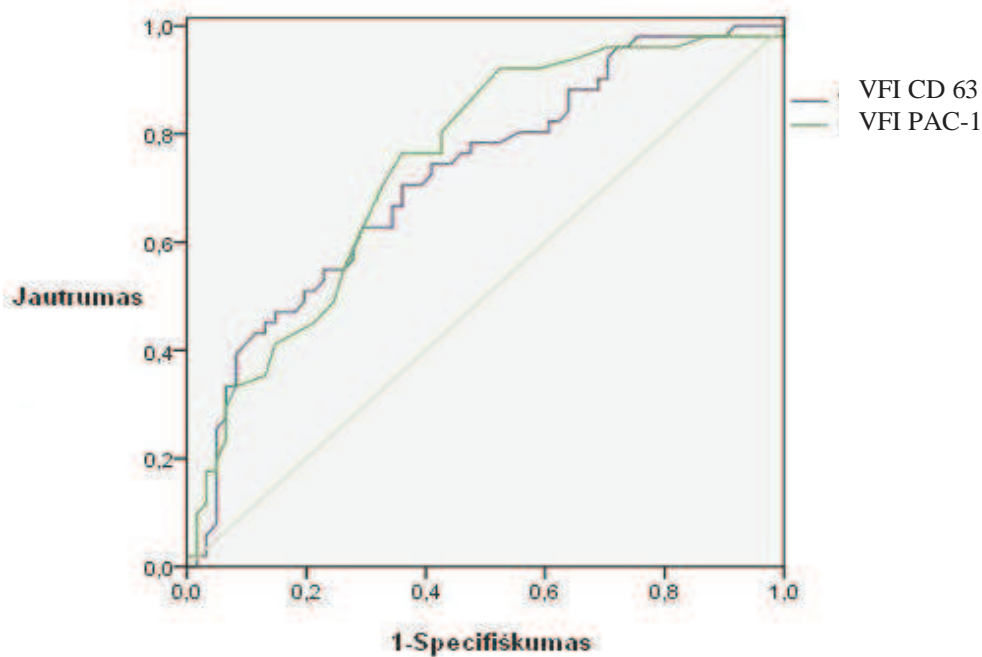
\* – ženklas „+“ prie kintamojo reiškia, kad migrenos grupei būdingos didesnės žymens reikšmės nei kontrolinei grupei (teigiamas ryšys); ženklas „-“ – kad žymės reikšmės lyginant su kontroline grupe yra mažesnės (neigiamas ryšys);

\*\* – pateikiamas plotas po kreive ir ploto įverčio standartinė paklaida;

\*\*\* – p reikšmė skirta tikrinti hipotezei, kad plotas statistiškai reikšmingai nesiskiria nuo 0,5 VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, % – procentinė išraiška trombocitų prijungusių abu antikūnus, Abs. sk. – skaičius trombocitų prijungusių abu antikūnus, CD63 - antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti), CD42a, CD61, CD41 – specifiniai antikūnai trombocitams aptikti.



6 pav. ROC kreivės, rodančios migrenos – sveikų pacientų diskriminavimo galimybę pagal kitus žymenis.



7 pav. ROC kreivės, rodančios migrenos – sveikų pacientų diskriminavimo galimybę pagal žymenis VFI CD63 ir VFI PAC-1.

Iš plotų verčių po kreivėmis matome, kad likusių žymenų prognostinė vertė nėra didelė, todėl šia prasme jų detaliau neanalizavome. Tuo tarpu žymenims VFI CD63 ir VFI PAC-1 nustatėme, kurios slenkstinės vertės

leidžia pasiekti, mūsų manymu, optimalų jautrumą ir specifiškumą. Rezultatai pateikiami 13 lentelėje.

**13 lentelė. Slenkstinės vertės žymenims VFI CD63 ir VFI PAC-1**

Kintamasis*	Slenkstinė vertė*	Jautrumas	Specifiškumas
VFI CD63	123,5	70,5%	62,7%
VFI PAC-1	48,5	70,5%	62,7%

\* – slenkstinė vertė buvo parinkta taip, kad duotų kuo mažiau besiskiriančias jautrumo ir specifiškumo vertes; vertė, duodanti labai ryškiai besiskiriančią jautrumo – specifiškumo porą (pav. 98 proc. ir 10 proc.) nebuvo laikoma optimalia net tuo atveju, kai bendras klasifikavimo tikslumas tai vertei buvo didžiausias, VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, CD63 – antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti).

Nepaisant to, kad naudojant nustatytas vertes klasifikavimo charakteristikos nėra labai aukštos, šios vertės galėtų būti orientacinės ateityje bandant panaudoti trombocitų aktyvacijos ir migrenos ryšį klinikinėje praktinėje veikloje.

#### **4.2.2. Trombocitų funkcinio aktyvumo palyginimas pagal migrenos pobūdį**

Manydami, kad migrena su aura ir migrena be auros gali skirtingai veikti trombocitų funkcinį aktyvumą, pabandėme įvertinti migrenos auros reikšmę mūsų pasirinktiems kintamiesiems. Rezultatus vertinome dviem būdais: taikydami paprastą vienfaktorinę analizę ir taikydami kovariacinę analizę. Vienfaktorinės analizės rezultatai pateikiami 14 lentelėje, o tarpgrupinio palyginimo post hoc testu – 15 lentelėje (poriniai palyginimai atlikti tik tiems rodikliams, kurių atžvilgiu fiksuotas skirtumas tarp visų trijų grupių).

**14 lentelė. Trombocitų funkcinis aktyvumas sergant migrena su aura ir be jos bei kontrolinėje grupėje (taikant vienfaktorinę dispersinę analizę)**

Kintamasis*	Sergančios migrena be auros (M0) (n=30)	Sergančios migrena su aura (MA) (n=30)	Kontrolinė grupė (n=60)	p
VFI CD63	74,37±89,51	76,84±98,23	147,04±82,81	<0,001
VFI PAC-1	45,07±7,85	44,71±7,63	51,80±9,10	<0,001
% PAC-1/CD42a	16,77±14,96	14,38±15,92	7,06±13,43	0,002
Abs.sk. PAC-1/CD42a	4763,58±4298,30	4065,89±4563,91	1349,71±1625,26	<0,001
% CD63/CD61	0,68±0,73	0,54±0,51	0,34±0,32	0,022
Abs.sk. CD63/CD61	194,20±206,14	158,45±147,19	101,78±88,97	0,024
% CD63/CD41	0,68±0,73	0,54±0,51	0,35±0,32	0,025
Abs. sk. CD63/CD41	192,53±207,18	158,45±147,19	101,80±88,67	0,026
% trombocitų-monocitų agregatai	7,92±1,96	7,34±1,50	8,48±1,88	0,024
Abs.sk. trombocitų-monocitų agregatai	542,00±217,14	498,97±157,29	543,71±163,05	0,503

\* – pateikiami vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai, pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingus skirtumus; VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, % – procentinė išraiška trombocitų prijungusių abu antikūnus, Abs. sk. – skaičius trombocitų prijungusių abu antikūnus, CD63 – antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti), CD42a, CD61, CD41 – specifiniai antikūnai trombocitams aptikti.

**15 lentelė. Trombocitų aktyvacijos poriniai grupių palyginimai, atlikus vienfaktorinę dispersinę analizę**

Kintamasis / grupės*	M0 vs MA	M0 vs kontrolė	MA vs kontrolė
VFI CD63	0,914	0,001	0,001
VFI PAC-1	0,868	0,001	<0,001
% PAC-1/CD42a	0,367	0,004	0,012
Abs.sk. PAC-1/CD42a	0,326	0,003	0,032
% CD63/CD61	0,304	0,005	0,090
Abs. sk. CD63/CD61	0,336	0,006	0,088
% CD63/CD41	0,305	0,006	0,096
Abs. sk. CD63/CD41	0,360	0,008	0,089
% trombocitų- monocitų agregatai	0,216	0,183	0,007

\* – pateikiamos porinių palyginimų p reikšmės; vidurkiai pateikiami 14-oje lentelėje, pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingus skirtumus; VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, % – procentinė išraiška trombocitų prijungusių abu antikūnus, Abs. sk.– skaičius trombocitų prijungusių abu antikūnus, CD63 – antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti), CD42a, CD61, CD41 – specifiniai antikūnai trombocitams aptikti.

14 ir 15 lentelėse pateikti duomenys apie trombocitų funkcinį aktyvumą neparodė esminio skirtumo tarp sergančiųjų migrena su aura ir sergančiųjų migrena be auros. Tačiau lyginant su kontroline grupe tiek MA, tiek sergančios M0 statistiškai reikšmingai skyrėsi pagal CD63 ir PAC-1 vidutinį fluorescencijos intensyvumą, o taip pat pagal PAC-1 antikūnus prisijungusių trombocitų skaičių. Be to, MA grupėje skirtingai nuo M0 nustatyta mažiau trombocitų prisijungusių degranuliacijos antikūną (CD63) ir mažesnis procentinis trombocitų - monocitų agregatų kiekis.

Kovariacinėje analizėje į modelį buvo įjungti tie patys veiksniai, kaip ir anksčiau: amžius, vidutinis arterinis kraujospūdis, kūno masės indeksas, bendras cholesterolis, didelio tankio lipoproteinų cholesterolis, trigliceridai, C reaktyvus baltymas ir serumo amiloidas A. Rezultatai pateikiami 16 lentelėje. Statistiškai reikšmingiems skirtumams atliktas porinis palyginimas tarp grupių (17 lentelė).

**16 lentelė. Grupių palyginimas pagal trombocitų žymenis, taikant kovariacinę analizę**

Kintamasis*	Sergančios migrena be auros (M0) (n=30)	Sergančios migrena su aura (MA) (n=30)	Kontrolinė grupė (n=60)	p
VFI CD63	71,74±17,48	80,99±20,09	143,42±15,54	0,015
VFI PAC-1	45,36±1,57	44,93±1,80	51,36±1,39	0,015
% PAC-1/CD42a	17,165±3,333	13,168±3,185	7,60±2,66	0,114
Abs.sk. PAC-1/CD42a	4840,65±783,29	3757,62±748,63	1503,84±624,44	0,008
% CD63/CD61	0,68±0,70	0,53±0,52	0,33±0,34	0,051
Abs.sk. CD63/CD61	184,77±28,16	139,79±32,35	116,25±25,04	0,209
% CD63/CD41	0,65±0,10	0,48±0,11	0,39±0,09	0,190
Abs. sk. CD63/CD41	182,48±28,27	140,30±32,47	116,89±25,13	0,239
% trombocitų-monocitų agregatai	7,83±0,36	7,41±0,41	8,47±0,32	0,206
Abs.sk. trombocitų-monocitų agregatai	530,11±34,82	495,48±40,00	555,87±30,96	0,575

\* – pateikiami vidurkių įverčiai ir standartinės paklaidos, gauti naudojantis modelio lygtimi, pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingus skirtumus; VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, % – procentinė išraiška trombocitų prijungusių abu antikūnus, Abs. sk. – skaičius trombocitų prijungusių abu antikūnus, CD63 – antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti), CD42a, CD61, CD41 – specifiniai antikūnai trombocitams aptikti.

**17 lentelė. Poriniai grupių palyginimai po kovariacinės analizės**

Kintamasis / grupės*	M0 vs MA	M0 vs kontrolė	MA vs kontrolė
VFI CD63	0,719	0,005	0,033
VFI PAC-1	0,851	0,008	0,014
Abs.sk. PAC-1/CD42a	0,802	0,002	0,009

\* – pateikiamos porinių palyginimų p reikšmės; vidurkiai pateikiami 16-oje lentelėje, pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingus skirtumus; VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, CD63 – antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti).

Analizuojant 16 ir 17 lentelėse pateiktus duomenis matome, kad visais atvejais migrenos grupės tarpusavyje statistiškai reikšmingai nesiskyrė ir bendras vidurkių skirtumą lemia skirtumai lyginant su kontroline grupe. Vienfaktorinė dispersinė ir kovariacinė analizės parodė, kad sergančiosios migrena su aura ir be auros lyginant su kontroline grupe statistiškai reikšmingai skyrėsi pagal CD63 ir PAC-1 vidutinį fluorescencijos intensyvumą, o taip pat pagal PAC-1 antikūnus prisijungusių trombocitų skaičių. Širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksniai šiems kitimams neturėjo reikšmės. Ir tai tiesiogiai reikėtų sieti su pačios migrenos eigos ypatumais.

#### **4.2.3. Trombocitų funkcinio aktyvumo sąsajos su migrenos intensyvumu**

Norėdami įvertinti trombocitų funkcinio aktyvumo sąsajas su skirtingais migrenos intensyvumo parametrais (galvos skausmo dažniu (išreikštą dienų skaičiumi per pastaruosius tris mėnesius) ir galvos skausmo stiprumu (vertinamu 10 balų skale, kur 0 – nėra skausmo, 10 – stipriausias galimas skausmas)) apskaičiavome šių veiksnių koreliacijas sergančiųjų migrena su aura ir sergančiųjų migrena be auros grupėse. Rezultatai pateikiami 18 lentelėje.

Ją analizuojant matome, kad sergančiųjų migrena su aura grupėje negauta nei viena statistiškai reikšminga koreliacija. Tuo tarpu migrenos be auros tiriamųjų grupėje buvo trys statistiškai reikšmingos koreliacijos.

**18 lentelė. Migrenos intensyvumo sąsajos su trombocitų funkcinio aktyvumu**

Kintamasis***	Sergančios migrena be auros (M0) (n=30)		Sergančios migrena su aura (MA) (n=30)	
	Migrenos dažnis	Migrenos stiprumas	Migrenos dažnis	Migrenos stiprumas
VFI CD63	0,085	0,199	0,044	0,109
VFI PAC-1	0,522**	-0,130	0,336	0,235
% PAC-1/CD42a	0,406	0,256	0,353	0,149
Abs.sk. PAC-1/CD42a	0,406	0,257	0,342	0,185
% CD63/CD61	-0,013	-0,082	0,249	0,063
Abs.sk. CD63/CD61	-0,008	-0,029	0,213	0,038
% CD63/CD41	-0,013	-0,082	0,249	0,063
Abs. sk. CD63/CD41	0,009	-0,056	0,213	0,038
% trombocitų- monocitų agregatai	-0,475*	0,000	-0,378	-0,102
Abs.sk. trombocitų- monocitų agregatai	-0,469*	-0,094	-0,245	-0,053

\* – pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingas koreliacijas, kai reikšmingumo lygmuo yra 0,05;

\*\* – pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingas koreliacijas, kai reikšmingumo lygmuo yra 0,01;

\*\*\* – VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, % – procentinė išraiška trombocitų prijungusių abu antikūnus, Abs. sk. – skaičius trombocitų prijungusių abu antikūnus, CD63 – antikūnas prieš lizosomose gaminamą membranos integralinį baltymą (degranuliacijos fazei vertinti), PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti), CD42a, CD61, CD41 – specifiniai antikūnai trombocitams aptikti.

Moterims sergančioms migrena be auros dažnesni migreniniai galvos skausmai turi įtakos didesniam trombocitų funkciniam aktyvumui - didesnis IIb/IIIa žymens fluorescencijos intensyvumas. Tačiau trombocitų - monocitų agregatų kiekis, išreikštas absoliučiais skaičiais ir procentais, neigiamai koreliuoja su migrenos dažnumu: kuo dažnesni skausmai, tuo mažiau nustatoma trombocitų – monocitų agregatų.

### 4.3. Migrena ir kraujagyslių reaktyvumas

Siekdami nustatyti moterų sergančių migrena su aura ir be jos įvairaus diametro periferinių kraujagyslių endotelio funkcijos bei standumo pokyčių ypatumus, o taip pat jų ryšį su bendraisiais širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksniais bei migrenos intensyvumu, mes:

- lyginome kontrolinę ir migrenos grupes, neatsižvelgdami į migrenos pobūdį;



- lyginome kontrolinę ir migrenos grupes diferencijuodami migrena sergančias moteris pagal auros buvimą (MA ir M0);
- apskaičiavime endotelio funkcijos ir migrenos intensyvumo koreliacijas.

#### 4.3.1. Endotelio funkcijos ir kraujagyslių standumo palyginimas sergančiųjų migrena ir kontrolinėje grupėse

Norėdami palyginti migrena sergančiąsias ir kontrolinės grupės moteris pagal kraujagyslių reaktyvumą, taikėme Stjudento t testą nepriklausomoms imtims. Rezultatai pateikiami 19 lentelėje.

**19 lentelė. Grupių palyginimas pagal kraujagyslių reaktyvumo rodiklius**

Kintamasis*	Sergančios migrena (n=60)	Kontrolinė grupė (n=60)	p
TSD (%)	5,02±3,60	4,38±2,79	0,307
Stipininės a. PBG (m/s)	7,92±0,94	8,26±1,10	0,086
Aortos PBG (m/s)	6,76±1,20	6,84±1,02	0,735
AIx/HR (%)	16,80±11,29	16,08±14,29	0,768
RHI (%)	2,12±0,61	1,94±0,55	0,104
FRHI (%)	0,70±0,44	0,63±0,58	0,449
RF (PV)	44,61±41,58	55,93±33,55	0,019
BZ (PV)	6,09±2,46	6,16±3,71	0,464
PF (PV)	201,73±88,56	218,90±93,22	0,338
RF–BZ (%)	-80,80±10,29	-85,64±9,63	0,015
BZ–PF (%)	3515,52±1771,65	4229,44±2601,31	0,108
RF–PF (%)	508,94±353,91	388,78±247,15	0,049
Laikas iki RF (s)	32,11±31,52	28,51±17,37	0,887
Laikas iki PF (s)	57,33±38,98	45,41±22,74	0,071
Plotas po okliuzijos kreive (PV x s)	11999,90±12698,77	15633,86±11040,62	0,029
Plotas po hiperemijos kreive (PV x s)	10766,83±715,59	9914,15±8007,21	0,249

\* – pateikiami vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai, pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingus skirtumus; TSD – tėkmės sąlygota dilatacija, PBG – pulsinės bangos greitis, AIx/HR – koreguotas augmentacijos indeksas, RHI – reakcinės hiperemijos indeksas, FRHI – Framinghamo reakcinės hiperemijos indeksas, RF – (ang. *Rest flow*) ramybės kraujotaka, BZ – (ang. *Biological zero*) kraujotaka užspaudimo metu, PF – (ang. *Peak flow*) maksimali poišeminė kraujotaka, RF–BZ – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki biologinio nulio, BZ–PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo biologinio nulio iki maksimalios poišeminės kraujotakos, RF–PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki maksimalios poišeminės kraujotakos, laikas iki RF – laikas iki ramybės perfuzijos atsistatymo, laikas iki PF – laikas iki maksimalios perfuzijos, PV – perfuzijos vienetai, s – sekundės.

Analizuodami 19 lentelėje pateiktus duomenis matome, kad buvo rasti 4 statistiškai reikšmingi skirtumai tarp grupių, ir visi jie buvo nustatyti



vertinant mikrocirkuliaciją lazerinės doplerometrijos būdu. Migrena sergančiųjų imtyje buvo blogesnė ramybės kraujotaka (RF), bei skyrėsi nuo kontrolinės grupės su RF susiję išvestiniai rodikliai: mažesnis procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki biologinio nulio (RF–BZ) ir didesnis procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki maksimalios poišeminės kraujotakos (RF–PF). Taip pat paaiškėjo, kad migrena sergančioms moterims plotas po okliuzijos kreive (PV x s) yra statistiškai reikšmingai mažesnis. Šios analizės metu endotelio funkcija migrena sergančioms moterims nesiskyrė nuo kontrolinės nei viename iš tirtų baseinų. Taip pat grupėse nesiskyrė ir standumo rodikliai. Aptikti statistiškai reikšmingi skirtumai rodo padidėjusį smulkiųjų kraujagyslių tonusą ramybėje, o taip pat mažesnę išemijos sukeltą mikrocirkuliacijos talpą.

Pagal PAT metu išmatuotus rodiklius (RHI ir FRHI) tiriamąsias skirstėme į turinčias sutrikusią ir nesusitrikusią endotelio funkciją. Ieškojome migrenos ryšio su rekomenduojamomis slenkstinėmis RHI ir FRHI reikšmėmis. Kadangi vieni tyrėjai rekomenduoja sutrikusią endotelio funkciją diagnozuoti, kai  $RHI \leq 1.7$ , o kiti, kai  $RHI \leq 1.35$ , mes atsižvelgėme į abi reikšmes. Skirtumo tarp kontrolinės ir migrenos grupių nenustatėme (kai  $RHI \leq$  ar  $> 1.7$   $p = 0.086$ ,  $RHI \leq$  ar  $> 1.35$   $p = 0.810$ , kai  $FRHI \leq$  ar  $> 1.7$   $p = 0.528$ ), todėl duomenų atskirose lentelės nepateikėme.

Papildomai buvo atlikta visų šių veiksnių kovariacinė analizė. Kaip ir analizuojant trombocitų aktyvacijos specifika, į analizę įtraukti šie veiksniai: amžius, vidutinis arterinis kraujospūdis, kūno masės indeksas, bendras cholesterolis, didelio tankio lipoproteinų cholesterolis, trigliceridai, C reaktyvus baltymas ir serumo amiloidas A. Lyginant grupes pagal TSD, papildomai įtrauktas žasto arterijos išėties diametras. Rezultatai pateikiami 20 lentelėje.

Analizuodami 20 lentelėje pateiktus duomenis matome, kad šalutinių kintamųjų kontrolė leido atskleisti daugiau statistiškai reikšmingų skirtumų tarp sergančiųjų migrena ir kontrolinės grupės tiriamųjų, lyginant jas pagal kraujagyslių reaktyvumą.

**20 lentelė. Grupių palyginimas pagal kraujagyslių reaktyvumo rodiklius taikant kovariacinę analizę**

Kintamasis*	Sergančios migrena (n=60)	Kontrolinė grupė (n=60)	p
TSD (%)	5,25±0,45	4,09±0,50	0,119
Stipininės a. PBG (m/s)	7,89±0,14	8,29±0,15	0,082
Aortos PBG (m/s)	6,54±0,14	7,10±0,16	0,020
Alx /HR (%)	14,80±1,42	18,47±1,58	0,114
RHI (%)	2,08±0,08	1,97±0,09	0,399
FRHI (%)	0,70±0,07	0,63±0,08	0,556
RF (PV)	40,03±5,40	60,87±5,64	0,016
BZ (PV)	6,10±0,44	6,14±0,46	0,947
PF (PV)	189,29±13,31	232,32±13,93	0,042
RF–BZ (%)	-79,41±1,43	-87,13±1,50	0,001
BZ–PF (%)	3222,51±321,95	4545,88±336,78	0,010
RF–PF (%)	531,30±44,81	364,62±46,88	0,020
Laikas iki RF (s)	34,74±3,96	25,41±4,36	0,151
Laikas iki PF (s)	58,54±4,87	43,98±5,36	0,069
Plotas po okliuzijos kreive (PVx s)	10316,47±1713,43	17653,97±1909,37	0,010
Plotas po hiperemijos kreive (PV x s)	10379,99±1148,59	10378,35±1279,94	0,999

\* – pateikiami vidurkių įverčiai ir standartinės paklaidos, gauti naudojantis modelio lygtimi, pilkas fonas reiškia statistškai reikšmingus skirtumus; TSD – tėkmės sąlygota dilatacija, PBG – pulsinės bangos greitis, Alx/HR – koreguotas augmentacijos indeksas, RHI – reakcinės hiperemijos indeksas, FRHI – Framinghamo reakcinės hiperemijos indeksas, RF – ramybės kraujotaka, BZ – kraujotaka užspaudimo metu, PF – maksimali poišeminė kraujotaka, RF–BZ – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki biologinio nulio, BZ–PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo biologinio nulio iki maksimalios poišeminės kraujotakos, RF–PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki maksimalios poišeminės kraujotakos, laikas iki RF – laikas iki ramybės perfuzijos atsistatymo, laikas iki PF- laikas iki maksimalios perfuzijos, PV – perfuzijos vienetai, s – sekundės.

Šalia jau prieš tai aptartų rodiklių (blogesnės ramybės kraujotakos (RF), mažesnio RF–BZ, bet didesnio RF–PF kraujotakos pokyčių, mažesnio ploto po okliuzijos kreive) migrena sergančiosioms nustatėme mažesnę aortos pulsinės bangos greitį (PBG), blogesnę didžiausią poišeminę kraujotaką mikrocirkuliacijoje (PF) bei mažesnę procentinę kraujotakos pokytį nuo biologinio nulio iki maksimalios poišeminės kraujotakos (BZ–PF). Taigi, statistškai reikšmingi skirtumai gauti po kovariacinės analizės leidžia galvoti, kad migrena susijusi su didesniu kraujagyslių elastingumu, nepakitusia žasto bei piršto, tačiau blogesne mikrocirkuliacijos kraujagyslių endotelio funkcija, bei padidėjusiu odos kraujagyslių ramybės tonusu, mažesne išemijos sukeltos mikrocirkuliacijos talpa.

Atsižvelgiant į tai, kad grupės statistiškai reikšmingai skyrėsi kai kurių rodiklių atžvilgiu, jiems nubraižėme ROC kreives ir apskaičiavome plotus po jomis (21 lentelė ir 8 pav.). Priklausomu kintamuoju laikėme ligą indikuojantį kintamąjį (kontrolė – migrena); „įvykiu“ (angl. *event*) – migrena, nepriklausomu ėmėme vieną iš kraujagyslių reaktyvumo rodiklių: aortos PBG, RF, PF, RF–BZ, BZ–PF, RF–PF (žr. 19 ir 20 lenteles).

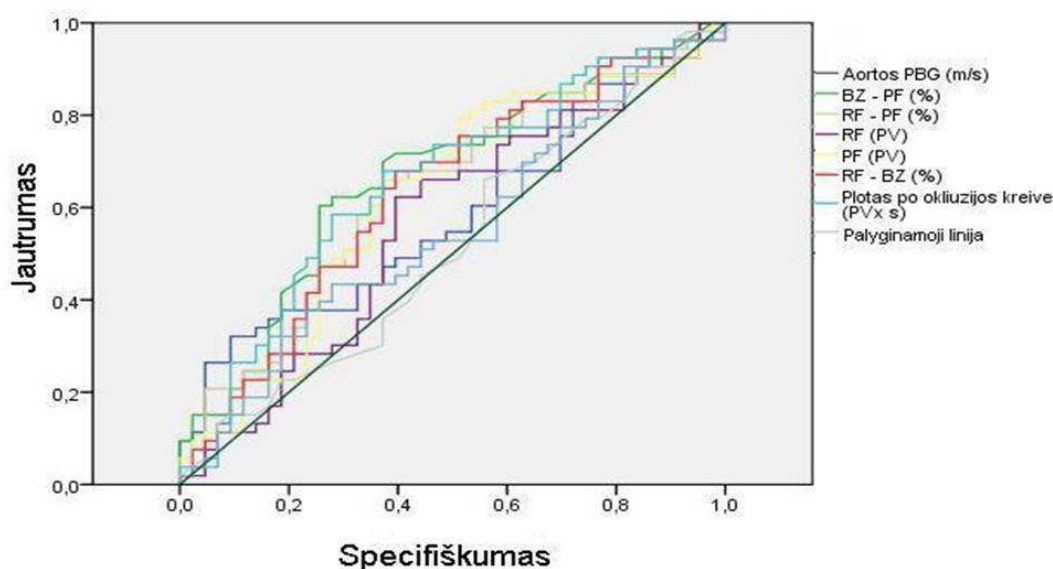
**21 lentelė. Kraujagyslių reaktyvumo ROC kreivių charakteristikos**

Kintamasis*	Plotas (SP)**	p***	95 proc. PI
Aortos PBG (m/s)(-)	0,507 (0,058)	0,905	(0,393;0,621)
BZ–PF (%) (-)	0,583 (0,058)	0,149	(0,470;0,696)
RF–PF (%) (+)	0,619 (0,057)	0,039	(0,508;0,730)
RF (PV) (-)	0,640 (0,056)	0,015	(0,531;0,750)
PF (PV) (-)	0,559 (0,058)	0,308	(0,446;0,672)
RF–BZ (%) (+)	0,669 (0,054)	0,003	(0,563;0,775)
Plotas po okliuzijos kreive (PV <sub>x</sub> s) (-)	0,628 (0,057)	0,029	(0,517;0,738)

\* – ženklas „+“ prie kintamojo reiškia, kad migrenos grupei būdingos didesnės rodiklio reikšmės nei kontrolinei grupei (teigiamas ryšys); ženklas „-“ – atvirkščiai (neigiamas ryšys);

\*\* – pateikiamas plotas po kreive ir ploto įverčio standartinė paklaida;

\*\*\* – p reikšmė skirta tikrinti hipotezei, kad plotas statistiškai reikšmingai nesiskiria nuo 0,5; pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingus skirtumus; PBG – pulsinės bangos greitis, RF – ramybės kraujotaka, BZ – kraujotaka užspaudimo metu, PF – maksimali poišeminė kraujotaka, RF–BZ – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki biologinio nulio, BZ–PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo biologinio nulio iki maksimalios poišeminės kraujotakos, RF–PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki maksimalios poišeminės kraujotakos, PV – perfuzijos vienetai, s – sekundės.



**8 pav. ROC kreivės, rodančios migrenos – sveikų pacienčių diskriminavimo galimybę pagal kraujagyslių reaktyvumo rodiklius.**

Kadangi plotai po ROC kreivėmis buvo nedideli, tai nei vienam rodikliui slenkstinių verčių neieškojome, apsiribodami tuo, kad visi analizės būdai iš esmės atskleidė, kad ryškiausiai migrenos ir kraujagyslių reaktyvumo ryšį atspindi „RF–BZ“ ir „RF“ (jie skyrėsi tarp grupių lyginant abiem būdais). Taip pat ir ROC kreivių plotai, gauti naudojant šiuos rodiklius, statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo 0,5 ir yra didesni nei likusiųjų).

#### **4.3.2. Kraujagyslių reaktyvumo palyginimas kontrolinėje ir migrenos grupėse diferencijuojant pagal migrenos pobūdį**

Norėdami nustatyti, kaip kraujagyslių endotelio funkcijos bei standumo ypatumai yra susiję su migrenos tipu (septintasis uždavinys), atlikome vienfaktorinę dispersinę analizę, o kintamiesiems, kuriems gauti statistiškai reikšmingi skirtumai – atlikome porinius palyginimus. Rezultatai pateikiami 22 ir 23 lentelėse.

Analizuojant 22 lentelėje pateiktus rezultatus matome, kad tarp grupių buvo rasti tik du statistiškai reikšmingi skirtumai. Tarpgrupinis palyginimas (23 lentelė) parodė, kad moterys, sergančios migrena su aura pasižymėjo geresne endotelio funkcija išmatuota žasto arterijoje (didesnė TSD) nei sergančios migrena be auros ar kontrolinės grupės tiriamosios. Išliko tendencija, kad sergančiosioms migrena yra blogesnė ramybės kraujotaka mikrocirkuliacijoje, tačiau statistiškai reikšmingas skirtumas tarp grupių gautas tik pagal procentinį kraujotakos pokytį nuo ramybės kraujotakos iki kraujotakos užspaudimo (išemijos) metu (RF–BZ) (22 lentelė), o tarpgrupinis palyginimas parodė, kad didžiausias skirtumas stebėtas tarp M0 ir kontrolinės grupių.

**22 lentelė. Grupių palyginimas pagal kraujagyslių reaktivumo rodiklius taikant vienfaktorinę dispersinę analizę**

Kintamasis*	Sergančios migrena be auros (M0) (n=30)	Sergančios migrena su aura (MA) (n=30)	Kontrolinė grupė (n=60)	p
TSD (%)	3,80±2,51	6,19±4,11	4,38±2,79	0,010
Stipinės a. PBG (m/s)	7,86±0,95	7,98±0,95	8,26±1,10	0,210
Aortos. PBG (m/s)	7,05±1,36	6,48±0,95	6,84±1,02	0,137
AIx/HR (%)	15,73±10,63	17,87±12,00	16,08±14,29	0,777
RHI (%)	2,17±0,68	2,07±0,54	1,94±0,55	0,223
FRHI (%)	0,85±0,41	0,55±0,43	0,63±0,58	0,064
RF (PV)	45,75±50,32	43,63±33,17	55,93±33,55	0,316
BZ (PV)	6,01±2,09	6,16±2,77	6,16±3,71	0,978
PF (PV)	203,17±102,98	200,49±75,85	218,90±93,22	0,629
RF-BZ (%)	-79,83±11,21	-81,63±9,55	-85,64±9,63	0,042
BZ-PF (%)	3473,20±1736,97	3552,01±1830,90	4229,44±2601,31	0,264
RF-PF (%)	514,74±284,11	503,94±409,68	388,78±247,15	0,144
Laikas iki RF (s)	33,11±44,15	31,26±14,46	28,51±17,37	0,764
Laikas iki PF (s)	55,18±47,02	59,18±31,19	45,41±22,74	0,113
Plotas po okliuzijos kreive (PV x s)	12226,0±15403,0	11804,99±10089,38	15647,80±10917,67	0,317
Plotas po hiperemijos kreive (PV x s)	9315,64±6607,88	12017,85±7770,08	9703,61±8045,47	0,343

\* – pateikiami vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai, pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingus skirtumus; TSD – tėkmės sąlygota dilatacija, PBG – pulsinės bangos greitis, AIx/HR – koreguotas augmentacijos indeksas, RHI – reakcinės hiperemijos indeksas, FRHI – Framinghamo reakcinės hiperemijos indeksas, RF – ramybės kraujotaka, BZ – kraujotaka užspaudimo metu, PF – maksimali poišeminė kraujotaka, RF-BZ – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki biologinio nulio, BZ-PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo biologinio nulio iki maksimalios poišeminės kraujotakos, RF-PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki maksimalios poišeminės kraujotakos, laikas iki RF – laikas iki ramybės perfuzijos atsistatymo, laikas iki PF- laikas iki maksimalios perfuzijos, PV – perfuzijos vienetai, s – sekundės.

**23 lentelė. Poriniai grupių palyginimai po paprastos dispersinės analizės**

Kintamasis / grupės*	M0 vs MA	M0 vs kontrolė	MA vs kontrolė
TSD (%)	0,004	0,436	0,014
RF-BZ (%)	0,513	0,020	0,089

\* – pateikiamos porinių palyginimų p reikšmės; vidurkiai pateikiami 22-oje lentelėje, pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingus skirtumus; TSD – tėkmės sąlygota dilatacija, RF-BZ – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės kraujotakos iki kraujotakos užspaudimo metu.

Siekiant įsitikinti, ar šalutinių kintamųjų kontrolė patvirtintų šiuos rezultatus, buvo atlikta kovariacinė analizė. Į analizę įtraukti šie veiksniai:

amžius, vidutinis arterinis kraujospūdis, kūno masės indeksas, bendras cholesterolis, didelio tankio lipoproteinų cholesterolis, trigliceridai, C reaktyvus baltymas ir serumo amiloidas A. Lyginant grupes pagal TSD, papildomai įtrauktas žasto arterijos išėties diametras. Rezultatai pateikiami 24 lentelėje. Kintamiesiems, kuriems rasti statistiškai reikšmingi skirtumai buvo atliktas porinis palyginimas (25 lentelė).

**24 lentelė. Grupių palyginimas pagal kraujagyslių reaktyvumo rodiklius taikant kovariacinę analizę**

Kintamasis*	Sergančios migrena be auros (M0) (n=30)	Sergančios migrena su aura (MA) (n=30)	Kontrolinė grupė (n=60)	p
TSD (%)	3,65±0,62	6,71±0,59	4,14±0,47	0,001
Stipininės a PBG (m/s)	7,86±0,20	7,90±0,19	8,30±0,15	0,198
Aortos PBG (m/s)	6,75±0,20	6,36±0,19	7,09±0,16	0,025
AIx/HR (%)	14,93±2,02	14,68±1,94	18,46±1,58	0,280
RHI (%)	2,14±0,12	2,03±0,11	1,97±0,09	0,600
FRHI (%)	0,85±0,10	0,53±0,10	0,63±0,07	0,065
RF (PV)	41,68±7,99	39,27±7,09	60,48±5,64	0,059
BZ (PV)	6,07±0,65	6,10±0,50	6,15±0,46	0,995
PF (PV)	193,88±19,67	185,87±17,46	232,01±13,88	0,118
RF–BZ (%)	-77,74±2,11	-80,77±1,87	-87,18±1,49	0,002
BZ–PF (%)	3247,67±476,67	3232,75±423,24	4527,36±336,32	0,041
RF–PF (%)	569,27±66,08	498,02±58,68	364,94±46,62	0,051
Laikas iki RF (s)	37,37±5,94	32,51±5,46	25,39±4,38	0,301
Laikas iki PF (s)	58,01±7,30	58,99±6,72	43,98±5,38	0,192
Plotas po okliuzijos kreive (PVxs)	11067,97± 2573,59	9678,20±2367,22	17647,80±1918,57	0,035
Plotas po hiperemijos kreive (PVxs)	9247,22± 719,05	11342,09±1581,20	10387,65± 281,52	0,676

\* – pateikiami vidurkių įverčiai ir standartinės paklaidos, gauti naudojantis modelio lygtimi, TSD – tėkmės sąlygota dilatacija, PBG – pulsinės bangos greitis, AIx/HR – koreguotas augmentacijos indeksas, RHI – reakcinės hiperemijos indeksas, FRHI – Framinghamo reakcinės hiperemijos indeksas, RF – ramybės kraujotaka, BZ – kraujotaka užspaudimo metu, PF – maksimali poišeminė kraujotaka, RF–BZ – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki biologinio nulio, BZ–PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo biologinio nulio iki maksimalios poišeminės kraujotakos, RF–PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki maksimalios poišeminės kraujotakos, laikas iki RF – laikas iki ramybės perfuzijos atsistatymo, laikas iki PF- laikas iki maksimalios perfuzijos, PV – perfuzijos vienetai, s – sekundės.



**25 lentelė. Poriniai grupių palyginimai po kovariacinės analizės**

<b>Kintamasis / grupės*</b>	<b>M0 vs MA</b>	<b>M0 vs kontrolė</b>	<b>MA vs kontrolė</b>
TSD (%)	0,001	0,552	0,002
Aortos PBG (m/s)	0,163	0,226	0,007
BZ–PF (%)	0,981	0,042	0,024
RF–BZ (%)	0,278	0,001	0,012
Plotas po okliuzijos kreive (PV x s)	0,695	0,057	0,016

\* – pateikiamos porinių palyginimų p reikšmės; vidurkiai pateikiami 24-oje lentelėje, TSD – tėkmės sąlygota dilatacija, PBG – pulsinės bangos greitis, BZ–PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo kraujotakos užspaudimo metu iki maksimalios poišeminės kraujotakos, RF–BZ – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės kraujotakos iki kraujotakos užspaudimo metu, PV –perfuzijos vienetai, s – sekundės.

Po kovariacinės analizės buvo nustatyti 5 statistiškai reikšmingi skirtumai. Šalia jau aptartos didesnės tėkmės sąlygotos dilatacijos (TSD) sergančiosioms migrena su aura lyginant su M0 ir kontroline grupe, bei didesnio skirtumo pagal procentinį kraujotakos pokytį nuo ramybės kraujotakos iki kraujotakos užspaudimo (išemijos) metu M0 tarpe, taip pat buvo nustatyti skirtumai pagal aortos pulsinės bangos greitį (PBG), plotą po okliuzijos kreive ir pagal procentinį kraujotakos pokytį nuo biologinio nulio iki maksimalios poišeminės kraujotakos (BZ–PF).

Porinių palyginimų lentelėje pateikti duomenys taip pat rodo, kad visais analizuojamais parametrais migrena su aura skyrėsi nuo kontrolinės grupės: nustatyta didesnė tėkmės sąlygota dilatacija, mažesnis aortos pulsinės bangos greitis bei plotas po okliuzijos kreive. Abi migrenos grupės turėjo sutrikusią ramybės kraujotaką ir statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo kontrolinės grupės mažesniais kraujotakos pokyčiais: RF–BZ bei BZ–PF. Tuo tarpu MA ir M0 tarpusavyje skyrėsi tik TSD atžvilgiu.

Išanalizavus rezultatus paaiškėjo, kad periferinių arterijų tonometrijos metodu statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nebuvo. Be to, migrena su aura yra susijusi su geresne žasto arterijos endotelio funkcija bei mažesniu aortos standumu. Dauguma skirtumų išryškėjo atliekant mikrocirkuliacijos tyrimą lazerinės doplerometrijos būdu. Kadangi išemijos metu (BZ) kraujotaka tarp grupių nesiskyrė, tuo tarpu BZ–PF statistiškai reikšmingai buvo mažesnis abiejose migrenos grupėse, galime teigti, kad

migrena yra susijusi su blogesne endotelio funkcija smulkiosiose odos kraujagyslėse. Be to, tiek MA, tiek M0 būdingi pakitimai siejami su padidėjusiu kraujagyslių ramybės tonusu.

#### 4.3.3. Kraujagyslių reaktyvumo sąsajos su migrenos intensyvumu

Norėdami įvertinti kraujagyslių reaktyvumo sąsajas su migrenos intensyvumu parametrais (galvos skausmo dažniu ir skausmo stiprumu), apskaičiavome šių veiksnių koreliacijas sergančiųjų migrena su aura ir sergančiųjų migrena be auros grupėse. Rezultatai pateikiami 26 lentelėje.

**26 lentelė. Grupių palyginimas kraujagyslių reaktyvumo rodiklių atžvilgiu taikant vienfaktorinę dispersinę analizę**

Kintamasis***	Sergančios migrena be auros (M0) (n=30)		Sergančios migrena su aura (MA) (n=30)	
	Migrenos dažnis	Migrenos stiprumas	Migrenos dažnis	Migrenos stiprumas
TSD (%)	-0,161	0,621**	-0,213	0,028
Stipininės a. PBG (m/s)	0,021	-0,278	-0,108	0,157
Aortos PBG (m/s)	0,021	-0,233	0,123	-0,075
AIx/HR (%)	0,151	0,013	-0,390*	0,104
RHI (%)	-0,034	-0,085	-0,129	0,287
FRHI (%)	-0,187	-0,104	0,001	0,181
RF (PV)	-0,305	-0,513*	-0,033	-0,018
BZ (PV)	0,194	0,099	-0,071	-0,266
PF (PV)	-0,014	-0,351	-0,012	0,294
RF–BZ (%)	0,366	-0,696**	0,031	-0,204
BZ–PF (%)	-0,148	-0,359	0,111	0,279
RF–PF (%)	0,127	0,320	0,112	0,184
Laikas iki RF (s)	-0,099	-0,207	-0,321	0,334
Laikas iki PF (s)	0,178	-0,143	0,211	0,043
Plotas po okliuzijos kreive (PV x s)	-0,324	-0,574*	-0,024	0,021
Plotas po hiperemijos kreive (PV x s)	0,177	-0,072	0,249	0,276

\* – pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingas koreliacijas, kai reikšmingumo lygmuo yra 0,05;

\*\* – pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingas koreliacijas, kai reikšmingumo lygmuo yra 0,01;

\*\*\* TSD – tėkmės sąlygota dilatacija, PBG – pulsinės bangos greitis, AIx/HR – koreguotas augmentacijos indeksas, RHI – reakcinės hiperemijos indeksas, FRHI – Framinghamo reakcinės hiperemijos indeksas, RF – ramybės kraujotaka, BZ – kraujotaka užspaudimo metu, PF – maksimali poišeminė kraujotaka, RF–BZ – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki biologinio nulio, BZ–PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo biologinio nulio iki maksimalios poišeminės kraujotakos, RF–PF – procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki maksimalios poišeminės kraujotakos, laikas iki RF – laikas iki ramybės perfuzijos atsistatymo, laikas iki PF- laikas iki maksimalios perfuzijos, PV – perfuzijos vienetai, s – sekundės.



Analizuodami 26 lentelėje pateiktus duomenis matome, kad sergančiųjų migrena su aura grupėje buvo gauta tik viena statistiškai reikšminga koreliacija: kuo dažniau pacientės patirdavo galvos skausmus, tuo mažesnis koreguotas augmentacijos indeksas joms nustatytas.

Tuo tarpu segančiųjų migrena be auros grupėje buvo gautos keturios statistiškai reikšmingos koreliacijos, dvi iš jų – esant 0,01 reikšmingumo lygiui. Nustatyta, kad, patiriančioms stipresnius galvos skausmus, yra didesnė tėkmės sąlygota dilatacija. Galiausiai, rezultatai rodo, kad kuo didesnis yra patiriamas skausmas, tuo nustatomas mažesnis plotas po okliuzijos kreivę bei blogesnė kraujotaka ramybės metu (RF), procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki biologinio nulio (RF–BZ).

Be to, įdomu, kad visos koreliacijos migrenos be auros grupėje buvo gautos vertinant patiriamo skausmo stiprumą, o ne dažnį. Todėl ir ateityje vertinga atsižvelgti į šį kintamąjį, ieškant migrenos ir kraujagyslių reaktyvumo sąsajų.

#### **4.4. Trombocitų aktyvacijos, kraujagyslių reaktyvumo ir migrenos ryšys**

Dar vienas šio tyrimo uždavinys – nustatyti trombocitų agregacijos, degranuliacijos, trombocitų - monocitų agregatų susidarymo koreliacinius ryšius su periferinių kraujagyslių funkciniais ir anatomiais pakitimais, o taip pat ryšį su migrenos tipais. Šiuo tikslu apskaičiavome koreliacijos koeficientus tarp visų trombocitų aktyvacijos žymenų ir kraujagyslių reaktyvumo rodiklių migrenos ir kontrolinėje moterų grupėse.

Nebuvo rasta nei vienos statistiškai reikšmingos koreliacijos tarp endotelio funkcijos ir CD63/CD61 ir CD63/CD41 antikūnų (išreikštų procentais ir absoliučiais skaičiais), bei vidutinės fluorescencijos intensyvumo (VFI) CD63 rezultatų. Todėl šie rezultatai lentelėje nepateikiami. Dėl tos pačios priežasties, kad nebuvo rasta nei vienos statistiškai reikšmingos koreliacijos su įvairiomis trombocitų funkcinio aktyvumo charakteristikomis, lentelėje nepateikiami šie endotelio funkciniai rodikliai: stipininės arterijos

pulsinės bangos greitis (PBG), aortos pulsinės bangos greitis, Framinghamo reakcinės hiperemijos indeksas (FRHI), ramybės kraujotaka (RF), kraujotaka užspaudimo metu (BZ), maksimali poišeminė kraujotaka (PF), procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki biologinio nulio (RF–BZ), procentinis kraujotakos pokytis nuo biologinio nulio iki maksimalios poišeminės kraujotakos (BZ–PF), plotas po okliuzijos kreive (PV x s). Likusių kintamųjų koreliacijos pateikiamos 27 lentelėje.

Analizuodami 27 lentelę matome, kad buvo gauta nedaug statistiškai reikšmingų koreliacijų ir tirtose grupėse skiriasi kintamieji. Didžiausias koreliacijų skaičius stebėtas pacientėms sergančioms migrena be auros.

Pacientėms sergančioms migrena be auros gautos dvi statistiškai reikšmingos koreliacijos buvo susijusios su trombocitų – monocitų agregatais, išreikštais absoliučiu skaičiumi: mažesnis trombocitų – monocitų agregatų skaičius buvo susijęs su geresne endotelio funkcija išmatuota PAT (RHI) bei su didesniu kraujagyslių standumu (AIx/HR). Beje, pastaroji koreliacija yra vienintelė, kurios reikšmingumo lygmuo yra 0,01. Be to, nustatyta koreliacija tarp laiko iki ramybės perfuzijos atstatymo. Kuo jis ilgesnis, tuo mažesnis aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymens (agregacijos fazei vertinti) švytėjimo intensyvumas, tuo mažiau trombocitų prisijungia PAC-1 antikūnus (vertinant tiek procentais, tiek absoliučiais skaičiais), tuo didesnis trombocitų – monocitų agregatų procentas.

Vienintelis endotelio funkcijų kintamasis sergančiųjų migrena be auros grupėje, kuris koreliavo su trombocitų kintamaisiais, buvo plotas po okliuzijos kreive: kuo jis didesnis, tuo daugiau nustatoma trombocitų – monocitų agregatų.

**27 lentelė. Trombocitų funkcinio aktyvumo ir endotelio funkcijos koreliacijos**

<b>Kintamasis***</b>	<b>VFI PAC-1</b>	<b>% PAC-1/CD42a</b>	<b>Abs.sk. PAC-1/CD42a</b>	<b>% trombocitų-monocitų agregatai</b>	<b>Abs.sk. trombocitų-monocitų agregatai</b>
<b>Migrena su aura</b>					
TSD (%)	0,283	-0,109	-0,103	0,113	0,036
AIx/HR (%)	-0,105	-0,186	-0,153	0,200	0,120
RHI (%)	0,358	0,239	0,246	-0,054	-0,082
RF-PF (%)	0,087	-0,127	-0,071	-0,219	-0,260
Laikas iki RF (s)	0,035	0,149	0,171	0,080	0,078
Plotas po okliuzijos kreive (PV x s)	0,133	0,047	0,022	0,369*	0,280
<b>Migrena be auros</b>					
TSD (%)	-0,205	-0,261	-0,271	-0,118	-0,228
AIx/HR (%)	-0,089	-0,033	-0,030	-0,130	-0,547**
RHI (%)	0,050	0,068	0,078	-0,336	-0,398*
RF-PF (%)	-0,098	0,181	0,188	0,201	-0,142
Laikas iki RF (s)	-0,443*	-0,539*	-0,527*	0,430*	0,091
Plotas po okliuzijos kreive (PV x s)	-0,083	-0,198	-0,195	0,005	0,390
<b>Migrena (abi grupės)</b>					
TSD (%)	-0,018	-0,173	-0,182	-0,078	-0,115
AIx/HR (%)	-0,132	-0,097	-0,082	0,003	-0,213
RHI (%)	0,176	0,19	0,196	-0,213	-0,283*
RF-PF (%)	-0,007	-0,019	0,002	-0,022	-0,156
Laikas iki RF (s)	-0,197	-0,215	-0,192	0,253	0,070
Plotas po okliuzijos kreive (PV x s)	0,031	-0,100	-0,099	0,203	0,301*
<b>Kontrolinė grupė</b>					
TSD (%)	-0,172	0,595	0,571	0,347*	0,158
AIx/HR (%)	0,009	0,611	0,619	0,078	0,055
RHI (%)	0,133	0,551	0,571	0,000	0,064
RF-PF (%)	-0,312*	-0,132	-0,167	-0,051	-0,001
Laikas iki RF (s)	-0,003	-0,100	-0,100	-0,085	0,047
Plotas po okliuzijos kreive (PV x s)	0,159	0,270	0,321	0,190	0,132

\* p < 0,05, \*\* p < 0,01

\*\*\* pateikiami koreliacijos koeficientai, pilkas fonas reiškia statistiškai reikšmingas koreliacijas; VFI – vidutinis fluorescencijos intensyvumas, % – procentinė išraiška trombocitų prijungusių abu antikūnus, Abs. sk. – skaičius trombocitų prijungusių abu antikūnus, PAC-1 – aktyvuoto glikoproteinų IIb/IIIa žymuo (agregacijos fazei vertinti), CD42a – specifinis antikūnas trombocitams aptikti, TSD – tėkmės sąlygota dilatacija, PBG – pulsinės bangos greitis, AIx/HR – koreguotas augmentacijos indeksas, RHI – reakcinės hiperemijos indeksas, RF-PF- procentinis kraujotakos pokytis nuo ramybės iki maksimalios poišeminės kraujotakos, laikas iki RF – laikas iki ramybės perfuzijos atsistatymo, PV – perfuzijos vienetai, s – sekundės

Visoms migrena sergančioms moterims, kaip ir migrenos be auros atveju, svarbiausias trombocitų funkcijos kintamasis yra trombocitų - monocitų agregatų skaičius: jis neigiamai susijęs su reakcijos hiperemijos indeksu ir teigiamai su plotu po okliuzijos kreive. Tuo tarpu kontrolinėje grupėje buvo rastas teigiamas ryšys tarp tēkmės sąlygotos dilatacijos ir trombocitų – monocitų agregatų skaičiaus, išreikšto procentais. Tačiau PAC-1 žymens vidutinis fluorescencijos intensyvumas neigiamai susijęs su procentiniu kraujotakos pokyčiu nuo ramybės iki maksimalios poišeminės kraujotakos.

Taigi, yra pagrindo teigti, kad ryšys tarp migrenos, endotelio funkcijos ir trombocitų aktyvacijos žymenų yra; jis priklauso nuo migrenos tipo ir kokybiškai skiriasi nuo ryšio sveikų pacienčių grupėje.

## 5. REZULTATŲ APITARIMAS

Mes tyrėme moteris, kurioms VUL SK Nervų ligų centre pagal *IHS (International headache society)* 2004 metų kriterijus jau buvo diagnozuota migrena, tačiau jos neturėjo lydinčių kraujagyslių ir širdies ligų. Pagal diagnozę skirstėme į dvi grupes: migrena su aura (MA) ir migrena be auros (M0). Visos šių grupių pacientės nesiskyrė pagal amžių, ligos trukmę, priepuolių dažnį, o taip pat vartojamų triptanų kiekius.

### 5.1. Kardiovaskulinių ligų rizikos veiksnių ir antropometrinių duomenų palyginimas

Ieškant sąsajų tarp migrenos ir širdies bei kraujagyslių ligų, atlikta nemažai tyrimų, vertinusių įvairius aterosklerozės rizikos veiksnius.

Duomenys apie migrenos ir hipertenzijos ryšį prieštaringi. Kai kurie tyrėjai nustatė padidėjusį sistolinį [226] ar sistolinį ir diastolinį arterinį kraujo spaudimą [227], didesnes AKS reikšmes pacientams, kuriems kartojo galvos skausmai, tarp jų ir migreniniai, [228, 229]. Tačiau kiti nenustatė ryšio tarp migrenos ir hipertenzijos [1], taip pat nestebėjo didesnių arterinio kraujo spaudimo reikšmių [11]. Tokie skirtumai galimi, nes nemažai tyrimų atlikta dar iki standartizuotos migrenos klasifikacijos *IHS* paskelbimo, be to naudotos skirtingos ribinės AKS reikšmės hipertenzijai diagnozuoti, o ir pačių tiriamųjų populiacijos buvo skirtingos (neatmetama ir rasinių skirtumų įtaka). Net ir tuose tyrimuose, kurie nustatė vienokį ar kitokį AKS ryšį su migrena yra naudoti nevienodi hipertenzijos bei migrenos diagnozavimo kriterijai, pavyzdžiui iki 1988 m. naudota *ICHD-I (International Classification Headache Disorders)*, jautrumas diagnozuojant M0 ir MA yra atitinkamai 21% ir 27%, tuo tarpu nuo 2004 m. naudojant *ICHD- II* jautrumas jau padidėjo atitinkamai iki 53% ir 71%.

Mes palyginome migrena sergančias moteris su sveikomis ir radome, kad jos statistiškai reikšmingai turėjo didesnę diastolinę bei vidutinę

kraujo spaudimą ( $p < 0,001$ ), o pagal sistolinį nesiskyrė. Tokią pačią tendenciją aprašė nemažai tyrėjų [149, 186, 230, 231]. Suskirstę pagal auros buvimą, M0 grupėje, skirtingai nuo MA, nustatėme didesnes tiek sistolinio, tiek diastolinio AKS reikšmes, o vidutinis AKS buvo panašus abiejose migrenos grupėse. Tuo tarpu *GEM* (angl. *Genetic Epidemiology of Migraine*) tyrime AKS skirtumo tarp migrenos ir kontrolinės grupių nestebėta, tačiau rasta, kad MA sergantys asmenys turi daugiau tradicinių KVL rizikos veiksnių, tarp jų ir padidėjusį AKS (OR 1,76 [95 % PI; 1,04-3,0]) [11]. Sergantieji MA daugiau rūkė (OR 2,14 [95 % PI; 1,3-3,5]), jiems buvo nustatyta padidėjusi bendro cholesterolio (OR 1,43 [95 % PI; 0,97-2,1]) ir sumažėjusi DTL koncentracija (OR 1,19 [95 % PI; 0,8-1,8]) arba bent vienas iš dislipidemijos požymių (OR 1,54 [95 % PI; 1,1-2,1]), teigiama šeiminė KVL anamnezė. Šiais metais paskelbtas dar vienas didelės apimties tyrimas (6102 sergantys migrena ir 5243 kontrolinė grupė) taip pat nustatė, kad migrena sergantys dažniau rūkė, turėjo padidėjusį cholesterolio kiekį kraujyje (32,7% vs 25,6%, OR 1.4 [95% PI 1,3–1,5]), sirgo cukriniu diabetu bei hipertenzija [11]. Reikšmingo skirtumo tarp MA ir M0 grupių nestebėta, išskyrus, kad MA sergančiosios daugiau rūkė. Kita vertus, daugybė tyrėjų, nors ir įrodė migrenos bei insulto ryšį, nenustatė tradicinių KVL rizikos veiksnių reikšmingo padidėjimo [1, 6, 232].

Savo tyrime įvertinę kitus tradicinius aterosklerozės rizikos faktorius, radome vienintelį skirtumą: MA sergančios moterys buvo linkusios daugiau sportuoti – joms hipodinamiją nustatėme rečiau nei M0 bei kontrolinėje grupėse. Galima manyti, kad didesnis fizinis aktyvumas MA grupėje nulėmė ir mažesnę sistolinį bei diastolinį AKS. Kita vertus, rastas statistiškai patikimas padidėjęs vidutinis AKS vertė atlikti kovariacinę analizę, kad galima būtų atmesti padidėjusio kraujospūdžio įtaką kitiems mūsų atliekamų tyrimų rodikliams.

Vertindami kardiovaskulinę riziką, naudojome NCEP (*National Cholesterol Education Program*) rekomenduotą ATP III (Adult treatment panel III) Framingham rizikos vertinimo skalę. Reikšmingo skirtumo tarp tirtų grupių nenustatėme ( $p = 0,391$ ).

Viename iš didžiausių kardiovaskulinę riziką vertinusių tyrimų (*GEM*) (tiriamųjų vidutinis amžius 41,1 metai) buvo nustatyta, kad MA ligonių galimybių santykis turėti 2-9 % riziką, lyginant kontroliniais asmenimis, buvo 2,05 [95 % PI; 1,3-3,2], 10-20 % riziką – 1,84 [95 % PI; 0,8-4,5] ir daugiau negu 20 % riziką – 4,01 [95 % PI; 1,1-15,0] [11]. T. Kurth ir kt. 2005-2006 metais publikuotuose straipsniuose apie migrena sergančių moterų sergamumą KVL nenurodo rizikos veiksnių dažnio skirtumų M0 ir MA grupėse [1, 8], tačiau MA sergančios moterys dažniau sirgo KVL. 2008 metais tie patys autoriai [233] pateikė išsamesnę Moterų sveikatos tyrimo (*WHS*, angl. *Women Health Study*) duomenų analizę. Buvo nustatyta, kad jei MA sergančios moterys, lyginant su migrena nesergančiomis, turėjo didesnę kardiovaskulinių ligų riziką pagal Framinghamą, jos dažniau sirgo koronarine širdies liga, o jei turėjo mažesnę riziką - cerebrovaskuline liga. Jei kardiovaskulinė rizika buvo daugiau negu 10 %, HR susirgti galvos smegenų infarktu buvo 1,00 [95 % PI; 0,24-4,14], o miokardo infarktu – 3,34 [95 % PI; 1,50-7,46]. Jei KVL rizika buvo mažiau negu 1 %, rizikų santykis (HR) susirgti galvos smegenų infarktu buvo 3,88 [95 % PI; 1,87-8,08], o miokardo infarktu – 1,29 [95 % PI; 0,40-4,21]. Tokie dvejetainiai rezultatai gauti vertinant ne tik riziką, bet ir atskirus Framinghamo skalės komponentus: MA sergančioms moterims, kurioms įvyko miokardo infarktas, dažniau buvo nustatoma dislipidemija ir arterinė hipertenzija, o kurioms įvyko galvos smegenų infarktas – dažniau žemesnis sistolinis AKS (mažiau negu 110 mm Hg) ir mažesnė bendro cholesterolio koncentracija (mažiau negu 4,4 mmol/l). M. Bigal su kolegomis vertino mišrią populiaciją [15]. Rizika pagal Framinghamo skalę nustatyta statistiškai patikimai didesnė MA ir M0 grupėse ( $11,0 \pm 5,4$  ir  $10,6 \pm 5,4$ ) lyginant su kontroline ( $8,5 \pm 6,1$ ) ( $p < 0,001$ ). Didesnė rizika stebėta vyresnio amžiaus pacientams, tuo tarpu 30-39 metų amžiaus rizika buvo iki 5 %. Be to, šiame tyrime migrenos grupėje daugiau buvo sergančių cukriniu diabetu (12,6 % vs 9,4 %, OR 1,4 [95 % PI 1,2-1,6]), hipertenzija (33,1 % vs 27,5 %, OR 1,4 [95 % PI 1,3-1,6]).



Išanalizavę gautus rezultatus, galvojame, kad migrena sergančioms moterims nenustatėme žymesnės KVL rizikos, nes neįtraukėme į tyrimą pacienčių sergančių diabetu bei hipertenzija. Taip pat tiriamosios buvo jaunesnio amžiaus.

Vertinant mūsų bei ankstesnių darbų rezultatus galima apibendrinti, kad sergantiems migrena žymiai dažniau nustatomas nepalankus KVL rizikos fonas, tačiau duomenys nėra vienareikšmiai. Minėti rizikos veiksniai nėra tiesiogiai susiję su migrena, tačiau jų buvimas gali padidinti komplikacijų dažnį.

## **5.2. Migrena ir trombocitų aktyvacijos žymenys**

Trombocitai vaidina svarbų vaidmenį vystantis aterotrombozinėms ligoms [89, 90, 91, 234]. Pakitęs jų funkcinis aktyvumas gali būti nustatytas žymiai ankščiau, negu atsiranda ateroskleroziniai pakitimai [235], o tai labai svarbu aptinkant pacientus, kuriems yra didelė rizika aterosklerozinėms komplikacijoms atsirasti. Svarbios informacijos apie trombocitų aktyvumą gauta pradėjus taikyti tėkmės citometrijos metodą. Atlikta nemažai tyrimų ir įrodytas jų vaidmuo sergant prieširdžių virpėjimu [236], cukriniu diabetu bei hipertenzija [237], insultu [238] ir ūmiais koronariniiais sindromais [239]. Nustatyta, kad trombocitų funkcinis aktyvumas skiriasi šių ligų atveju ir yra veikiamas pačių įvairiausių rizikos veiksnių.

Literatūroje aprašomas trombocitų funkcinis aktyvumas sergant migrena yra nevienareikšmis. Yra duomenų, leidžiančių galvoti, kad trombocitai yra aktyvuoti ir tai gali lemti dažnesnes išemines komplikacijas [110, 124].

Mūsų tyrime trombocitų skaičius tarp grupių nesiskyrė ( $p = 0,146$ ). Tačiau gauti rezultatai patikimai įrodė, kad sergančioms migrena moterims yra pakitęs trombocitų funkcinis aktyvumas. Nustatyta statistiškai patikimai didesnis CD63 žymenį (tiek %, tiek absoliučiais atvejų skaičiais) ekspresuojančių trombocitų skaičius, o tuo tarpu CD63 vidutinis fluorescencijos intensyvumas (VFI CD63) lyginant su kontrole buvo beveik

dvigubai silpnesnis. Tai rodo, kad moterims, sergančioms migrena, po priepuolio išlieka padidėjęs trombocitų funkcinis aktyvumas jungtis su degranuliacijos funkciją atspindinčiais antikūnais, tačiau tuo pačiu metu konstatuojamas sumažėjęs vidutinis trombocitų išlaisvinimo reakcijos fluorescencinis intensyvumas. Tikėtina, kad migrenos priepuolio metu, vyraujant skausminiam sindromui, didžioji dalis pačių aktyviausių trombocitų aktyvuojasi, degranuliuoja ir agreguoja. Todėl moterims po migrenos priepuolio praėjus 5 dienoms ir daugiau stebimas statistiškai patikimas beveik dvigubai silpnesnis (lyginant su kontroline grupe) CD63 žymenį ekspresuojančių trombocitų vidutinis fluorescencijos intensyvumas, nors bendras CD63 žymenį ekspresuojančių trombocitų skaičius yra didesnis. Didesnio skirtumo tarp MA ir M0 grupių neįrodėme ( $p = 0,914$ ).

Trombocitų agregaciją atspindintis PAC-1 žymenį ekspresuojančių trombocitų kiekis taip pat buvo statistiškai patikimai didesnis migrenos grupėje (tiek %, tiek absoliučiais atvejų skaičiais), tačiau vidutinis fluorescencijos intensyvumas VFI PAC-1 vėl rastas žymiai mažesnis migrenos grupėje ( $p < 0,001$ ). Be to, migrena sergančiosioms nustatytas ir mažesnis susidarančių trombocitų-monocitų agregatų kiekis. Šie trombocitų aktyvumo tyrimo rezultatai patvirtina hipotezę, kad trombocitai migrenos priepuolio metu aktyviai dalyvauja homeostazės kitimuose ir gali paveikti migrenos priepuolio klinikinės eigos ypatumus. Tai, kad trombocitai migrenos priepuolio metu yra aktyvuojami ir įvyksta degranuliacijos reakcijos, rodo ir serotonino koncentracijos padidėjimas [240]. Natūralu, kad po migrenos priepuolio praėjus 5 ir daugiau dienų randame dvigubai mažesnę vidutinę fluorescencijos intensyvumą (VFI CD63), atspindinti sumažėjusį degranuliacijos potencialą, o taip pat mažesnę trombocitų agregacinę aktyvumą. Po migrenos priepuolio tokie trombocitų „išsekimo“ požymiai sumažina ir galimybę kraujyje susidaryti trombocitų - monocitų agregatams. Norint patvirtinti šiuos teiginius, reikėtų papildomai atlikti analogiškus trombocitų funkcinio aktyvumo tyrimus pacientėms migrenos priepuolio metu.

Kita vertus, iki šiol tęsiasi diskusija apie trombocitų etiopatogenezinį vaidmenį ne tik formuojant migrenos priepuolį, bet ir lemiant migrena sergančiųjų dažnesnes širdies ir kraujagyslių komplikacijas. Neatmetama ir kita hipotezė, kad bendrieji širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksniai gali keisti trombocitų funkcinį aktyvumą ir sukelti dažnesnių komplikacijų. Yra duomenų, rodančių, kad padidėjęs arterinis kraujo spaudimas, gali keisti trombocitų aktyvumą [241], nors kitiems tyrėjams to įrodyti nepavyko [242, 243]. Iki šiol atliktų tyrimų, vertinusių arterinio kraujo spaudimo reikšmes bei hipertenzijos dažnį sergančioms migrena rezultatai labai prieštaringi. Mūsų tyrimo rezultatai parodė, kad sistolinis arterinis kraujo spaudimas sergant migrena nesiskyrė nuo kontrolinės grupės, tačiau atsižvelgiant į auros buvimą, didesnis buvo tarp M0, o diastolinis AKS visoms sergančioms migrena (ypač M0) rastas statistiškai reikšmingai didesnis, tačiau tai neturėjo įtakos trombocitų funkciniam aktyvumui.

Manoma, kad padidėjusi cholesterolio koncentracija daugiau negu hipertenzija didina trombocitų funkcinį aktyvumą [205, 228, 229]. Nustatyta, kad CD62 ir CD63 atvirkščiai koreliuoja su DTL koncentracija. Įrodinėjama, kad DTL, didindamas trombocitų azoto oksido sintetazės aktyvumą gali slopinti trombocitų aktyvumą [244]. Mūsų tyrime sergančiosios migrena statistiškai reikšmingai nesiskyrė nuo kontrolinės grupės daugumos širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksnių atžvilgiu. Taip pat nenustatėme ryšio tarp dislipidemijos bei trombocitų aktyvumo padidėjimo. Kita vertus, mūsų tirtų pacienčių hipercholesterolemija nebuvo labai išreikšta. Neatmetama galimybė, kad esant išreikštai dislipidemijai ir hipercholesterolemijai galimi ir kitokie trombocitų funkcinio aktyvumo atsakai.

Mūsų tyrime vertinome ir nutukimo įtaką ląstelinės hemostazės aktyvumui, nes įrodyta, kad nutukimas skatina lipidų peroksidaciją ir galimai dėl to padidėjusį trombocitų funkcinį aktyvumą [245]. Todėl migrena sergančias moteris papildomai suskirstėme pagal KMI į turinčias normalų svorį ( $KMI < 25 \text{ kg/m}^2$ ) bei viršsvorį ( $KMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ). Tačiau ryšio tarp KMI ir trombocitų funkcinio aktyvumo nenustatėme. Reikia pažymėti, kad mūsų tirtos

migrena sergančiosios turėjo viršsvorį, bet nebuvo nutukusios. Tai galėjo turėti reikšmės gautiems rezultatams.

Kitas, nemažiau svarbus aterosklerozės ir jos komplikacijų atsiradimo rizikos veiksnys yra uždegimas [246]. Bet kurioje šios ligos stadijoje (plokštelės atsiradimas, augimas, plyšimas ir kt.) vykstančius pokyčius galima sieti su uždegiminiu procesu kraujagyslės sienelėje. Galvojama, kad migrenos priepuolius taip pat lydi uždegiminis procesas. Kita vertus, tarp trombocitų aktyvumo ir uždegimo yra abipusis ryšys, kuris palaikomas dėl chemokinių ir adhezijos molekulių poveikio [247]. C reaktyvus baltymas, o ypač didelio jautrumo (hs-CRB), yra jautrus sisteminio uždegimo indikatorius ir nepriklausomas išeminio insulto [248] bei koronarinės širdies ligos rizikos veiksnys (249). Migrena sergantiems CRB tirtas vos keliuose tyrimuose. *Women's health study* duomenimis iš 27625 moterų CRB padidėjimas stebėtas 39,8% sergančiųjų migrena bei 36,4% neturinčių šios ligos [250]. Kai kurie tyrėjai nustatė didesnę CRB koncentraciją migrenos grupėje [251, 252]. Mūsų tyrime CRB koncentracija tarp grupių nesiskyrė, bet mūsų tirtos pacientės buvo jaunesnės bei turėjo mažesnę KMI. Deja, taip pat nenustatėme CRB ryšio su trombocitų funkcinio aktyvumu.

Serumo amiloidas A – dar vienas uždegiminio proceso aktyvumo rodiklis. Jį pasirinkome dėl plataus reikšmių spektro bei dėl didesnio jautrumo esant aterosklerotinių pakitimų [81]. Kad įvertintume KVL riziką, skirstėme SAA koncentraciją į tercilius, tačiau trombocitų funkcinio aktyvumo kitimų, priklausomų nuo SAA koncentracijos nestebėjome.

Taigi, nei vienas iš pasirinktų uždegiminį procesą atspindinčių rodiklių neturėjo ryšio su trombocitų aktyvumu bei trombocitų - monocitų agregatų susidarymu.

Mūsų nustatyti trombocitų aktyvumo pokyčiai statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo kontrolinės grupės, tačiau tarp MA ir M0 skirtumų nenustatėme.

Iki šiol migrena sergantiems pacientams buvo atliktas tik vienas trombocitų funkcinio aktyvumo vertinimo tyrimas pritaikant tėkmės

citometrijos metodą [141]. J. Zeller su kolegomis ištyrė tarp priepuolių 72 migrena sergančius pacientus ir jiems nustatė daugiau trombocitų, savo paviršiuje turinčių P - selektiną, nei kontrolinėje grupėje. Ir tai nulėmė statistiškai reikšmingas trombocitų aktyvumo padidėjimas sergantiems migrena be auros (1,4 vs 1,3,  $p < 0,001$ ). Pacientams vartojusiems triptanus, trombocitų aktyvumas nesiskyrė nuo kontrolinės grupės (1,29 vs 1,33,  $p = 0,6$ ). Mes taip pat stebėjome didesnę trombocitų funkcinį aktyvumą M0 tarpe (daugiau prijungė PAC-1 bei CD63 antikūnus), tačiau skirtumas tarp MA ir M0 nepasiekė statistiškai reikšmingų verčių.

Minėti tyrėjai [141] daugiau nustatė leukocitų - trombocitų agregatų (CD45/CD61) migrenos be auros grupėje nei kontrolinėje (6,1%, vs 3,9%  $p < 0,001$ ) ir triptanų vartojimas jų susidarymui įtakos neturėjo. Tuo tarpu monocitų - trombocitų agregatų skaičius, kuris šiuo metu vertinamas kaip jautresnis trombocitų aktyvacijos požymis, tarp grupių nesiskyrė ( $p = 0,071$ ) [141]. Didesnę trombocitų funkcinį aktyvumą tyrėjai aiškino dažniau pasitaikančiomis sunkesnėmis M0 formomis, taip pat triptanų vartojimas buvo šiek tiek didesnis būtent M0 grupėje (25 vs 21%). Minėtame tyrime pacientai buvo kiek vyresni (amžiaus vidurkis 45 metai) nei mūsų tiriamosios, grupės mišrios. Be to, nors leukocitų bei trombocitų skaičius buvo normalus, nebuvo įvertintas bendras uždegiminis fonas. Visi šie veiksniai galėtų keisti trombocitų aktyvumą.

Apibendrinami gautus rezultatus galime konstatuoti, kad vienfaktorinė dispersinė ir kovariacinė analizės parodė migrena sergančiųjų grupėje mažesnę PAC-1 ir CD63 vidutinį fluorescencijos intensyvumą nei kontrolinėje grupėje. Be to, šiems kintamiesiems (VFI CD63 ir VFI PAC-1) kardiovaskulinės rizikos veiksniai neturėjo esminės įtakos, ir jie yra tiesiogiai siejami su migrenos poveikiu. Analogiški rezultatai rasti MA ir MO grupėse: lyginant su kontroline grupe šios grupės statistiškai reikšmingai skyrėsi pagal CD63 ir PAC-1 vidutinį fluorescencijos intensyvumą, o taip pat pagal PAC-1 antikūnus prisijungusių trombocitų skaičių. Širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksniai šiems kitimams neturėjo reikšmės. Tuo tarpu migrenos auros įtaka

trombocitų funkciniam aktyvumui nebuvo esminė. Netgi atvirkščiai, vienfaktorinės dispersinės analizės metu M0 grupės pacientės turėjo didesnę trombocitų prisijungusių degranuliacijos antikūnus (CD63) skaičių, o trombocitų - monocitų agregatų skaičius nesiskyrė nuo kontrolinės grupės, kai tuo tarpu MA grupėje buvo statistikai reikšmingai mažesnis. Galbūt tam įtakos turi intensyvesnis ir ilgesnis skausminis sindromas, sukeliantis didesnę trombocitų aktyvaciją priepuolio metu ir jų „išsekimą“ jam pasibaigus. Nors mūsų MA ir M0 grupės reikšmingai nesiskyrė pagal priepuolių dažnį ir sunkumą bei ligos trukmę (4 lentelė), tačiau norėdami įvertinti priepuolių poveikį trombocitų funkciniam aktyvumui atlikome papildomą analizę. Jos metu paaiškėjo, kad trombocitų funkciniam aktyvumui svarbus yra priepuolių skaičius (dažnis). Be to, ši koreliacija stebėta tik M0 grupėje. Panašu, kad dažnesnius priepuolius patiriančioms moterims trombocitų paviršiuje didėja PAC-1 prijungiančių antigenų tankis, tačiau mažiau susidaro trombocitų-monocitų agregatų.

### **5.3. Migrena ir kraujagyslių reaktyvumas**

Endotelio disfunkcija vertinama kaip svarbus rizikos faktorius aterosklerozei vystytis [253, 254]. Tėkmės sąlygotos dilatacijos (TSD) matavimas atvėrė naujų galimybių neinvaziniu būdu nustatyti endotelio funkciją ir naudoti kaip skrinimo metodą, atrenkant didelės kardiovaskulinės rizikos pacientus [255]. Migrena sergantiems pacientams šiuo būdu endotelio funkcija vertinta vos keliuose tyrimuose, o skelbti duomenys neretai yra prieštaringi, pavyzdžiui, FH. Vanmolkot nustatė mažesnę TSD migrena [188], o E. Yetkin - M0 sergantiems asmenims [189]. Tačiau abiem atvejais MA nebuvo tirta. F.A. Silva skirstė grupes pagal auros buvimą, tačiau tėkmės sąlygota dilatacija MA, M0 ir kontrolinėje grupėje buvo panaši ( $p = 0,97$ ) [151].

Mūsų tyrime tėkmės sąlygota dilatacija bendroje migrenos ir kontrolinėje grupėje taip pat nesiskyrė ( $p = 0,307$ ), tačiau skirtumai išryškėjo

tarp MA ir M0. Pacientėms patiriančioms migreninius priepuolius su aura endotelio funkcija buvo geresnė (MA vs kontrolė  $p = 0,014$ , tuo tarpu M0 vs kontrolė  $p = 0,436$ ). Kyla klausimas, ar šiuos pakitimus gali sukelti migrenos priepuolių ypatumai ir (arba) kiti rizikos veiksniai?

Mūsų tirtos migrena sergančiųjų grupės pagal daugumą KVL rizikos veiksnių dažnį nesiskyrė tarpusavyje ir atitiko anksčiau atliktų tyrimų [189, 190] kontingentą. Nustatyti tik du tiriamųjų grupių skirtumai: M0 grupės sergančiosios turėjo didesnę sistolinę, diastolinę bei vidutinę AKS; daugiau sportuojančių buvo MA grupėje ( $p = 0,016$ ). Tuo tarpu kituose TSD vertinimuose tyrimuose tik viename [151] vidutinio AKS reikšmės buvo didesnės tiek migrenos, tiek ir MA grupėje. Be to, mūsų tirtų moterų bendras ir MTL cholesterolis buvo šiek tiek didesnis nei minėtuose tyrimuose, tačiau rūkančių buvo žymiai mažiau (atitinkamai 6,6-10%, ir 24-38%).

Nemažai tyrimų patvirtino TSD ryšį su įvairiais aterosklerozės rizikos faktoriais (amžiumi, dislipidemija, cukriniu diabetu, hipertenzija, rūkymu), tačiau koreliacijos dažniausiai tirtos mažose pacientų grupėse ir gauti rezultatai prieštaringi [256, 257, 258, 259]. D. Celemajer su kolegomis ištyrė 500 sveikų asmenų, ieškodami koreliacijos tarp tėkmės sąlygotos dilatacijos ir tradicinių aterosklerozės rizikos veiksnių. Nors ryšio su dislipidemija bei AKS nenustatė, bet įrodė, kad TSD neigiamai veikia rūkymas ir vyresnis amžius [260]. Tuo tarpu kiti autoriai šios koreliacijos nepatvirtino [261]. Nemažai tyrėjų atkreipė dėmesį, kad endotelio funkcija susijusi su AKS [262, 263, 264]. S. Verma ir kt. ištyrė 1154 sveikų vyrų, nustatė mažesnę TSD esant didesniai tiek sistoliniam, tiek diastoliniam AKS (atitinkamai  $p < 0,001$  ir  $p = 0,002$ ) [265]. Vertinant šių tyrėjų gautus rezultatus, manome, kad geresnę endotelio funkciją MA mūsų tirtoje grupėje lėmė mažesnis nei sergančioms migrena be auros sistolinis ir diastolinis AKS. Be to, papildomai teigiamos įtakos endotelio funkcijai MA grupėje galėjo nulemti ir lyginant su M0 grupe didesnis fizinis aktyvumas. Teigiamą fizinio aktyvumo poveikį endotelio funkcijai įrodė ir kiti tyrėjai [266, 267]. Kita vertus, ši sąveika yra abipusė, nes sportavimas gerina endotelio funkciją, o gerėjanti endotelio funkcija didina fizinio krūvio



toleranciją [268, 269]. Po atliktos kovariacinės analizės (atsižvelgus į visą eilę veiksmų, tarp jų ir į AKS), išliko reikšmingi skirtumai tarp MA ir M0 grupių ( $p = 0,001$ ). Taigi galima teigti, kad didesnis fizinis aktyvumas ne tik tiesiogiai, bet ir per AKS mažinantį poveikį, kartu su migrenos auros ypatumais lemia geresnę endotelio funkciją.

Pakitimus kraujagyslėse galėtų lemti ir dažnesni bei lydimi stipresnio galvos skausmo priepuoliai. Nors mūsų MA ir M0 grupės reikšmingai nesiskyrė pagal ligos sunkumo parametrus, tačiau M0 moterų pogrupis su stipresniais migrenos priepuoliais turėjo geresnę TSD. Tuo tarpu MA grupėje nors ir rasta geresnė endotelio funkcija (lyginant su kontroline ir M0 grupėmis), tačiau koreliacijos tarp skausmo dažnio ir stiprumo nepatvirtinome. Todėl, galima teigti, kad migreninė aura gali turėti specifinį poveikį endotelio funkcijai, kurio mechanizmui patikslinti reikėtų tolimesnių tyrimų.

Pastaruoju metu atsirado galimybė endotelio funkciją vertinti ir periferinių arterijų tonometrijos (PAT) būdu. Šiuo būdu nuo endotelio priklausoma poišeminės hiperemijos sukelta tėkmės vazodilatacija tiriama nebe žasto, bet piršto, t.y. smulkiosiose arterijose. Kadangi šis metodas yra automatizuotas ir nuo tyrėjo nepriklausomas, pastaruoju metu vis dažniau naudojamas moksliniuose tyrimuose. Mūsų turimais duomenimis, migrena sergantiesiems endotelio funkcija šiuo metodu anksčiau nebuvo tirta. Savo tyrime vertinome kraujotaką praėjus 60-90 s po okliuzijos, t.y., reakcinės hiperemijos indeksą (RHI), o taip pat kraujotaką po 90-120 s po okliuzijos - Framinghamo reakcinės hiperemijos indeksą (FRHI). Endotelio funkcijos statistiškai reikšmingų skirtumų tarp migrenos ir kontrolinės grupių (RHI  $p = 0,104$ , o FRHI  $p = 0,449$ ) nenustatėme. Taip pat nesuradome šių parametru skirtumų palyginę MA bei M0 su kontroline grupe (RHI  $p = 0,223$ , o FRHI  $p = 0,064$ ). Kadangi TSD žasto arterijoje buvo didesnis MA grupėje, o FRHI ir RHI tarp MA ir M0 grupių nesiskyrė, galime galvoti, kad endotelio funkciją stambiosiose periferinėse kraujagyslėse lemia migrenos auros veikimo ypatumai.

Kita vertus, žinoma, kad didėjantis arterijų standumas ne tik atspindi struktūrinius ir funkcinis pokyčius kraujagyslių sienelėje, bet yra laikomas ankstyvu aterosklerozės požymiu bei rodikliu, prognozuojančiu KVL [270]. Ieškodami migrenos sąsajų su išeminėmis komplikacijomis, įvertinome kraujagyslių elastingumą - matavome augmentacijos indeksą, pulsinės bangos greičius aortoje ir stipininėje arterijoje. Reikšmingo skirtumo tarp migrenos ir kontrolinės grupių nenustatėme (AIx  $p = 0,768$ , aortos PBG  $p = 0,735$ , stipininės arterijos PBG  $p = 0,086$ ).

Arterijų standumą lemia du pagrindiniai komponentai: pasyvusis (priklausantis nuo sienelės kolageninių ir elastinių skaidulų kiekio) ir aktyvusis komponentas (priklausantis nuo lygiųjų raumenų tonuso) [271]. Kraujagyslių elastingumą vertinusiuose tyrimuose migrenos ir kontrolinių asmenų bendrosios miego arterijos (elastinio tipo) nesiskyrė [214, 215], o raumeninio tipo periferinės arterijos buvo standesnės [213, 214]. Manoma, kad sergantiems migrena arterijų standumą gali lemti padidėjęs arterijų lygiųjų raumenų (LR) tonusas. Lygiųjų raumenų tonusą veikia autonominė nervų sistema, kraujyje cirkuliuojantys mediatoriai ir endotelio išskiriamos vazoaktyvios medžiagos [272]. Tarp migrena sergančių ir kontrolinių asmenų įrodyti kraujo spaudimo, širdies susitraukimų dažnio reakcijos į Valsalvės mėginį ar kvėpavimo ciklą skirtumai leidžia galvoti apie autonominės nervų sistemos hipofunkciją, kuri ryškesnė sunkesnius ir dažnesnius priepuolius patiriantiems ligoniams [273]. Vienas iš svarbiausių humoralinių faktorių, galinčių turėti įtakos arterijų tonusui – serotoninas (5-HT), kurio koncentracija migrena sergantiesiems tiek smegenyse, tiek kraujo plazmoje tarp priepuolių yra mažesnė, o priepuolių metu didesnė negu kontroliniams asmenims [274, 275, 276, 277]. Apie kitų mediatorių ir azoto oksido (NO) poveikį migrena sergančių ligonių periferinėms arterijoms geriausiai žinoma iš žmonių galvos skausmo modelių, kurių metu vertinama migreninio skausmo poveikis smegenų kraujotakai, smegenų ir ekstracerebrinių arterijų (smilkinio ir stipininės) diametru. Geriausiu modeliu laikomas glicerolio trinitrato sukeltas galvos skausmas, kylantis dėl NO poveikio, didinančio cGMP (ciklinio guanozino monofosfato)

ir CGRP (su kalcitonino genu susijusio peptido) koncentraciją. Šie biocheminiai pokyčiai sukelia smegenų ir smilkinio bei stipininės arterijų išsiplėtimą. Migreninis galvos skausmas sukliamas 8 iš 10 M0 sergančių ligonių. Jis prasideda vidutiniškai po 2,3 val., o pikas stebimas vidutiniškai po 5,5 val. Skausmas trunka ilgiau, nei vazodilatacija [278]. Panašų poveikį smegenų bei kitoms kraujagyslėms turi ir histaminas, kurio veikimo mechanizmas taip pat susijęs su NO gamybos ir išsiskyrimo padidėjimu, tačiau histamino sukliamas galvos skausmas yra intensyvesnis, neturi migrenai būdingų lydinčių reiškinių.

Nedidelės apimties migrena sergančių pacientų tyrimas bandė atsakyti į klausimą, kas periferinių arterijų tonusui turi didesnę įtaką: endotelio ar lygiųjų raumenų ląstelių funkcija [279]. Endotelio funkcijai vertinti naudotas acetilcholinas, o kaip NO donoras panaudotas lygiųjų raumenų ląsteles tiesiogiai stimuliuojantis natrio nitroprusidas. Sergantiesiems migrena neįrodytas azoto oksido išsiskyrimo sutrikimas, tačiau blogesnis vazodilatacinis atsakas į acetilcholiną ir į natrio nitroprusidą patvirtino LR ląstelių disfunkciją, t.y. sergantiesiems migrena ryškesni pakitimai turėtų būti raumeninio tipo arterijose. Tačiau minėtame tyrime dalyvavo tik M0 sergantys pacientai.

Vertindami migreninės auros koreliacijas su kraujagyslių standumu reikšmingų skirtumų tarp MA ir M0 nenustatėme (AIx  $p = 0,777$ , aortos PBG  $p = 0,137$ , stipininės arterijos PBG  $p = 0,210$ ). Tačiau po kovariacinės analizės paaiškėjo, kad migrena su aura vis dėlto yra susijusi su geresniu kraujagyslių elastingumu (aortos PBG  $p = 0,007$ ). Be to, vertindami priepuolių dažnio bei stiprumo sąsajas su kraujagyslių standumo rodikliais nustatėme, kad MA sergančioms ir dažnesnius priepuolius patiriančioms moterims būdingas mažesnis kraujagyslių standumas, t.y. mažesnis AIx/HR. Taigi, migreninė aura savo patofiziologiniu veikimu bei dažnumu turi teigiamą poveikį kraujagyslių standumui. Tačiau reikia nepamiršti, kad mūsų pacientės buvo jaunos ir neturinčios daugumos KVL rizikos veiksnių. Galbūt, ilgėjant ligos trukmei bei veikiant rizikos veiksniams, keičiasi migrenos, o ypač migrenos su aura, priepuolių poveikis arterijų elastingumui.

Apibendrinami galime teigti, kad nors statistiškai reikšmingo skirtumo tarp MA ir M0 grupių nenustatėme, tačiau auros buvimas gali turėti įtakos geresnei endotelio funkcijai bei centrinių kraujagyslių elastingumui. Diskutuoti su kitais autoriais sunku, nes tokių duomenų, atskirai vertinančių MA sergančias moteris, nėra. Tik viename tyrime (beje atliktame Lietuvoje) buvo bandoma įvertinti arterijų standumo ryšį su migrenos tipais [215]. Tyrėjai didesnę augmentacijos indeksą nustatė tarp M0 ( $p = 0,014$ ), o žasto ( $p = 0,348$ ) ir aortos PBG buvo panašūs ( $p = 0,765$ ). Autorių pritaikytas tiesinės regresijos modelis vertinant amžių lytį, ūgį, kūno masę, vidutinį AKS, rūkymą, lipidogramos rodiklius, migrenos tipą, migrenos trukmę nepatvirtino skirtumų tarp migrenos tipų.

Pastaruoju metu mikrocirkuliacijos sutrikimai pradėti vertinti lazerinės doplerometrijos būdu. Yra žinoma, kad sergantiesiems migrena yra sutrikusi autonominės nervų sistemos veikla (ANS): randama sumažėjusi noradrenalino koncentracija [280, 281], padidėjęs adrenerginių receptorių hiperjautrumas [293, 282], dažnesnės ortostatinės hipotenzijos bei sinkopės [273, 283, 284]. Šie pakitimai ryškesni dažnus priepuolius patiriantiems bei MA sergantiems asmenims, moterims labiau nei vyrams. Migrenos prodromo metu dėl SNS aktyvavimo išskiriamas noradrenalinas, kuris sukelia vazokonstrikciją. Manoma, kad užtrukusi SNS stimuliacija greitai „išsekina“ noradrenalino atsargas, o dėl to daugiau išskiriama dopamino, adenzino trifosfato, prostaglandinų bei adenzino. Šių aktyvių medžiagų poveikiui priskiriami migrenai būdingi simptomai (pykinimas, vėmimas ir kt.) bei vazodilatacija.

Viena iš hipotezių kodėl dažnas ar ilgalaikis SNS stimuliavimas migreninių priepuolių metu sukelia ne vazokonstrikciją, bet dilataciją teigia, kad tai susiję su noradrenalino nepakankamumu ir didesniu vazodilatacinių medžiagų kiekio susikaupimu sinapsėse (dopamino, adenzino, prostaglandinų) [285]. SNS tiesiogiai susijusi su trigeminaline sistema, o jų veikimas priešingas. Todėl susilpnėjus simpatinės nervų sistemos funkcijai, sumažėjus noradrenalino koncentracijai, aktyvuojama trigeminalinė sistema

[286]. Nors ANS veikla svarbi tiek endotelio, tiek lygiųjų raumenų funkcijai, bet tik smulkiųjų kraujagyslių endotelis yra tiesiogiai veikiamas ANS [287]. Tai patvirtina ir randami mikrocirkuliacijos pakitimai. Manoma, kad sergantiesiems migrena dėl padidėjusio kraujagyslių tonuso [175, 288] tinklainės arterijų, venulių bei arteriolių diametras yra mažesnis [289], todėl šiems pacientams dažniau nei sveikiems nustatoma retinopatija (OR 1,38 [95% CI, 0,96 –1,99] MA ir OR 1,49 [95% CI, 1,05–2,12] M0) [290]. Šių pakitimų ryšys stipresnis pacientams sergantiems migrena, bet neturintiems tokių svarbių rizikos faktorių kaip cukrinis diabetas ir hipertenzija (OR 1,79 [95% CI, 1,09 –2,95] MA ir OR 1,74 [95% CI, 1,11–2,71 M0]). Migrena sergančioms moterims taip pat dažniau nustatoma *livedo reticularis* (dermatopatija atsirandanti dėl padidėjusio kraujo klampumo ar dermos arterijų obstrukcijos, kuri sukelia kraujo stazę paviršinėse odos venose) [291, 292]. Be to, migrena neretai lydi kitus kraujagyslinius susirgimus: Sjogreno [293], CADASIL sindromą (autonominiu dominantiniu būdu paveldima arteriopatija) [294] bei kitus. Be to, lygiųjų raumenų proliferaciją gali skatinti iš trombocitų aktyvacijos metu išskiriamos aktyvios medžiagos.

Siekdami įvertinti mikrocirkuliacijos galimus skirtumus sveikoms ir migrena sergančioms moterims, naudojome vieną iš naujausių neinvazinių kraujagyslių tyrimų metodų - lazerinę doplerometriją, kuria pritaikėme tirdami pirštų odos mikrocirkuliaciją. Nustatėme, kad migrenos ir kontrolinėje grupėse skyrėsi ramybės kraujotaka (RF  $p = 0,019$ ) bei su ja susiję išvestiniai rodikliai (RF- BZ  $p = 0,015$ , RF- PF  $p = 0,049$ , plotas po okliuzijos kreive  $p = 0,029$ ). Pastebėtas skirtumas leidžia galvoti, kad sergantiesiems migrena smulkiųjų kraujagyslių tonusas yra padidėjęs. Nors nuo endotelio priklausantis vazodilatacinis atsakas sergančioms migrena moterims buvo blogesnis, bet statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatėme. Kovariacinės analizės duomenys parodė, kad migrena gali sukelti mikrocirkuliacijos pakitimus: pabloginti endotelio funkciją ir padidinti kraujagyslių tonusą. Tikėtino skirtumo tarp MA ir M0 neįrodėme. Abiejose grupėse stebėtas padidėjęs mikrocirkuliacijos rezistentiškumas ramybėje ir blogesnė endotelio funkcija. Įdomu tai, kad M0

prieuolių stiprumas buvo susijęs su blogesne ramybės kraujotaka ir bei su nuo jos priklausomais išvestiniais rodikliais.

Lyginti gautus rezultatus yra sunku, nes mūsų turimais duomenimis, migrena sergantiems pacientams odos mikrocirkuliacijos tyrimas pritaikant lazerinę doplerometriją atliktas tik vienas. Šiuo tyrimu iširta vos 9 pacientai sergantys M0 [217] ir skirtumų nuo kontrolinės grupės nenustatyta. Kita vertus, autoriai nurodo tik vieną iš tirtų rodiklių – ramybės kraujotaką. Be to, migrena sergančiųjų ir sveikų asmenų kraujagyslių dilatacija, provokuota acetilcholinu, natrio nitroprusidu ir su kalcitonino genu susijusio peptido (CGRP) buvo panaši. Reikėtų paminėti, kad pastaruoju metu kyla nemažai diskusijų dėl acetilcholino naudojimo vertinant odos kraujotaką [295]. Manoma, kad acetilcholino sukelta odos kraujagyslių dilatacija daugiausiai veikiama prostanooidų padidėjusio išsiskyrimo [279, 296] ir tik nedidele dalimi yra dėl NO sintetazės užslopinimo [297, 298].

Apibendrinami atliktus mikrocirkuliacijos kraujagyslių reaktyvumo tyrimus galime teigti, kad migrena sergančios jaunos ir neturinčios didelės kardiovaskulinės rizikos moterys turi blogesnę ramybės kraujotaką, joms sutrikęs vazodilatacinis atsakas ir yra blogesnė endotelio funkcija. Panašu, kad ramybės metu stebimas padidėjęs mikrokraujagyslių tonusas yra dėl kompleksinio ANS, lygiųjų raumenų, trombocitų funkcijos bei pačios migreninės auros veikimo.

Mūsų panaudotų skirtingų kraujagyslių funkcijos ir struktūros vertinimo metodų rezultatai parodė, kad sergančios migrena moterys odos mikrocirkuliacijos kraujagyslėse turi blogesnę endotelio funkciją. Tuo tarpu stambesnių periferinių arterijų nuo endotelio priklausantis vazodilatacinis atsakas buvo nesutrikęs, o žasto arterijoje MA grupėje netgi geresnis. Blogesnė odos mikrocirkuliacijos kraujagyslių endotelio funkcija galbūt lėmė ir šio baseino kraujagyslių didesnę tonusą, kuris nepriklausė nuo migrenos auros. Šie kitimai M0 grupėje koreliavo su prieuolių stiprumu, tuo tarpu MA grupėje buvo susiję su pačia liga.

#### 5.4. Trombocitų aktyvacijos, kraujagyslių reaktyvumo ir migrenos ryšys

Trombocitai ir jų sąveika su endoteliumu formuoja labai svarbius hemostazės ir kraujagyslinius atsakus. Endotelis, reaguodamas į įvairius stimulus, tarp jų gaunamus ir iš trombocitų, išskiria adhezyvinius baltymus, citokinus, o taip pat medžiagas, kurios slopina trombocitų agregaciją bei skatina fibrinolizę. Vienu svarbiausiu laikomas NO, kuris sukelia kraujagyslių lygiųjų raumenų relaksaciją, taip pat slopina trombocitų adheziją, aktyvaciją ir agregaciją. Bet kokios kilmės endotelio pažeidimas gali aktyvuoti uždegiminį procesą, skatinti ląstelių adheziją ir augimo faktorių išskyrimą, t.y. prarandamas apsauginis endotelio veikimas ir aktyvuojama ląstelinė hemostazė. Savo ruožtu aktyvuoti trombocitai į kraujotaką išskiria  $\alpha$  ir tankių granulių turinį: NO, serotoniną, tromboksaną ir kt. Jos veikia endotelį bei kitas kraujo ląsteles (tarp jų ir kitus aktyvinimo proceso nepalietus trombocitus). Kita vertus, šis poveikis ir tarpusavio atsakai nėra vienalyčiai, pavyzdžiui, serotoninas vazokonstriktiškai veikia stambias arterijas ir venas, o tuo tarpu smulkias - vazodilatatoriškai.

Apie endotelio funkcijos svarbą aterosklerozės patogenezai kalbama jau seniai [299, 300]. Yra daug darbų įrodančių abipusę kraujagyslių ir kraujo tarpusavio sąveiką [301, 302, 303]. Padidėjęs trombocitų funkcinis aktyvumas dažnai siejamas su sunkia hipertenzine liga [304], ūmiais koronariniiais sindromais [305], lėtiniu širdies nepakankamumu [306], cukriniu diabetu [307], smegenų išemine liga [308, 309, 310]. Manoma, kad trombocitų funkcinio aktyvumo pakitimų nustatymas galėtų pasitarnauti diagnozuojant ankstyvos generalizuotos aterosklerozės vystymosi pradžią. Pastaraisiais metais jautriausiu trombocitų aktyvacijos *in vivo* požymiu laikomas trombocitų - monocitų agregatų kiekis [142], o taip pat trombocitų agregacinio potencialo bei išlaisvinimo reakcijos įvertinimas.

Tėkmės citometrijos metodu įvertinę trombocitų funkciją ir keturiais tyrimo metodais nustatę kraujagyslių funkcijos sutrikimus, atlikome šių pokyčių koreliacijas ne tik migrenos, bet skirtingomis migrenos



klinikinėmis formomis sergančiųjų grupėse. Deja, reikšmingų korelacijų nustatėme nedaug. Tirtose grupėse išsiskyrė kraujagysliniai kintamieji, tačiau daugiausia jų buvo susiję su trombocitų - monocitų agregatų susidarymu. Bendroje migrenos grupėje trombocitų - monocitų agregatų skaičius tiesiogiai koreliavo su mažesne išemijos sukelta mikrocirkuliacijos talpa ir atvirkščiai su endotelio funkcija smulkiosiose kraujagyslėse atspindinčiu reakcinės hiperemijos indeksu (RHI). Deja, bendroje migrenos grupėje nenustatėme jokių patikimų korelacinių ryšių tarp trombocitų aktyvumo rodiklių bei stambiųjų periferinių kraujagyslių standumo ir endotelio funkcijos sutrikimų.

Vertindami migrenos auros poveikį korelaciniais ryšiais nustatėme, kad MA grupėje trombocitų - monocitų agregatų skaičius tiesiogiai koreliavo su išemijos sukelta mikrocirkuliacijos talpa. Svarbu paminėti, kad tai buvo vienintelė korelacija tarp kraujagyslių reaktyvumo bei trombocitų aktyvumo parametrų sergančiosioms MA. Kita vertus, tarp M0 sergančiųjų mažesnis trombocitų – monocitų agregatų skaičius buvo akivaizdžiai susijęs su didesniu koreguotu augmentacijos indeksu (atspindinčiu mažėjantį aortos elastingumą), o taip pat su geresne smulkiųjų (RHI) bei mikrocirkuliacijos kraujagyslių endotelio funkcija (laikas iki RF). Be to, šioms pacientėms mikrocirkuliacijos endotelio funkcija (laikas iki RF) atvirkščiai koreliavo su agregaciniu trombocitų aktyvumu.

Literatūroje nepavyko aptikti darbų, kuriuose migrena sergančiųjų trombocitų funkcinį aktyvumą ir jų sąveikas su įvairaus diametro kraujagyslių funkcijos sutrikimais vertintų panašiomis metodikomis. Be to, dar mažiau atlikta darbų, kuriuose būtų išskirtos MA ir M0 grupės. Publikuota daug įrodymų apie išemijos, hipercholesterolemijos, cukrinio diabeto, hipertenzijos poveikį endotelio funkcijai ir šių sutrikimų sąveiką su trombocitų funkcinio aktyvumo kitimais. Didžiausia endotelio ir kraujo ląstelių sąveika įrodyta smulkiosiose kraujagyslėse, o ypač postkapiliarinėse venulėse. Tai galima paaiškinti endotelio išskiriamo NO poveikiu trombocitams. NO ir deguonis reaguodami su tioliais sudaro S-nitrosotiolį [311], kuris vadinamas stabilium azoto oksido rezervuaru. Taip pat ir trombocitai gali kaupti S-nitrosotiolį,

išskirdami į kraujotaką tarpląstelinės sąveikos metu [312]. Šis azoto oksido junginys gali veikti panašiai kaip N-acetil-L-cisteinas, t.y. stiprinti endotelio išskiriamo NO antitrombocitinį veikimą: slopinama P-selektino bei CD63 ekspresija, komplekso IIb/IIIa transformacija [313], todėl mažiau turėtų formuotis trombocitinių mikroagregatų. Tai patvirtino ir mūsų sveikoms moterims nustatyta tiesioginė koreliacija tarp trombocitų – monocitų agregatų bei žasto arterijos endotelio funkcijos. Tačiau ši sąveika būdinga nepažeistam endoteliui. Dėl įvairių priežasčių sutrikus endotelio funkcijai, kraujyje daugėja biologiškai aktyvių medžiagų, pavyzdžiui vWF, kuris yra vienas iš svarbiausių trombocitus aktyvuojančių veiksnių. Dėl to daugiau susidaro mikroagregatų, kurie savo ruožtu, neigiamai veikia endotelį [314], be to, jų kiekis tiesiogiai koreliuoja su didesniu arterijų standumu (PBG) [315]. Kita vertus, dėl progresuojančios aterosklerozės didėjant kraujagyslių standumui, didėja kraujo tėkmės greitis, didėja šlyties jėgos, veikiančios endotelį, o taip pat ir trombocitus, sukeldamos jų aktyvaciją. Be to, patys trombocitai gali didinti arterijų standumą išskirdami tromboksaną A<sub>2</sub>, lygiųjų raumenų augimo faktorių [316]. Mažėjant kraujagyslių elastingumui nustatomas didėjantis trombocitų agregacinis ir degranuliacinis aktyvumas [317]. Eksperimentinių tyrimų rezultatai įrodė, kad šie trombocitų aktyvumo pokyčiai svarbūs progresuojant aterosklerozei [318, 319].

Mūsų tyrime migrena, ir ypač MA, sergančioms moterims trombocitų - monocitų agregatų nustatėme mažiau nei sveikoms. Be to, M0 grupėje jų kiekis atvirkščiai koreliavo su galvos skausmo priepuolių dažniu. Tai patvirtina prielaidą, kad trombocitai, aktyvuoti migrenos priepuolio metu, tarp priepuolių nors labai gerai kaupia ant savo paviršiaus agregacijos ir degranuliacijos antikūnus, tačiau dėl buvusio priepuolio dalinai yra „išsekę“ ir nebesuformuoja didesnio trombocitų monocitų agregatų kiekio.

Išanalizavę gautus rezultatus, galime teigti, kad migrena sergančioms moterims stebimas padidėjęs trombocitų funkcinis aktyvumas periode tarp priepuolių, ir jis yra susijęs su kraujagyslių reaktyvumo kitimais. Šis ryšys patikimai skiriasi nuo sveikų moterų, ypač M0 grupėje. Kita vertus

skirtingo ženklo koreliacijos M0 ir MA sergančioms moterims tarp tų pačių kintamųjų skatina ieškoti išskirtinio auros poveikio. Todėl reikia didesnės apimties tyrimų, kurie įvertintų kraujagyslių standumo poveikį trombocitų aktyvumui bei trombocitų - monocitų agregatų susidarymui tiek sveikiems, tiek migrena sergantiems asmenims.

## IŠVADOS

1. Sergančioms migrena be auros moterims nustatytas ne tik didesnis sistolinis ir diastolinis arterinis kraujo spaudimas, bet ir hipodinamija. Kiti širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksniai tarp sergančiųjų migrena be auros ir migrena su aura nesiskyrė.
2. Neįrodytos serumo amiloido A ir C reaktyvaus baltymo sąsajos nei su migrenos pasireiškimo tipais, nei su trombocitų funkcinio aktyvumo kitimais, nei su įvairaus diametro periferinių kraujagyslių standumo ar endotelio funkcijos sutrikimais.
3. Sergančiosioms migrena tarp priepuolių rastas padidėjęs trombocitų funkcinis aktyvumas: didesnis skaičius trombocitų paviršiuje turėjo ekspresuotus agregacijos ir degranuliacijos antikūnus, tačiau vidutinis šių ekspresuotų antikūnų fluorescencinis intensyvumas buvo mažesnis ir jam įtakos neturėjo kiti širdies ir kraujagyslių rizikos veiksniai.
4. Nustatytas trombocitų aktyvumo ryšys su migrenos klinikine pasireiškimo forma: migrenos be auros grupėje didesnis trombocitų skaičių turėjo degranuliacijos antikūną, o migrenos su aura grupėje susidarė mažiau trombocitų monocitų agregatų.
5. Migrenos priepuolių dažnis ir intensyvumas veikė trombocitų funkciją ir priklausė nuo auros: migrenos be auros priepuolių dažnis atvirkščiai koreliavo su trombocitų monocitų agregatų skaičiumi ir tiesiogiai su vidutiniu agregacijos antikūnų fluorescenciniu švytėjimu.
6. Migrena sergančioms moterims endotelio funkcija buvo sutrikusi tik mikrocirkuliacijoje, tuo tarpu tiek stambiosiose, tiek smulkiosiose kraujagyslėse sutrikusi nebuvo.
7. Migrenos skirtingos klinikinės pasireiškimo formos skirtingai veikė periferines kraujagysles: tarp priepuolių nustatyta geresnė endotelio funkcija migrenos su aura grupėje, t.y. didesnė tėkmės sąlygota dilatacija.

8. Trombocitų funkcijos sutrikimai veikia migrena sergančiųjų periferinių kraujagyslių funkciją: nustatytas susidarančių trombocitų monocitų agregatų tiesioginis ryšys su išemijos sukeltais mikrocirkuliacijos talpos kitimais ir atvirkštinis ryšys su endotelio funkcija smulkiosiose periferinėse kraujagyslėse.
9. Migrenos aura yra svarbi koreliaciniams tirtų kintamųjų ryšiams: migrenos be auros grupėje stebėtas atvirkštinis ryšys tarp trombocitų - monocitų agregatų skaičiaus ir arterijų standumo bei endotelio funkcijos smulkiosiose periferinėse arterijose, o migrena su aura sergančiosioms trombocitų agregatų skaičius tiesiogiai koreliavo su išemijos sukeltais mikrocirkuliacijos talpos kitimais.

## **PRAKTINĖS IŠVADOS**

Atliktas darbas yra ne mokslo praktikos, bet mokslo teorijos taikomosios pakraipos, todėl praktikinė klinikinė nauda nėra labai didelė. Kita vertus, migrena sergančiosioms atlikti kompleksiniai trombocitų funkcijos bei periferinių kraujagyslių tyrimai parodė, kad tarp priepuolių išsilaiko pokyčiai, turintys ryšį ne tik su priepuolių dažnumu, jų stiprumu, bet ir priklauso nuo auros buvimo. Sunku atsakyti, ar tai priepuolio pasekmė, ar tiesiog siejasi su migrenos kaip ligos ypatumais. Todėl būtina tolimesnė šio darbo tąsa, kuri leistų įvertinti trombocitų funkcinio aktyvumo kitimus ir sąveikas su periferinėmis kraujagyslėmis ūmaus migrenos priepuolio metu. Kompleksinis kitimų dinamikos palyginimas padėtų geriau suprasti, kodėl migrena su aura sukelia padidintą širdies ir kraujagyslinių komplikacijų riziką. Tuomet galbūt atsirastų ir galimybė pacientams, sergantiems skirtingomis migrenos klinikinio pasireiškimo formomis, nustatyti adekvačias profilaktinio gydymo schemas.

## **DISERTACIJOS TEMA PASKELBTŲ DARBŲ SĄRAŠAS**

1. A. Marcijonienė, V. Šapoka, R. Matuzevičienė, A. Janiulionienė. Funkcinio trombocitų aktyvumo ypatumai sergant migrena. Sveikatos mokslai 2010;5:3555-3562 (Index Copernicus).
2. A. Marcijonienė, V. Šapoka, L. Ryliškytė. Migrena ir endotelio funkcijos pokyčiai. Lietuvos bendrosios praktikos gydytojas 2010;(tomas XIV)6:435-438 (Index Copernicus).

## LITERATŪRA

---

1. Kurth T, Slomke MA, Kase CS, Cook NR, Lee IM, Gaziano JM et al. Migraine, headache, and the risk of stroke in women: a prospective study. *Neurology* 2005;64:1020–6.
2. Stang PE, Carson AP, Rose KM, Mo J, Ephross SA, Shahar E, Szklo M. Headache, cerebrovascular symptoms, and stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Neurology* 2005;64:1573–7.
3. Takeshima T, Ishiazi K, Fukuhura Y, et al. Population-based door-to-door survey of migraine in Japan: the Daisen study. *Headache* 2004;44:8-19.
4. Sakai F, Igarashi H: Prevalence of migraine in Japan: a nationwide survey. *Cephalalgia* 1997;17:15–22.
5. Lipton RB, Bigal ME. The epidemiology of migraine. *Am J Med* 2005;118:S3-10.
6. MacClellan LR, Giles WH, Cole J et al. Probable migraine with visual aura and risk of ischemic stroke: The Stroke Prevention in Young Women Study. *Stroke* 2007;38:2438-2445.
7. Etminan M, Takkouche B, Isorna FC, Samii A. Risk of ischaemic stroke in people with migraine: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Br Med J* 2005;30:63–5.
8. Kurth T, Gaziano JM, Cook N et al. Migraine and risk of cardiovascular disease in men. *Arch Intern Med* 2007;167:795–801.
9. Becker C, Brobert GP, Almqvist PerM et al. Migraine and the Risk of Stroke, TIA, or Death in the UK. *Headache* 2007;47:1374-1384.
10. Mosek A, Marom R, Korczyn AD, Bornstein N. A history of migraine is not a risk factor to develop an ischemic stroke in the elderly. *Headache* 2001;41:399–401.
11. Scher AI, Terwindt GM, Peavet HSJ, et al. Cardiovascular risk factors and migraine. The GEM population-based study. *Neurology* 2005;64:614–20.
12. Lafitte C, Even C, Henry-Lebras F, de Toffol B, Autret A. Migraine and angina pectoris by coronary artery spasm. *Headache* 1996;36:332-334.



- 
13. Uyarel H, Erden I, Cam N. Acute migraine attack, angina-like chest pain with documented ST segment elevation and slow coronary flow. *Acta Cardiol* 2005;60:221-223.
  14. Kurth T, Gaziano JM, Cook NR et al. Migraine and risk of cardiovascular disease in women. *JAMA* 2006;296:283–91.
  15. Bigal ME, Kurth T, Santanello N, Buse D, Golden W, Robbins M, Lipton RB. Migraine and cardiovascular disease. A population-based study. *Neurology* 2010;74:628–635.
  16. Moskowitz MA. Pathophysiology of headache – past and present. *Headache* 2007;47 (Suppl. 1):S58–S63.
  17. Cao Y, Welch KM, Aurora S, Vikingstad EM. Functional MRIBOLD of visually triggered headache in patients with migraine. *Arch Neurol* 1999;56:548–54.
  18. Bolay H, Reuter U, Dunn AK, et al. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in migraine model. *Nat Med* 2002;8(2):136–42.
  19. D’Andrea G, Cananzi AR, Perini F, Hasselmark L. Platelet models and their possible usefulness in the study of migraine pathogenesis. *Cephalalgia* 1995;15:265–271.
  20. Pearson TA, Mensah GA, Hong Y and Smith SC et al. Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: A Statement for Healthcare Professionals From The Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499-511.
  21. Flower L, Ahuja RH, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Effects of sample handling on the stability of interleukin 6, tumour necrosis factor-alpha and leptin. *Cytokine* 2000;12:1712– 1716.
  22. Maier SF, Wiertelak FP, Martin D, Watkins LR. Interleukin-1 mediates behavioral hyperalgesia produced by lithium chloride and endotoxin. *Brain Res* 1993;623:321-324.

- 
23. Jeanjean AP, Moussaoui SM, Maloteaux JM, Laduron PM. Interleukin-1 beta induces long- term increase of axonally transported opiate receptors and substance P. *Neuroscience* 1995;68:151-157.
  24. Cunha FQ, Poole S, Lorenzetti BB, Ferreira SH. The pivotal role of tumour necrosis factor alpha in the *Headache* 931 development of inflammatory hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 1992;107:660-664.
  25. Wagner R, Myers RR. Endoneurial injection of TNFalpha produces neuropathic pain behaviors. *Neuroreport* 1996;7:2897-2901.
  26. Vale ML, Marques JB, Moreira CA, et al. Antinociceptive effects of interleukin-4, -10, and -13 on the writhing response in mice and zymosan-induced knee joint incapacitation in rats. *J. Pharmacol Exp Ther* 2003;304:102-108.
  27. Yao MZ, Gu JF, Wang JH, et al. Interleukin-2 gene therapy of chronic neuropathic pain. *Neuroscience* 2002;112:409-416.
  28. Brain SD. Sensory neuropeptides: their role in inflammation and wound healing. *Immunopharmacology* 1997;37:133-152.
  29. Fox FE, Kubin M, Cassin M et al. Calcitonin gene-related peptide inhibits proliferation and antigen presentation by human peripheral blood mononuclear cells: effects on B7, interleukin 10, and interleukin 12. *J Invest Dermatol* 1997;108:43-48.
  30. Cuesta MC, Quintero L, Pons H, Suarez-Roca H. Substance P and calcitonin gene-related peptide increase IL-1 beta, IL-6 and TNF alpha secretion from human peripheral blood mononuclear cells. *Neurochem Int* 2002;40:301-306.
  31. Sarchielli P, Alberti A, Codini M, Floridi A, Gallai V. Nitric oxide metabolites, prostaglandins and trigeminal vasoactive peptides in internal jugular vein blood during spontaneous migraine attacks. *Cephalalgia* 2000;20:907-918.

- 
32. Lassen LH, Jacobsen VB, Petersen P, Sperling B, Iversen HK, Olesen J. Human calcitonin gene-related peptide (hCGRP)- induced headache in migraineurs. *Eur J Neurol* 1998;5 (Suppl. 3):S63.
  33. Reuter U, Bolay H, Jansen-Olesen I, et al. Delayed inflammation in rat meninges: Implications for migraine pathophysiology. *Brain* 2001;124:2490-2502.
  34. Kemper RH, Meijler WJ, Korf J, Ter Horst GJ. Migraine and function of the immune system: a Metaanalysis of clinical literature published between 1966 and 1999. *Cephalalgia* 2001;21:549-557.
  35. Empl M, Sostak P, Riedel M, et al. Decreased sTNFRI in migraine patients? *Cephalalgia* 2003;23:55-58.
  36. Sarchielli P, Alberti A, Baldi A, Coppola F, Rossi C, Pierguidi L, et al. Proinflammatory cytokines, adhesion molecules, and lymphocyte integrin expression in the internal jugular blood of migraine patients without aura assessed ictally. *Headache* 2006;46:200–7.
  37. Perini F, Giovanni D'Andrea. Plasma Cytokine Levels in Migraineurs and Controls. *Headache* 2005;45:926-931.
  38. Gallai V, Sarchielli P, Floridi A, Franceschini M, Trequattrini A, Firenze C. Monocyte function in migraine patients with and without aura. *Headache* 1994; 5:214-227.
  39. Collaborative Group for the Study of Stroke in Young Women. Oral contraceptives and stroke in young women. *JAMA* 1975;231:718-22.
  40. Marini C, Carolei A, Roberts RS, Prencipe M, Gandolfo C, Inzitari D, et al. Focal cerebral ischemia in young adults: a collaborative case-control study. *Neuroepidemiology* 1993;12:70- 81.
  41. Mueller L, Gupta AK, Stein TP. Deficiency of tumor necrosis factor alpha in a subclass of menstrual migraineurs. *Headache* 2001;41:129-137.
  42. Munno I, Marinaro M, Bassi A, Cassiano MA, Causarano V, Centonze V. Immunological aspects in migraine: increase of IL-10 plasma levels during attack. *Headache* 2001;41:764-767.

- 
43. Martelletti P, Stirparo G, Morrone S, Rinaldi C, Giacobuzzo M. Inhibition of intercellular Adhesion molecule-1 (ICAM-1), soluble ICAM-1 and interleukin-4 by nitric oxide expression in migraine patients. *J Mol Med* 1997;5:448-453.
44. Ghaisas NK, Shahi CN, Foley B, Goggins M, Crean P, Kelly A, Kelleher D, Walsh M. Elevated levels of circulating soluble adhesion molecules in peripheral blood of patients with unstable angina. *Am J Cardiol* 1997;80:617.
45. Blann AD, McCollum CN. Increased levels of soluble adhesion molecules in atherosclerosis. *Thromb Haemostas* 1994;72:151-154.
46. Bongard V, Elias A, Bal dit Sollier C, Ruidavets JB, Boccalon H, Drouet L, Ferrieres J. Soluble intercellular adhesion molecule-1 is associated with carotid and femoral atherosclerosis but not with intima-media thickness in a population-based sample. *Atherosclerosis* 2002;164:297.
47. Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule-1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998;351:88.
48. Haim M, Tanne D, Boyko V, Reshef T, Goldbourt U, Leor J, Mekori YA, Behar S. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and long-term risk of acute coronary events in patients with chronic coronary heart disease. Data from the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) Study. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1133.
49. Miwa K, Igawa A, Inoue H. Soluble E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 in systemic and coronary circulation in patients with variant angina. *Cardiovasc Res* 1997;36:37-44.
50. Blann AD, Seigneur M, Steiner M, et al. Circulating ICAM-1 and VCAM-1 in peripheral artery disease and hypercholesterolaemia: relationship to the location of atherosclerotic disease, smoking, and in the prediction of adverse events. *Thromb Haemostas* 1998;79:1080-1085.

- 
51. Blann AD, Arniral J, McCollum CN. Soluble endothelial cell markers and adhesion molecules in ischaemic heart disease. *Br J Haematol* 1996;95:263-265.
  52. Blann AD, Faragher EB, McCollum CN. Increased soluble P-selectin in ischaemic heart disease: a new marker for the progression of atherosclerosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1997;8:383-390.
  53. Nattero G, De Micheli C, Mengozzi G. Nitric oxide and adhesion molecule profiles during the migraine attack. *Cephalalgia* 2002;22:573.
  54. Di Napoli M, Schwaninger M et al. Evaluation of C-reactive protein measurement for assessing the risk and prognosis in ischemic stroke: a statement for health care professionals from the CRP Pooling Project members. *Stroke* 2005; 36:1316–29.
  55. Bolay H, Reuter U, Dunn AK, et al. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in migraine model. *Nat Med* 2002;8(2):136–42.
  56. Welch KM, Brandes AW, Salerno L, Brandes JL. C-reactive protein may be increased in migraine patients who present with complex clinical features. *Headache* 2006; 46:197–9.
  57. Vanmolkot FH and de Hoon JN. Increased C-reactive protein in young adult patients with Migraine. *Cephalalgia* 2007;27:843-846.
  58. Ferrari MD, Launer LJ. Cardiovascular risk factors and migraine: the GEM population-based study. *Neurology* 2005;64:614–20.
  59. Kurth T, Ridker PM, Buring JE. Migraine and biomarkers of cardiovascular disease in women. *Cephalalgia* 2008; 28:49–56.
  60. Gudmundsson LS, Aspelund T, Scher AI, Thorgeirsson G, Johannsson M, Launer LJ, Gudnason V. C-reactive protein in migraine sufferers similar to that of non-migraineurs: the Reykjavik Study. *Cephalalgia* 2009;29 (12):1301-1310.
  61. Tietjen GE, Nabeel AH, MD et al. Migraine and Biomarkers of Endothelial Activation in Young Women. *Stroke* 2009;40:00-00.

- 
62. Heinrich J, Assmann G. Fibrinogen and cardiovascular risk. *J Cardiovasc Risk* 1995;2:197–205.
63. Intisoa D, Di Rienzo F et al. Brain MRI white matter lesions in migraine patients: is there a relationship with antiphospholipid antibodies and coagulation parameters? *European Journal of Neurology* 2006;13:1364–1369.
64. Pilarska E, Lemka M, Bałkowska A. Prothrombotic risk factors in ischemic stroke and migraine in children. *Acta Neurol Scand* 2006;114:13–16.
65. Bianchi A, Pitari et al. Endothelial, haemostatic and haemorheological modifications in migraineurs. *Artery* 1996;22:93–100.
66. Salobir B, Ši abović M, Peternel P, Stegnar M, Grad A. Classic risk factors, hypercoagulability and migraine in young women with cerebral lacunar infarctions. *Acta Neurol Scand* 2002;105:189-195.
67. Uhlar CM, Whitehead AS. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem* 1999;265:501–523.
68. Downton SB, Peters CN, Jestus JJ. Regulation of serum amyloid A gene expression in syrian hamsters by cytokines. *Inflammation* 1991;15:391-7.
69. Pussinen PJ, Malle E, Metso J, et al. Acute-phase HDL in phospholipid transfer protein (PLTP)-mediated HDL conversion. *Atherosclerosis* 2001;155:297–305.
70. Marhaugh G, Sletten K, Husby G. Characterization of amyloid related protein SAA complexed with serum lipoproteins (apoSAA). *Clin Exp Immunol* 1982;50:382–389.
71. Artl A, Marsche G, Lestavel S, et al. Role of serum amyloid A during metabolism of acute-phase HDL by macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:763–772.
72. Van Lenten BJ, Hama SY, deBeer FC, Stafforini DM, et al. Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response: loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures. *J Clin Invest* 1995;96:2758 –2767.

- 
73. Meek RL, Urieli-Shoval S, Benditt EP. Expression of apolipoprotein serum amyloid A mRNA in human atherosclerotic lesions and cultured vascular cells. Implications for serum amyloid A function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:3186-3190.
74. Maier W, Altwegg LA, Corti R, Gay S, et al. Inflammatory markers at the site of ruptured plaque in acute myocardial infarction: locally increased interleukin-6 and serum amyloid A but decreased C-reactive protein. *Circulation* 2005;111: 1355–1361.
75. Zimlichman S, Danon A, Nathan I, Mozes G, Shainkin-Kestenbaum R. Serum amyloid A, an acute phase protein, inhibits platelet activation. *J Lab Clin Med* 1990;116:180-186.
76. Mullan RH, Bresnihan B, Golden-Mason L, Markham T, O'Hara et al. Acute-phase serum amyloid A stimulation of angiogenesis, leukocyte recruitment, and matrix degradation in rheumatoid arthritis through an NF-kappaB-dependent signal transduction pathway. *Arthritis Rheum* 2006;54:105–114.
77. Zhao Y, Zhou S, Heng CK. Impact of Serum Amyloid A on Tissue Factor and Tissue Factor Pathway Inhibitor Expression and Activity in Endothelial Cells. *Thromb Vasc Biol* 2007;27:1645-1650.
78. Danesh J, Whincup P, Walker M, et al. Low grade inflammation and coronary heart disease:prospective study and updated meta-analyses. *BMJ* 2000;321:199–204.
79. Morrow DA, Rifai N, Antman EM, et al. Serum amyloid A predicts early mortality in acute coronary syndromes: a TIMI 11A substudy. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:358–362.
80. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB, Maseri A. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994;331:417–424.
81. Johnson BD, Kip KE, Marroquin OC, Ridker PM, Kelsey SF, Shaw LJ et al. National Heart, Lung, and Blood Institute. Serum amyloid A as a predictor



---

of coronary artery disease and cardiovascular outcome in women: the National Heart, Lung, and Blood Institute-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). *Circulation* 2004;109:726–732.

82. Hżeczka J, Stelmasiak Z. Prognostic importance of monitoring serum Amyloid A Protein (SAA) in Patients with cerebral Infarction. *Acta clin Croat* 2000; 39:139-146.

83. Lewis KE, Kirk EA, McDonald TO, Wang S, Wight TN, O'Brien KD, Chait A. Increase in serum amyloid a evoked by dietary cholesterol is associated with increased atherosclerosis in mice. *Circulation* 2004;110:540–545.

84. Tannock LR, O'Brien KD, Knopp RH, Retzlaff B, Fish B, Wener MH, Kahn SE, Chait A. Cholesterol feeding increases C-reactive protein and serum amyloid A levels in lean insulin- sensitive subjects. *Circulation* 2005;111:3058–3062.

85. Leinonen, E., E. Hurt-Camejo, O. Wiklund, L. M. Hulten, A. Hiukka, and M. R. Taskinen. Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2003;166:387–394.

86. Ebeling P, Teppo AM, Koistinen HA, Viikari J, et al. Troglitazone reduces hyperglycaemia and selectively acute phase serum proteins in patients with type II diabetes. *Diabetologia* 1999;42:1433–1438.

87. Mezaki T, Matsubara T, Hori T et al. Plasma Levels of Soluble Thrombomodulin, C-reactive Protein, and Serum Amyloid A Protein in the Atherosclerotic Coronary Circulation. *Jpn Heart J* 2003;44:601-612.

88. Libby P. Changing concepts of atherogenesis. *J Intern Med.* 2000;247:349–58.

89. Koyama H, Maeno T, Fukumoto S, Shoji T, Yamane T, Yokoyama H, Emoto M, Shoji T, Tahara H, Inaba M, Hino M, Shioi A, Miki T, Nishizawa Y. Platelet P-selectin expression is associated with atherosclerotic wall thickness in carotid artery in humans. *Circulation* 2003; 108:524–9.

- 
90. Shoji T, Koyama H, Fukumoto S, Maeno T, Yokoyama H, Shinohara K, Emoto M, Shoji T, Yamane T, Hino M, Shioi A, Nishizawa Y. Platelet activation is associated with hypoadiponectinemia and carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2006;188:190–5.
91. Furman MI, Barnard MR, Krueger LA, Fox ML, Shilale EA, Lessard DM, Marchese P, Frelinger AL, Goldberg RJ, Michelson AD. Circulating monocyte-platelet aggregates are an early marker of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1002–6.
92. Humphrey PP. A. 5-Hydroxytryptamine and the pathophysiology of migraine. *J Neurol* 1992;238:S38-S44.
93. Hanington E, Jones RJ, Amess JA, Wachowicz B. Migraine: a platelet disorder. *Lancet* 1981;2(8249):720-3.
94. Couch JR, Hassanein RS. Platelet aggregability in migraine. *Neurology* 1977; 27:843-8.
95. Manotti C, Quintavala R, Manzoni GC. Platelet activation in migraine. *Thromb Haemost* 1983;50:758.
96. Kruglak L, Nathan I, Korczyn AD, Zolotov Z, Berginer V, Dvilansky A. Platelet aggregability, disaggregability and serotonin uptake in migraine. *Cephalalgia* 1984; 4:221-5.
97. Kovacs K, Herman F, Filep J, Jelencsik I, Magyar K, Csanda E. Platelet aggregation of migraineurs during and between attacks. *Cephalalgia* 1990; 10:161-5.
98. Hilton BP, Cumings JN. 5-hydroxytryptamine levels and platelet aggregation responses in subjects with acute migraine headache. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1972; 35:505-9.
99. Hanington E, Jones RJ, Amess JA. Platelet aggregation in response to 5-HT in migraine patients taking oral contraceptives (letter). *Lancet* 1982;I:967-8.
100. Jones RJ, Forsythe AM, Amess JAL. Platelet aggregation in migraine patients during the headache-free interval. *Adv Neurol* 1982;33:275-8.

- 
101. Lechner H, Ott E, Fazekas F, Pilger E. Evidence of enhanced platelet aggregation and platelet sensitivity in migraine patients. *Cephalalgia* 1985;5 (Suppl. 2):89-91.
  102. Rajiv J, Welch KMA, D'AndreÂa G, Levine SR. Sensitivity to PAF is increased in migraine patients (letter). *Thromb Haemost* 1987;57:125.
  103. Deshmukh SV, Meyer JS. Cyclic changes in platelet dynamics and the pathogenesis and prophylaxis of migraine. *Headache* 1977;22:207-12.
  104. Kalendovsky Z, Austin JH. 'Complicated migraine', its association with increase plateletggregability and abnormal plasma coagulation factors. *Headache* 1975;15:18-35.
  105. Winther K, Hedman C, Knudsen JB, Vivr-Larsen J. Platelet adrenoreceptor function in migraine patients. *Cephalalgia* 1985;5 (Suppl. 3):112-3.
  106. Hanin B, Bousser MG, Olesen J, Vergaftig BB, Jensen K, Jacobson B. Platelet aggregation study in migraine patients between and during attacks. *Cephalalgia* 1985;5 (Suppl. 3):398-9.
  107. D'Andrea G, Welch KMA, Alecci M, Hasselmark L, Cananzi AR, Ferro Milone F. Different profiles of platelet granule secretion in migraine with aura and without aura. *Cephalalgia* 1993;13 (Suppl.):80.
  108. Hedman C, Winther K, Knudsen JB. Platelet function in classic migraine during attack-free periods. *Acta Neurol Scand* 1988;78:271-7.
  109. Kozubski W, Stanczyk L. Platelet aggregation in patients with migraine during pain attack and without pain. *Neur Neurochir Pol* 1985;19:302-7.
  110. Kozubski W, Walkowiak B, Cierniewski CS, Prusinski A. Platelet fibrinogen receptors in migraine patients. *Headache* 1987;27:431.
  111. Pawlowska Z, Kozubski W, Walkowiak B, Cierniewski CS. Increased platelet glycoprotein IIb reflects an abnormality of the platelet membrane in migraine. *Headache* 1988;26:1-60.
  112. Oxman TE, Hitzemann RJ, Smith R. Platelet membrane lipid composition and the frequency of migraine. *Headache* 1982;22:261-7.

- 
113. Shifman FD. Patofiziologija krovi. Moskva: Binom; 2000.
114. LY HQ, Kirtane AJ, Murphy SA, Buros J, Cannon CP, Braunwald E et al. Association of platelet count on presentation and clinical outcomes in ST-elevated myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2006;98(1):1-5.
115. Kamath S, Blann AD, Lip GY. Platelet activation: assessment and quantification. *Eur Heart J* 2001;22:1561–71.
116. Rand ML, Lcung R, Packham MA. Platelet function assays. *Transfus Apher Sci* 2003;28:3017.
117. Harison P. Platelet function analysis. *Blood Reviews* 2004.
118. Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, Taite BB, Szalony JA, Page JD et al. Assesment of platelet function assays. *Am Heart J* 1988;135:170-8.
119. Puig-Parellada P, Planas JM, Gimenez J, et al. Plasma and saliva levels of PGI2 and TXA2 in the headache-free period of classical migraine patients. The effects of nicardipine. *Headache* 1991;31:156–8.
120. Tietjen GE, Al Qasmi MM, Athanas K, Dafer RM, Khuder SA. Increased von Willebrand factor in migraine. *Neurology* 2001;57(2):334–6.
121. Gawel MJ, Burkett M, Rose FC. The platelet release reaction during migraine attacks. *Headache* 1979;19:323-7.
122. Peatfield RC. Can transient ischaemic attacks and classical migraine always be distinguished? *Headache* 1987;27:240-243.
123. Ferrari MD, Saxena PR. On serotonin and migraine: a clinical and pharmacological review. *Cephalalgia* 1993;13:151–65.
124. Humphrey PPA. 5-Hydroxytryptamine and the pathophysiology of migraine. *J Neurol* 1991; 238:S38–S44.
125. Panconesi A. Serotonin and migraine: a reconsideration of the central theory. *J Headache Pain* 2008;9:267–276.
126. Sarchielli P, Alberti A, Coppola F, Baldi A, Gallai B, Floridi Ar, Floridi Al, Capocchi G, Gallai V. Platelet-activating factor (PAF) in internal jugular venous blood of migraine without aura patients assessed during migraine attacks. *Cephalalgia* 2004;24:623–630.

- 
127. Yan GT, Wang LH, Xin H, Li ZJ. Effect of calcium overload and platelet activating factor on calcitonin gene related peptide release from lung tissue. *Sheng Li Xue Bao* 1998;50:94–100.
128. Duran WN, Seyama A, Yoshimura K, Gonzalez DR, Jara PI, Figueroa XF et al. Stimulation of NO production and of eNOS phosphorylation in the microcirculation in vivo. *Microvasc Res* 2000;60:104–11.
129. Zhou Q, Hellermann GR, Solomonson LP. Nitric oxide release from resting human platelets. *Thromb Res* 1995;77:87–96.
130. Malinski T, Radon*&*i MW, Taha Z, Moncada S. Direct electrochemical measurement of nitric oxide released from human platelets. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;194:960–965.
131. Shimomura T, Murakami F, Kotani K, Ikawa S, Kono S. Platelet nitric oxide metabolites in migraine. *Cephalalgia* 1999;19:218-222.
132. Gallai V, Floridi A, Mazzotta G, Codini M, Tognoloni M, Vulcano MR, et al. L-arginine/nitric oxide pathway activation in platelets of migraine patients with and without aura. *Acta Neurol Scand* 1996;94:151- 60.
133. Yilmaz G, Surer H, Inan LE, Coskun O, Yucel D. Increased nitrosative and oxidative stress in platelets in migraine patients. *Tohoku J Exp. Med* 2007;211:23-30.
134. Shattil S J, Hoxie JA, Cunningham M and Brass LF. Changes in the platelet membrane glycoprotein IIb.IIIa complex during platelet activation. *J. Biol. Chem* 1985; 260, 11107–11114.
135. Nieuwenhuis HK, van Oosterhout JJ, Rozemuller E, van Iwaarden F, Sixma JJ. Studies with a monoclonal antibody against activated platelets: evidence that a secreted 53,000-molecular weight lysosome-like granule protein is exposed on the surface of activated platelets in the circulation. *Blood* 1987;70:838–845.
136. L Marquardt, A Ruf, U Mansmann, et al. Course of Platelet Activation Markers After Ischemic Stroke. *Stroke* 2002;33:2570-2574.

- 
137. McCabe DJH, Harrison P, Mackie IJ et al. Increased platelet count and leucocyte–platelet complex formation in acute symptomatic compared with asymptomatic severe carotid stenosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76:1249–1254.
138. Shimizu M, Kohara S, Yamamoto M et al. Significant relationship between platelet activation and intra-media thickness of the carotid artery in patients with ischemic cerebrovascular disease. *Thrombosis Research* 2006;117:647-652.
139. Michelson AD. Flow cytometry: a clinical test of platelet function. *Blood* 1996;87:4925– 936.
140. Michelson AD, Furman MI. Laboratory markers of platelet activation and their clinical significance. *Curr Opin Hematol* 1999;6:342–348.
141. Matsumoto N, Nomura S, Kamihata H, Kimura Y, Iwasaka T. Association of platelet-derived microparticles with C-C chemokines on vascular complication in patients with acute myocardial infarction. *Clin Appl Thromb Hemost* 2002;8:279–86.
142. Michelson AD, Barnard MR, Krueger LA, Valeri CR, Furman MI. Circulating monocyteplatelet aggregates are a more sensitive marker of in vivo platelet activation than platelet surface P-selectin: studies in baboons, human coronary intervention, and human acute myocardial infarction. *Circulation* 2001;25(104):1533–7.
143. Zeller JA, Lindner V, Frahm K, Baron R, Deuschl G. Platelet activation and platelet–leucocyte interaction in patients with migraine. Subtype differences and influence of triptans. *Cephalalgia* 2005;25:536–541.
144. Rubanyi GM. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22 (Suppl. 4):S1–14.
145. Gimbrone MA Jr. Vascular endothelium: an integrator of pathophysiologic stimuli in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1995;75:67–70.
146. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:168 –175.

- 
147. Cooke JP, Tsao PS: Go with the flow. *Circulation* 2001;103:2773-5.
148. Ciancarelli I, Tozzi-Ciancarelli MG, Di Massimo C, Marini C, Carolei A. Urinary nitric oxide metabolites and lipid peroxidation by-products in migraine. *Cephalalgia* 2003;23:39–42.
149. Costa A, Ravaglia S, Sances G, Antonaci F, Pucci E, Nappi G. Nitric oxide pathway and response to nitroglycerin in cluster headache patients: Plasma nitrite and citrulline levels. *Cephalalgia* 2003;23:407-413.
150. Shukla R, Barthwal MK, Srivastava N, et al. Blood nitrite levels in patients with migraine during headache-free period. *Headache* 2001;41:475-481.
151. Silva FA, Rueda-Clausen C F, et al. Endothelial Function in Patients With Migraine During the Interictal Period. *Headache* 2007;47:45-51.
152. D'Amico D, Ferraris A, Leone M, et al. Increased plasma nitrites in migraine and cluster headache patients in interictal period: Basal hyperactivity of L-arginine-NO pathway? *Cephalalgia* 2002;22:33-36.
153. Bianchi A, Pitari G, Amenta V, Giuliano F, Gallina M, Costa R, Ferlito S. Endothelial, haemostatic and haemorheological modifications in migraineurs. *Artery* 1996;22:93–100.
154. McCrary JK, Nolasco LH, Hellums JD, Kroll MH, Turner NA, Moake JL. Direct demonstration of radiolabeled von Willebrand factor binding to platelet glycoprotein Ib and IIb-IIIa in the presence of shear stress. *Ann Biomed Eng* 1995;23:787–793.
155. Blann AD. Plasma von Willebrand factor, thrombosis, and the endothelium: the first 30 years. *Thromb Haemost* 2006;95:49 –55.
156. Qizilbash N, Duffy S, Prentice CR, Boothby M, Warlow C. Von Willebrand factor and risk of ischemic stroke. *Neurology* 1997;49:1552–1556.
157. Folsom AR, Rosamond WD, Shahar E, Cooper LS, Aleksic N, Nieto FJ, Rasmussen ML, Wu KK, Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. Prospective study of markers of hemostatic function with risk of ischemic stroke. *Circulation* 1999;100:736 –742.



- 
158. Bongers TN, de Maat MP, van Goor ML, Bhagwanbali V, van Vliet HH, Gomez-Garcia EB, Dippel DW, Leebeek FW. High von Willebrand factor levels increase the risk of first ischemic stroke: influence of ADAMTS13, inflammation, and genetic variability. *Stroke* 2006;37:2672–7.
159. Spencer CG, Felmeden DC, Blann AD, Lip GY. Haemorrhological, platelet and endothelial indices in relation to global measures of cardiovascular risk in hypertensive patients: a substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial. *J Intern Med* 2007;261:82–90.
160. Cesar JM, García-Avello A, Vecino AM, Sastre JL, Alvarez-Cermeño JC. Increased levels of plasma von Willebrand factor in migraine crisis. *Acta Neurol Scand* 1995;91(5):412-3.
161. Tietjen GE, Al-Qasbi MM, Athanas K, Utley C, Herial NA. Altered hemostasis in migraineurs studied with a dynamic flow system. *Thromb Res* 2007;119(2):217-22.
162. Tietjen GE, Al-Qasbi MM, Athanas K, Dafer RM, Khuder SA. Increased von Willebrand factor in migraine. *Neurology* 2001;57(2):334-6.
163. Hamsten A, Walldius G, Szamosa A, Blomback M, De Faire U, Dahlen G, Landou C, Wiman B. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet* 1987;2:3–9.
164. Meade TW, Ruddock V, Stirling Y, Chakrabarti R, Miller GJ. Fibrinolytic activity, clotting factors, and long term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1993;342:1076 –1079.
165. Lindgren A, Lindoff C, Norrving B, Astedt B, Johansson BB. Tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor in stroke patients. *Stroke* 1996;27:1066 –1071.
166. Margaglione M, Di Minno G, Grandone E, Vecchione G, Celentano E, Cappucci G, Grilli M, Simone P, Panico S, Mancini M. Abnormally high circulation levels of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in patients with a history of ischemic stroke. *ArteriosclerThromb Vasc Biol* 1994;14:1741–1745.

- 
167. Macko RF, Kittner S J, Epstein A, Cox DK, et al. Elevated Tissue Plasminogen Activator Antigen and Stroke Risk: The Stroke Prevention in Young Women Study. *Stroke* 1999;30:7-11.
168. Bianchi A, Pitari G, Amenta V, Giuliano F, Gallina M, Costa R, Ferlito S. Endothelial, haemostatic and haemorheological modifications in migraineurs. *Artery* 1996;22:93–100.
169. Hill JM, Zalos G, Halcox JPJ, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T. Circulating Endothelial Progenitor Cells, Vascular Function, and Cardiovascular Risk. *N Engl J Med* 2003; 348:593-600.
170. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001;7:430-6.
171. Grant MB, May WS, Caballero S, et al. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med* 2002;8:607-12.
172. Lutun A, Carmeliet G, Carmeliet P. Vascular progenitors: from biology to treatment. *Trends Cardiovasc Med* 2002;12:88-96.
173. Hill JM, Zalos G, Halcox JPJ, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T. Circulating Endothelial Progenitor Cells, Vascular Function, and Cardiovascular Risk. *N Engl J Med* 2003; 348:593-600.
174. Lee ST, Chu K, Jung KH, et al. Decreased number and function of endothelial progenitor cells in patients with migraine. *Neurology* 2008;70:1510-7.
175. Totaro R, Marini C, De Matteis G, Di Napoli M, Carolei A. Cerebrovascular reactivity in migraine during headache-free intervals. *Cephalalgia* 1997;17:191–4.
176. Silvestrini M, Baruffaldi R, Bartolini M, Vernieri F, Lanciotti C, Matteis M et al. Basilar and middle cerebral artery reactivity in patients with migraine. *Headache* 2004;44:29–34.

- 
177. Kastrup A, Thomas C, Hartmann C, Schabet M. Cerebral blood flow and CO<sub>2</sub> reactivity in interictal migraineurs: a transcranial Doppler study. *Headache* 1998;38:608–13.
178. Fiermonte G, Annulli A, Pierelli F. Transcranial Doppler evaluation of cerebral hemodynamics in migraineurs during prophylactic treatment with flunarizine. *Cephalalgia* 1999;19:492–6.
179. Sakai F, Meyer JS. Abnormal cerebrovascular reactivity in patients with migraine and cluster headache. *Headache* 1979;19:257–66.
180. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111–5.
181. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 1995;91:1314–9.
182. Gnasso A, Carallo C, Irace C, et al. Association between wall shear stress and flow-mediated vasodilation in healthy men. *Atherosclerosis* 2001;156:171–6.
183. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD: Close relationship of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *Journal of American College of Cardiology* 1995;26:1235-41.
184. Takase B, Uehata A, Akima T, Nagai T, Nishioka T, Hamabe et al. Endothelium-dependent flowmediated vasodilation in coronary and brachial arteries in suspected coronary artery disease. *American Journal of Cardiology* 1998;82(12):1535-9.
185. Brevetti G, Silvestro A, Schiano V, Chiariello M: Endothelial dysfunction and cardiovascular risk prediction in peripheral arterial disease. *Circulation* 2003;108:2093-8.
186. Widlansky ME, Gocke N, Keaney JF, Vita JA: The clinical implications of endothelial dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol* 2003;42:1149-60.

- 
187. Corretti MC et al, 2002 Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force *J. Am. Coll. Cardiol* 2002;39:257–65.
188. Vanmolkot FH, Van Bortel LM, de Hoon JN. Altered arterial function in migraine of recent onset. *Neurology* 2007;68:1563–70.
189. Yetkin E, Ozisik H, Ozcan C, Aksoy Y, Turhan H. Increased dilator response to nitrate and decreased flow-mediated dilatation in migraineurs. *Headache* 2007;47(1):104–10.
190. NM van Popele, DE Grobbee, ML Bots, R Asmar, J Topouchian, RS Reneman, APG Hoeks, DAM van der Kuip. Association Between Arterial Stiffness and Atherosclerosis The Rotterdam Study Albert Hofman, MD, PhD; Jacqueline C.M. Witteman. *Stroke* 2001;32:454-460.
191. Avolio AP, Chen SG, Wang RP, Zhang CL, Li MF, O'Rourke MF. Effects of aging on changing arterial compliance and left ventricular load in a northern Chinese urban community. *Circulation* 1983;68:50–58.
192. McEniery CM, Yasmin, Hall IR, et al. Normal vascular aging: differential effects on wave reflection and aortic pulse wave velocity: the Anglo Cardiff Collaborative Trial (ACCT). *J Am Coll Cardiol* 2005; 46:1753-60.
193. Yasmin, McEniery CM,Wallace S, et al. C-reactive protein is associated with arterial stiffness in apparently healthy individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:969-74.
194. 162. Safar ME, London GM. Therapeutic studies and arterial stiffness in hypertension: Recommendations of the European Society of Hypertension. *J Hypertens* 2000;18:1527-35.
195. Kool MJ, Hoeks AP, Struijker-Boudier HA, et al. Short- and longterm effects of smoking on arterial wall properties in habitual smokers. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:1881-6.

- 
196. Dart AM, Lacombe F, Yeoh JK, et al. Aortic distensibility in patients with isolated hypercholesterolaemia, coronary artery disease, or cardiac transplant. *Lancet* 1991;338:270-3.
197. Westerhof N, O'Rourke MF. Haemodynamic basis for the development of left ventricular failure in systolic hypertension and for its logical therapy. *J Hypertens* 1995;13:943–952.
198. Watanabe H, Ohtsuka S, Kakihana M, Sugishita Y. Coronary circulation in dogs with an experimental decrease in aortic compliance. *J Am Coll Cardiol* 1993;21:1497–1506.
199. Hallock P, Benson IC. Studies on the elastic properties of human isolated aorta. *J Clin Invest* 1937;16:595–602.
200. Avolio A, Jones D, Tafazzoli-Shadpour M. Quantification of alterations in structure and function of elastin in the arterial media. *Hypertension* 1998; 32:170–175.
201. Kinlay S, Creager MA, Fukumoto M, Hikita H, Fang JC, Selwyn AP, Ganz P. Endothelium-derived nitric oxide regulates arterial elasticity in human arteries in vivo. *Hypertension* 2001;38:1049–1053.
202. Wilkinson IB, Qasem A, McEniery CM, Webb DJ, Avolio AP, Cockcroft JR. Nitric oxide regulates local arterial distensibility in vivo. *Circulation* 2002;105:213–217.
203. Bank AJ, Kaiser DR, Rajala S, Cheng A. In vivo human brachial artery elastic mechanics: effects of smooth muscle relaxation. *Circulation* 1999; 100:41–47.
204. Bank AJ, Wang H, Holte JE, Mullen K, Shammass R, Kubo SH. Contribution of collagen, elastin, and smooth muscle to in vivo human brachial artery wall stress and elastic modulus. *Circulation* 1996;94:3263–3270.
205. Laurent S, Cockcroft J, Bortel LV, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *European Heart Journal* 2006;21:2588-605.

- 
206. Widlansky ME, Gocke N, Keaney JF, Vita JA: The clinical implications of endothelial dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol* 2003;42:1149-1160.
207. D'Anglejan-Chatillon J, Ribeiro V, Mas JL, et al. Migraine-a risk factor for dissection of cervical arteries. *Headache* 1989;29:560-1.
208. Lee VH, Brown RD Jr, Mandrekar JN, et al. Incidence and outcome of cervical artery dissection: a population-based study. *Neurology* 2006;67:1809-12.
209. Pezzini A, Granella F, Grassi M, et al. History of migraine and the risk of spontaneous cervical artery dissection. *Cephalalgia* 2005;25:575- 80.
210. Rubinstein SM, Peerdeman SM, van Tulder MW, et al. A systematic review of the risk factors for cervical artery dissection. *Stroke* 2005;36:1575-80.
211. Tzourio C, BenslamiaL, Guillon B, et al. Migraine and the risk of cervical artery dissection: A casecontrol study. *Neurology* 2002;59:435- 7.
212. Calvet D, Boutouyrie P, Touze E, et al. Increased stiffness of the carotid wall material in patients with spontaneous cervical artery dissection. *Stroke* 2004;35: 2078-82.
213. Nagai T, Tabara Y, Igase M, et al. Migraine is associated with enhanced arterial stiffness. *Hypertens Res* 2007;30:577–83.
214. de Hoon JN, Willigers JM, Troost J, Struijker-BoudierHA, van Bortel LM. Cranial and peripheral interictal vascular changes in migraine patients. *Cephalalgia* 2003;23:96–104.
215. Ryliškienė K. Daktaro disertacija: Migrena sergančių žmonių kasdienės veiklos apribojimas, insulto rizikos veiksniai ir galvos smegenų struktūriniai pakitimai. Vilnius 2008.
216. Newton DJ, Khan F, Belch JF: Assessment of microvascular endothelial function in human skin. *Clin Sci* 2001;101:567–572.
217. Edvinsson ML, Edvinsson L. Comparison of CGRP and NO responses in the human peripheral microcirculation of migraine and control subjects. *Cephalalgia* 2008;28:563–6.

- 
218. Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders: 2nd edition. *Cephalalgia* 2004;24 Suppl 1:9-160.
219. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *Circulation* 2002;106:3143-421.
220. [www.nhlbi.nih.gov/guidelines/cholesterol](http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/cholesterol). Peržiūrėta 2008-02-01.
221. De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force of European and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Eur Heart J* 2003;24:1601-10.
222. Schmitz G, Rothe G, Ruf A, et al. European Working Group on Clinical Cell Analysis: consensus protocol for the flow cytometric characterisation of platelet function. *Thromb Haemost* 1998;79:885-96.
223. Cracowski JL, Minson CT, Melis MS, Halliwill JR. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *TRENDS in Pharmacological Sciences* 2006;9:503-509.
224. Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasan RS, Schnabel R, Pryde MM, Mitchell GF, Sheffy J, Vita JA, Benjamin EJ. Cross-Sectional Relations of Digital Vascular Function to Cardiovascular Risk Factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008;117:2467-2474.
225. McEniery CM, Yasmin, Hall IR, QasemA, Wilkinson IB, Cockcroft JR, on behalf of the ACCT Investigators. Normal Vascular Aging: Differential Effects on Wave Reflection and Aortic Pulse Wave Velocity: The Anglo-Cardiff Collaborative Trial (ACCT). *Am. Coll. Cardiol* 2005;46:1753-1760.
226. Gardner JW, Mountaine GE, Hines EA. The relationship of migraine to hypertension and to hypertension headaches. *Am J Med Sci* 1940;200:50-3.
227. Walker CH. Migraine and its relation to hypertension. *BMJ* 1959;1430-3.



- 
228. Jousilahti P, Tuomilehto J, Rastenyte D, Vartiainen E. Headache and the risk of stroke: A prospective observational cohort study among 35,056 Finnishmen and women. *Arch Intern Med* 2003;163:1058-1062.
229. Cirillo M, Stellato D, Lombardi C, De Santo NG, Covelli V. Headache and cardiovascular risk factors: Positive association with hypertension. *Headache* 1999;39:409-416.
230. Gudmundsson LS, Thorgeirsson G, Sigfusson N, Sigvaldason H & Johannsson M. Migraine patients have lower systolic but higher diastolic blood pressure compared with controls in a population-based study of 21 537 subjects. The Reykjavik Study. *Cephalalgia* 2006;26:436–444.
231. Rasmussen BK, Olesen J. Symptomatic and nonsymptomatic headaches in a general population. *Neurology* 1992; 42:1225–31.
232. Milhaud D, Bogousslavsky J, van Melle G, Liot P. Ischemic stroke and active migraine. *Neurology* 2001;57:1805–11.
233. Kurth T, Schürks M, Logroscino G, et al. Migraine, vascular risk, and cardiovascular events in women: prospective cohort study. *BMJ* 2008;337:a636.
234. Ruggeri ZM. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med* 2002;8:1227–34.
235. Dotsenko O, Chaturvedi N, Thom SA, Wright AR, Mayet J, Shore A, Schalkwijk C, Hughes AD. Platelet and leukocyte activation, atherosclerosis and inflammation in European and South Asian men. *Thromb Haemost* 2007;5(10): 2036–2042.
236. Choudhury A, Chung I, Blann AD, Lip GYH. Platelet Surface CD62P and CD63, Mean Platelet Volume, and Soluble/Platelet P-Selectin as Indexes of Platelet Function in Atrial Fibrillation *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1957–64.
237. Nomura S, Kanazawa S, Fukuhara S. Effects of efonidipine on platelet and monocyte activation markers in hypertensive patients with and without type 2 diabetes mellitus. *J Hum Hypertens* 2002;16:1345–9.
238. Marquardt L, Ruf A, Mansmann U, et al. Course of Platelet Activation Markers After Ischemic Stroke. *Stroke* 2002;33:2570-2574.

- 
239. Sarma J, Laan CA, Alam S, Jha A, Fox K, I Dransfield. Increased Platelet Binding to Circulating Monocytes in Acute Coronary Syndromes. *Circulation* 2002;105:2166-2171.
240. Humphrey PPA. 5-Hydroxytryptamine and the pathophysiology of migraine. *J Neurol* 1992;238: S38-S44.
241. Preston RA, Coffey JO, Materson B J, Ledford M, Alonso AB. Elevated platelet P-selectin expression and platelet activation in high risk patients with uncontrolled severe hypertension. *Atherosclerosis* 2007;192:148–154.
242. Nomura S, Takahashi N, Inami N, Kajiura T, Yamada K, Nakamori H et al. Probucol and ticlopidine: effect on platelet and monocyte activation markers in hyperlipidemic patients with and without type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2004;174:329–335.
243. Nomura S, Kanazawa S, Fukuhara S. Effects of eicosapentaenoic acid on platelet activation markers and cell adhesion molecules in hyperlipidemic patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2003;17:153–159.
244. Chen LY, Mehta JL. Inhibitory effect of high density lipoprotein on platelet function is mediated by increase in nitric oxide synthase activity in platelets. *Life Sci* 1994;55:1815–1821.
245. Davi`G, Guagnano MT, Ciabattini G, Basili S, Falco A, Marinopiccoli M, Nutini M, Sensi S, PatronoC. Platelet Activation in Obese Women. Role of Inflammation and Oxidant Stress. *JAMA* 2002;288:2008-2014.
246. Pearson TA, Mensah GA, Hong Y, Smith SC et al. Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: A Statement for Healthcare Professionals From The Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499-511.
247. Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol* 2000;18:217–242.

- 
248. Di Napoli M, Schwaninger M et al. Evaluation of C-reactive protein measurement for assessing the risk and prognosis in ischemic stroke: a statement for health care professionals from the CRP Pooling Project members. *Stroke* 2005;36:1316–29.
249. Pearson TA, Mensah GA et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499–511.
250. Kurth T, Ridker PM, Buring JE. Migraine and biomarkers of cardiovascular disease in women. *Cephalalgia* 2008;28:49–56.
251. Tietjen GE, Nabeel AH, MD et al. Migraine and Biomarkers of Endothelial Activation in Young Women. *Stroke* 2009;40:00-00.
252. Vanmolkot FH, de Hoon JN. Increased C-reactive protein in young adult patients with migraine. *Cephalalgia* 2007;27:843–846.
253. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801–9.
254. Celermajer DS. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? *J Am Coll Cardiol* 1997;30:325–33.
255. Naghavi M, Libby P, Falk E, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies. Part I. *Circulation* 2003;108:1664–72.
256. Stroes ESG, Koomans HA, deBruin TWA, Rabelink TJ. Vascular function in the forearm of hypercholesterolaemic patients off and on lipid-lowering medication. *Lancet* 1995;346:467–71.
257. Tsao PS, Niebauer J, Buitrago R, et al. Interaction of diabetes and hypertension on determinants of endothelium adhesiveness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:947–53.

- 
258. Williams SB, Goldfine AB, Timimi FK, et al. Acute hyperglycemia attenuates endothelium-dependent vasodilation in humans in vivo. *Circulation* 1998;97:1695–701.
259. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993; 88:2149–55.
260. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C et al. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1468–74.
261. Leeson P, Thorne S, Donald A et al. Non-invasive measurement of endothelial function: effect on brachial artery dilatation of graded endothelial dependent and independent stimuli. *Heart* 1997;78:22–7.
262. Iiyama K, Nagano M, Yo Y, et al. Impaired endothelial function with essential hypertension assessed by ultrasonography. *Am Heart J* 1996;132:779–82.
263. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990;323:22–7.
264. Modena MG, Bonetti L, Coppi F, F Bursi, R Rossi. Prognostic Role of Reversible Endothelial Dysfunction in Hypertensive Postmenopausal Women. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:505–10.
265. Verma S, Wang CH, Lonn E, Charbonneau F, Buithieu J, Titlee LM, Fung M, Edworthy S, Robertson AC, Anderson TJ. Cross-sectional evaluation of brachial artery flow-mediated vasodilation and C-reactive protein in healthy individuals. *European Heart Journal* 2004;25,1754–1760.
266. Hambrecht R, Hilbrich L, Erbs S, Gelen S, Fiehn E, Schoene N, Shuler G: Correction of endothelial dysfunction in chronic heart failure: Additional effects of exercise training and oral l-arginine supplementation. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:706–713.

- 
267. Kuvin JT, Patel AR, Sliney KA, Pandian NG, Rand WM, Udelson JE, Karas RH: Peripheral vascular endothelial function testing as a noninvasive indicator or coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1843–1849.
268. Patel AR, Kuvin JT, Sliney KA, Rand WM, Pandian NAG, Karas RH. Peripheral Vascular Endothelial Function Correlates with Exercise Capacity in Women. *Clin. Cardiol* 2005;28:433–436.
269. H Gaenger, G Neumayr, P Marschang, W Sturm, R Kirchmair, JR. Patsch. Flow-Mediated Vasodilation of the Femoral and Brachial Artery Induced by Exercise in Healthy Nonsmoking and Smoking Men. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38:1313–9.
270. Weber T, Auer J, O'Rourke MF, et al: Arterial stiffness, wave reflections, and the risk of coronary artery disease. *Circulation* 2004;109:184–189.
271. Ziemann SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:932-43.
272. Thomsen LL, Olesen J. The autonomic nervous system and the regulation of arterial tone in migraine. *Clin Auton Res* 1995;5:243-50.
273. Shechter A, Stewart WF, Silberstein SD, et al. Migraine and autonomic nervous system function: a population-based, case-control study. *Neurology* 2002; 58:422-7.
274. Chugani DC, Niimura K, Chaturvedi S, et al. Increased brain serotonin synthesis in migraine. *Neurology* 1999;53:1473-9.
275. Sakai Y, Dobson C, Diksic M, et al. Sumatriptan normalizes the migraine attack-related increase in brain serotonin synthesis. *Neurology* 2008;70:431-9.
276. Drummond PD. Effect of tryptophan depletion on symptoms of motion sickness in migraineurs. *Neurology* 2005;65:620-622.
277. Nagata E, Shibata M, Hamada J, et al. Plasma 5- hydroxytryptamine (5-HT) in migraine during an attack-free period. *Headache* 2006;46:592- 6.

- 
278. Kruuse C, Afridi SK. Human models of the headaches. In: Olesen J, ed. *The headaches* (3rd ed.). Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins 2006; 221-9.
279. Napoli R, Guardasole V, Zarra E, Matarazzo M, D'Anna C, Sacca`F, Affuso F, Cittadini A, Carrieri PB, Sacca`L. Vascular smooth muscle cell dysfunction in patients with migraine. *Neurology* 2009;72:2111–2114.
280. Gotoh F, Komatsumoto S, Araki N, Gomi S. Noradrenergic nervous activity in migraine. *Arch Neurol* 1984;41:951-955.
281. Mikamo K, Takeshima T, Takahashi K. Cardiovascular sympathetic hypofunction in muscle contraction headache and migraine. *Headache* 1989;29:86-89.
282. Boccuni M, Alessandri M, Fusco BM, Cangi F. The pressor hyperresponsiveness to phenylephrine unmasks sympathetic hypofunction in migraine. *Cephalalgia* 1989;9:239-245.
283. Selby G, Lance JW. Observations on 500 cases of migraine and allied vascular headache. *J Neurolo Neurosurg Psychiatry* 1960;23:23-32.
284. Bandinelli G, Cencetti S, Bacalli S, Lagi A. Disease-related syncope. Analysis of a community- based hospital registry. *J Intern Med* 2000;247:513-516.
285. FH. Kelly, KA. Matthews. Interactions Between Autonomic Nervous System Activity and Endothelial Function: A Model for the Development of Cardiovascular Disease. *Psychosomatic Medicine* 2004;66:153–164.
286. Sanchez del Rio M, Reuter U, Moskowitz MA. Central and peripheral mechanism of migraine. *Funct Neurol* 2000;15(Suppl 3):157-162.
287. Burnstock G. Local mechanisms of blood flow control by perivascular nerves and endothelium. *J Hypertens Suppl* 1990;8:S95–106.
288. GomiS, Gotoh F, Komatsumoto S, Ishikawa Y, Araki N, Hamada J. Sweating function and retinal vasomotor reactivity in migraine. *Cephalalgia* 1989;9:179-185.

- 
289. Liew G, Mitchell P, Wong TY, Wang JJ. Retinal vascular caliber and migraine: the Blue Mountains Eye Study. *Headache* 2006;46:997–1004.
290. Rose KM, Wong TY, Carson AP, Couper DJ, Klein R, Sharrett AR. Migraine and retinal microvascular abnormalities: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Neurology* 2007;68:1694–700.
291. Tietjen GE, Al Qasbi MM, Shukairy MS. Livedo reticularis and migraine: a marker for stroke risk? *Headache* 2002;42:352–5.
292. Tietjen GE, Gottwald L, Al Qasbi MM, Gunda P, Khuder SA. Migraine is associated with livedo reticularis: a prospective study. *Headache* 2002;42:263–7.
293. Pal B, Gibson C, Passmore J, Griffiths ID, Dick WC. A study of headaches and migraine in Sjogren's syndrome and other rheumatic disorders. *Ann Rheum Dis* 1989;48:312–16.
294. Chabriat H, Joutel A, Dichgans M, Tournier-Lasserre E, Boussier M. CADASIL. *Lancet Neurol* 2009;8:643–53.
295. Cracowski JL, Minson CT, M Salvat-Melis and Halliwill JR. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *TRENDS in Pharmacological Sciences* 2006;9:503-508.
296. Durand, S. et al. Prostaglandins participate in the late phase of the vascular response to acetylcholine iontophoresis in humans. *J. Physiol* 2004;561:811–819.
297. Holowatz, L.A. et al. Mechanisms of acetylcholine-mediated vasodilatation in young and aged human skin. *J. Physiol* 2005;563:965–973.
298. Boutsiouki, P. and Clough, G.F. Modulation of microvascular function following low-dose exposure to the organophosphorous compound malathion in human skin in vivo. *J. Appl. Physiol* 2004;97:1091–1097.
299. Cines DB, Pollak ES, Buck CA, et al.: Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998;91:3527–3561.
300. Shimokawa H: Primary endothelial dysfunction: atherosclerosis. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:23–37.



- 
301. Van Ijzendoorn SC, Heemskerk JW, Reutelingsperger CP: Interactions between endothelial cells and blood platelets. *Endothelium* 1995;3:81–98.
302. Rosen P, Schwippert B, Tschöpe D: Adhesive proteins in platelet-endothelial interactions. *Eur J Clin Invest* 1994;24:21–24.
303. Hawiger J: Platelet-vessel interactions: Platelet adhesion and aggregation. *Atherosclerosis Rev* 1990;21.
304. Pieston RA, Coffey JO, Materson BJ, Ledford M, Alonso AB. Elevated platelet P-selectin expression and platelet activation in high risk patients with uncontrolled severe hypertension. *Atherosclerosis* 2007;192:148–154.
305. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, van den Brand MJ, Boersma E, Zeiher AM, Simoons ML. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2003;348:1104–1111.
306. Gibbs CR, Blann AD, Watson RD, Lip GY. Abnormalities of hemorheological, endothelial, and platelet function in patients with chronic heart failure in sinus rhythm: Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor and beta-blocker therapy. *Circulation*. 2001;103:1746–1751.
307. Winocour PD. Platelet abnormalities in diabetes mellitus. *Diabetes* 1992; 41(suppl 2):26–31.
308. Zeller JA, Tschöpe D, Kessler C. Circulating platelets show increased activation in patients with acute cerebral ischemia. *Thromb Haemost* 1999;81:373–7.
309. Yamazaki M, Uchiyama S, Iwata M. Measurement of platelet fibrinogen binding and P-selectin expression by flow cytometry in patients with cerebral infarction. *Thromb Res* 2001;104:197– 205.
310. Shimizu M, Kohara S , Yamamoto M, Ando Y, Haida M, Shinohara Y. Significant relationship between platelet activation and intra-media thickness of the carotid artery in patients with ischemic cerebrovascular disease. *Thrombosis Research*. 2006;117:647—652.
311. Kelm M. Nitric oxide metabolism and breakdown. *Biochim Biophys Acta*.

---

1999;1411:273–289.

312. Hirayama A, Noronha-Dutra AA, Gordge MP, Neild GH, Hothersall JS. S-nitrosothiols are stored by platelets and released during platelet-neutrophil interactions. *Nitric Oxide* 1999;3:95–104.

313. Stamler J, Mendelsohn ME, Amarante P, Smick D, Andon N, Davies PF, Cooke JP, Loscalzo J. N-Acetylcysteine potentiates platelet inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *Circ Res* 1989;65:789–795.

314. A Agouni, A He´le`ne Lagrue-Lak-Hal, PH Ducluzeau, HA Mostefai, C Draunet-Busson, G Leftheriotis, C Heymes, MC Martinez, R Andriantsitohaina. Endothelial Dysfunction Caused by Circulating Microparticles from Patients with Metabolic Syndrome *Am J Pathol* 2008;173:1210–1219.

315. Yamasaki F, Furuno T, Sato K, Zhang D, Nishinaga M, Sato T, Doi Y, Sugiura T. Association between arterial stiffness and platelet activation. *Journal of Human Hypertension* 2005;19:527–533.

<sup>316</sup>. Dzau VJ, Gibbons GH. Vascular remodeling: mechanisms and implications. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;21: S1–S5.

317. Koyama H, Takaaki M, Fukomoto S, et al. Platelet P-selectin expression is associated with atherosclerotic wall thickness in carotid artery in humans. *Circulation* 2003;108:524–9

318. Huo Y, Schober A, Forlow SB, et al. Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E. *Nat Med* 2003;9:61–67.

319. Manka D, Collins RG, Ley K, et al. Absence of P-selectin, but not intercellular adhesion molecule-1, attenuates neointimal growth after arterial injury in apolipoprotein e-deficient mice. *Circulation* 2001;103:1000–1005.