

# КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

Монография

*Под общей редакцией  
В.А. Снежицкого, В.М. Пырочкина*

Гродно  
ГрГМУ  
2011

УДК 616.1:616.153.478.6]-07-08  
ББК 54.10  
К49

Рекомендовано Редакционно-издательским советом УО «ГрГМУ»  
(протокол № 10 от 10.10.2011)

Авторы: д-р мед. наук, проф. В.А. Снежицкий;  
д-р мед. наук, проф. В.М. Пырочкин;  
д-р мед. наук, проф. В.В. Спас;  
доц., канд. мед. наук Е.М. Дорошенко;  
доц., канд. мед. наук Т.Ю. Егорова;  
доц., канд. мед. наук Е.В. Мирончик;  
доц., канд. мед. наук А.В. Наумов;  
доц., канд. мед. наук Р.Э. Якубцевич;  
канд. мед. наук Е.В. Зуховицкая;  
канд. мед. наук А.Р. Плоцкий;  
канд. мед. наук А.В. Пырочкин;  
канд. мед. наук Т.В. Янушко;  
ассист. Ю.С. Володько;  
ассист. Д.В. Пицко;  
ассист. В.А. Предко;  
аспирант М.С. Дешко.

Рецензенты: зав. каф. факультетской терапии УО «Витебский государственный им. Дружбы народов медицинский университет»,  
д-р мед. наук, проф. В.И. Козловский;  
зав. каф. биологической химии УО «Гродненский государственный медицинский университет», д-р мед. наук, проф.  
В.В. Лелевич.

**Клинические аспекты гипергомоцистеинемии : монография /**  
К49 В.А. Снежицкий [и др.]; под общей ред. В.А. Снежицкого, В.М. Пырочкина. – Гродно : ГрГМУ, 2011. – 292 с.  
ISBN 978-985-496-873-5

В монографии приведены сведения, касающиеся оценки роли гипергомоцистеинемии в развитии патологии сердечно-сосудистой системы, врожденных пороков у детей и плацентарной недостаточности у беременных женщин. Изложены результаты комплексного клинико-инструментального обследования больных с оценкой функционального состояния эндотелия, артериальной жесткости, а также обмена серосодержащих аминокислот у пациентов с ишемической болезнью сердца, хронической сердечной недостаточностью, перенесенным инфарктом миокарда, фибрилляцией предсердий, у лиц пожилого возраста и беременных женщин. Приведены результаты оценки проводимой терапии.

Рекомендуется для врачей-кардиологов, терапевтов, акушер-гинекологов, врачей общей практики и студентов медицинских вузов.

УДК 616.1:616.153.478.6]-07-08  
ББК 54.10

## Оглавление

Введение.....	4
Глава 1. Роль гомоцистеинемии в развитии хронической сердечной недостаточности, связь с нарушениями ритма сердца <i>Зуховицкая Е.В., Дорошенко Е.М., Наумов А.В.</i> .....	8
Глава 2. Метаболическая коррекция гипергомоцистеинемии, дисфункции эндотелия и упруго-эластических свойств общей сонной артерии в постинфарктном периоде <i>Пырочкин А.В., Мирончик Е.В.</i> .....	26
Глава 3. Гомоцистеин и фибрилляция предсердий <i>Снежицкий В.А., Дешко М.С.</i> .....	75
Глава 4. Метаболическая коррекция фолат-гомоцистеинового обмена и дисфункции эндотелия у лиц пожилого возраста <i>Володько Ю.С., Пырочкин В.М.</i> .....	112
Глава 5. Роль гомоцистеина в развитии кардиоваскулярной патологии у пациентов с подагрой <i>Пицко Д.В., Пырочкин В.М.</i> .....	140
Глава 6. Современные представления о роли метаболических и гемодинамических расстройств в формировании плацентарной недостаточности и синдрома задержки развития плода <i>Янушко Т.В., Егорова Т.Ю., Дорошенко Е.М.</i> .....	184
Глава 7. Гомоцистеин и врожденные пороки развития плода <i>Плоцкий А.Р., Наумов А.В., Егорова Т.Ю.</i> .....	224
Глава 8. Метаболизм гомоцистеина при сепсисе <i>Предко В.А., Спас В.В., Наумов А.В., Якубцевич Р.Э.</i> .....	273

## ВВЕДЕНИЕ

В 1932 г. De Vigneaud открыл гомоцистеин, как продукт деметилирования метионина, а через несколько лет был открыт и второй путь метаболизма гомоцистеина – транссульфурация. В 1962 г. выделен синдром гомоцистеинурии (гомоцистеин в моче), связанный с дефицитом фермента цистатионин синтазы. При данном заболевании отмечаются умственная отсталость, деформации костей, смещение хрусталика, прогрессирующие сердечно-сосудистые заболевания и высокая частота тромбоэмболии. Kilmer McCully углубленно изучал больных с высокими уровнями гомоцистеина в крови и обнаружил связь гипергомоцистеинемии с развитием тяжелых сосудистых заболеваний. Эти исследования послужили основой предложенной им в 1975 г. гомоцистеиновой теории атеросклероза. Он был убежден, что существует связь между уровнем гомоцистеина, витаминной недостаточностью и заболеваниями сердца. Исследования последних 15 лет подтвердили и углубили гомоцистеиновую теорию развития сосудистых нарушений. Ежегодно появляются десятки публикаций, посвященных разным сторонам этой проблемы. Однако, к сожалению, в настоящее время только немногие лаборатории могут определять уровень гомоцистеина в крови.

Гомоцистеин является продуктом превращения метионина, одной из восьми незаменимых аминокислот. Из гомоцистеина в дальнейшем может образовываться другая аминокислота, – цистеин, не входящая в число незаменимых аминокислот. Избыток накапливающегося в организме гомоцистеина может снова превращаться в метионин. Кофакторами ферментов метаболических путей метионина в организме выступают витамины, самыми важными из которых являются фолиевая кислота, пиридоксин (витамин В<sub>6</sub>), цианокобаламин (витамин В<sub>12</sub>) и рибофлавин (витамин В<sub>2</sub>). Гомоцистеин не является структурным элементом белков, а потому не поступает в организм с пищей. В физиологических условиях единственным источником гомоцистеина в организме является превращение метионина. Гомоцистеин обладает выраженным токсическим действием на клетку. Для защиты клет-

ки от повреждающего действия гомоцистеина существуют специальные механизмы выведения его из клетки в кровь. Поэтому, в случае появления избытка гомоцистеина в организме, он начинает накапливаться в крови, и основным местом повреждающего действия этого вещества становится внутренняя поверхность сосудов. Для превращения избытка гомоцистеина в метионин нужны высокие концентрации активной формы фолиевой кислоты (5-метилтетрагидрофолата). Основным ферментом, обеспечивающим превращение фолиевой кислоты в ее активную форму, является 5,10 метилентетрагидрофолат-редуктаза (MTHFR). Снижение активности этого фермента – одна из важных причин накопления гомоцистеина в организме.

Гомоцистеин независимо от фолатного статуса опосредует ремоделирование сердца и сосудов через снижение биодоступности оксида азота, образование кислородных радикалов, активацию матриксных металлопротеиназ. О взаимосвязи хронической сердечной недостаточности и гомоцистеина свидетельствует и тот факт, что в условиях гипергомоцистеинемии развивается структурное ремоделирование миокарда по причине повышения экспрессии матриксных металлопротеиназ – ферментов, которые обуславливают изменение состава внеклеточного матрикса, как результат повышения синтеза коллагена в интерстиции миокарда, таким образом формируя его электрическую гетерогенность, «островковый» фиброз, дилатацию камер, что является морфологическим субстратом для возникновения аритмий. Повышенный уровень гомоцистеина по совершенно различным патологическим механизмам вызывает развитие ДЭ и повышение артериальной жесткости. В 2003 году в исследовании, проведенном группой ученых в Бразилии, установлено, что гипергомоцистеинемия значительно чаще определяется в старших возрастных группах.

Известно, что для больных подагрой характерны высокие значения суммарного коронарного риска развития кардиоваскулярных катастроф, связанных с атеросклеротическим поражением сосудов. Другой аспект проблемы кардиоваскулярной патологии при нарушении пуринового обмена

связан с изучением роли нарушений в обмене свободных аминокислот, в частности, метионина и гомоцистеина. Повышение последнего в плазме крови является независимым фактором риска в развитии и прогрессировании поражения сосудов и связанных с этим осложнений.

Гипергомоцистеинемия может быть одной из причин развития генерализованной микроангиопатии во второй половине беременности, проявляющейся в виде позднего токсикоза (гестоза): нефропатии, преэклампсии и эклампсии. Для гипергомоцистеинемии характерно развитие тяжелых, часто неуправляемых состояний, которые могут приводить к досрочному прерыванию беременности по медицинским показаниям. Рождение незрелого недоношенного ребенка в таких случаях сопровождается высокой детской летальностью и большим процентом неонатальных осложнений. Гомоцистеин свободно переходит через плаценту и может оказывать тератогенное и фетотоксическое действие. Было доказано, что гипергомоцистеинемия является одной из причин анэнцефалии и незаращения костномозгового канала (*spina bifida*). Анэнцефалия приводит к стопроцентной летальности, а *spina bifida* – к развитию серьезных неврологических проблем у ребенка, включая моторный паралич, пожизненную инвалидность и преждевременную смерть. Нельзя исключить прямое токсическое действие избыточного уровня гомоцистеина на нервную систему плода.

При сепсисе происходит изменение обмена метионина и нарушение процессов трансметилирования. Одним из образующихся при этом цитотоксичных метаболитов является гомоцистеин (Hcy). Накопление гомоцистеина в организме происходит как следствие дисбаланса между уровнем его наработки (S-аденозилметионин(SAM)-зависимые реакции) и удаления (реметилирование или транссульфуривание, выделение почками). При сепсисе имеет место наработка в высоких количествах оксида азота, который является одним из известных ингибиторов ферментов транссульфуривания [13, 23]. Повышение гомоцистеина относят к факторам риска, участвующим в формировании дисфункции эндотелия сосудов, активации пролиферации гладкомышечных клеток, а

также активации тромбоцитов и лейкоцитов. На клеточном уровне гомоцистеин оказывает воздействие на активность процессов метилирования ДНК и протеинов, повышает экспрессию провоспалительных цитокинов, индуцирует оксидативный стресс.

В монографии приведены сведения, касающиеся оценки роли гипергомоцистеинемии в развитии патологии сердечно-сосудистой системы, врожденных проков у детей и плацентарной недостаточности у беременных женщин. Изложены результаты комплексного клинико-инструментального обследования больных с оценкой функционального состояния эндотелия, артериальной жесткости, а также обмена серосодержащих аминокислот у пациентов с ишемической болезнью сердца, сепсисом, хронической сердечной недостаточностью, перенесенным инфарктом миокарда, фибрилляцией предсердий, у лиц пожилого возраста и беременных женщин. Приведены результаты оценки проводимой терапии. Монография будет полезна широкому кругу врачей.

## Глава 1

# РОЛЬ ГОМОЦИСТЕИНЕМИИ В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ, СВЯЗЬ С НАРУШЕНИЯМИ РИТМА СЕРДЦА

### 1.1 Введение и краткий литературный обзор

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) как синдром, являющийся результатом декомпенсации основного сердечно-сосудистого заболевания, широко распространен и характеризуется прогрессирующим течением и неблагоприятным исходом. Распространенность ее не только не снижается, но продолжает неуклонно нарастать, достигая в общей популяции 1,5-2,0%, а среди лиц старше 65 лет – 6-10%. Социально-экономическая значимость ХСН характеризуется высокой смертностью и значительным количеством случаев внезапной сердечной смерти, связанной прежде всего с желудочковыми нарушениями ритма.

Нельзя обойти вниманием многочисленные исследования, посвященные негативным эффектам гомоцистеина (Нсу) и их связи с ХСН.

В целом, эта связь обусловлена следующими механизмами: Нсу независимо от фолатного статуса опосредует ремоделирование сердца и сосудов через снижение биодоступности оксида азота, образование кислородных радикалов, активацию матриксных металлопротеиназ [1-4].

О взаимосвязи ХСН и Нсу свидетельствует и тот факт, что в условиях гипергомоцистеинемии (ННсу) развивается структурное ремоделирование миокарда по причине повышения экспрессии матриксных металлопротеиназ – ферментов, которые обуславливают изменение состава внеклеточного матрикса как результат повышения синтеза коллагена в интерстиции миокарда, таким образом формируя его электрическую гетерогенность, «островковый» фиброз, дилатацию камер, что является морфологическим субстратом для возникновения аритмий [5, 6].

По всей вероятности, ННсу действует несколькими путями. Он снижает биодоступность NO за счёт повышения его окислительной инактивации. Окислительный стресс до недавнего времени считался основным механизмом патогенного действия Нсу, особенно его способность таким образом нарушать эндотелий-зависимую вазодилатацию – характерное явление при атерогенезе и других сердечно-сосудистых заболеваниях [7-10].

При ННсу, так же как и при других патологических процессах (ишемии, гипоксии, воспалении, дислипидемии), важную роль играют нарушение липидного обмена и усиление свободнорадикального ПОЛ (перекисное окисление липидов) [11, 12]. Патологические эффекты ПОЛ вызывают грубые нарушения метаболизма кардиомиоцитов в клетках проводящей системы сердца, которые могут обуславливать электрическую нестабильность миокарда. Продукты ПОЛ вызывают изменения липидного состава саркоплазматического ретикулума и сарколеммы кардиомиоцитов. Активация ПОЛ влечет за собой повреждение митохондрий и углубление дефицита АТФ, что приводит к нарушению сократимости миокарда и прогрессированию ХСН. Одновременно наблюдается снижение активности мембранно-связанных ферментов, играющих ключевую роль в поддержании трансмембранного потенциала кардиомиоцитов [13-15].

Повышенный риск тромбообразования при ХСН в определенной степени также приписывают эффектам Нсу. Именно концентрация секретируемых эндотелием белков, таких как тромбомодулин, фактор Виллебранда (vWF) и тканевого ингибитора активатора плазминогена растут при ННсу, что может служить маркером дисфункции эндотелия, активацией оксидантного стресса и провоспалительных факторов [16].

Уровень Нсу и смертность при сердечно-сосудистой патологии имеют высокую степень достоверной корреляции даже независимо от уровня других факторов риска, таких как САД и С-реактивный белок [11, 14, 17]. Например, в работе Nygard с соавторами [18], изучавшими влияние уровня Нсу на смертность пациентов с ангиографически установленными сердечно-сосудистыми заболеваниями, показано, что из на-

блюдавшихся 587 пациентов через 4,6 года умерли 64, среди которых уровень Hcy ниже 9  $\mu\text{mol/L}$  был лишь у 3,8%, тогда как у 24,7% концентрация Hcy была выше 15  $\mu\text{mol/L}$ .

В ряде исследований показана взаимосвязь уровня Hcy со структурой миокарда, его сократительной функцией и функциональным классом ХСН, где HHcy являлась независимым маркером риска застойной СН [19-29].

Возможными механизмами аритмогенного действия Hcy являются дисфункция ионных каналов: нарушение натриевого тока вследствие изменения кинетики натриевых каналов: увеличение натриевого тока, замедление инактивации и ускорение восстановления натриевых каналов после инактивации. Изменяется и калиевый ток, это сопровождается значительными изменениями потенциала действия: развивается гиперполяризация потенциала покоя [30]. Кроме того, в этот процесс могут быть вовлечены глутаматные N-метил-D-аспартат (NMDA) рецепторы, присутствующие в тканях сердца, которые повышают еще и содержание внутриклеточного кальция, что приводит к дисперсии рефрактерного периода, генерации постдеполяризации и в целом – к увеличению возбудимости клеток и аритмогенной готовности миокарда [31].

Как видно, Hcy играет значимую роль в структурном и электрическом ремоделировании миокарда, ассоциирован с прогрессией ХСН.

**Целью** представленного исследования было изучение значения уровня гомоцистеина у больных с хронической сердечной недостаточностью и выявление взаимосвязи биомаркера и желудочковых нарушений ритма (ЖНР) у больных ХСН.

**Задачи:**

1. Определить и провести сравнительный анализ уровня Hcy в плазме крови у больных ХСН в зависимости от этиологии, стадии ХСН, степени систолической дисфункции левого желудочка.

2. Выявить ассоциации между гомоцистеинемией и другими функциональными и структурными параметрами сердечно-сосудистой системы.

3. Определить взаимосвязь уровня гомоцистеина в плазме крови с частотой желудочковых нарушений ритма у больных ХСН.

4. Провести анализ выживаемости больных ХСН в зависимости от уровня гомоцистеина.

## **1.2 Материал и методы исследования**

Для решения поставленных задач на базе отделения нарушений ритма УЗ «Гродненский областной кардиологический диспансер» обследовано 250 больных кардиологического профиля. Все больные были ознакомлены с протоколом исследования и дали свое согласие на участие в нем. В соответствии с целью и задачами исследования все пациенты были разделены на 4 группы на основании нозологической формы, стадии ХСН и ФВ ЛЖ. 1-ю группу составили 27 больных идиопатической дилатационной кардиомиопатией (ДКМП) (24 (88,9%) мужчины, 3 (11,1%) женщины, средний возраст  $43,5 \pm 8,9$ ). 2-я группа была сформирована из 49 больных ишемической кардиомиопатией (ИКМП) (43 (87,8%) мужчины, 6 (12,2%) женщин, средний возраст  $60,2 \pm 10,3$ ). 3-я группа была образована из 148 (111 (75,0%) мужчин, 37 (25,0%) женщин, средний возраст  $61,3 \pm 10,5$ ) больных хронической ИБС с 1-2б стадией СН. В 4-ю группу (сравнения) включили 26 больных ИБС: стабильная стенокардия ФКІ-II, без признаков наличия ХСН и ФВ ЛЖ  $>50\%$ , с нарушениями ритма (19 (73,1%) мужчин, 7 (26,9%) женщин, средний возраст  $54,8 \pm 9,3$ ). В таблице 1.1 приведена характеристика обследованных пациентов.

Пациенты не включались в исследование при наличии у них инфаркта миокарда и острого нарушения мозгового кровообращения в предшествующие 3 месяца, клапанных пороков сердца, сахарного диабета, воспалительных и онкологических заболеваний. Группы значительно не различались по половому составу, однако имелись таковые различия по возрасту ввиду неоднобразной эпидемиологии заболеваний.

Таблица 1.1 – Сравнительная характеристика пациентов, включенных в исследование

Показатели		1 группа ДКМП (n=27)	2 группа ИКМП (n=49)	3 группа ИБС (n=148)	4 группа сравнения (n=26)
Артериальная гипертензия		5 (18,5%)	39 (79,5%)	132 (89,2%)	18 (69,2%)
Инфаркт миокарда		0	28 (57,1%)	73 (48,3%)	1 (3,8%)
Стадия ХСН	0	0	0	0	22 (76,9%)
	1	1 (3,7%)	2 (4,1%)	63 (42,6%)	4 (23,1%)
	2а	6 (22,2%)	18 (36,7%)	79 (53,4%)	0
	2б-3	20 (74,1%)	29 (59,2%)	6 (4,0%)	0
Фракция выброса, %	<35%	15 (55,6%)	20 (40,8%)	3 (2,2%)	0
	35-50%	12 (44,4%)	29 (59,1%)	65 (43,9%)	0
	>50%	0	0	79 (53,9)	26 (100%)
	Медиана	33 (26-40)	40 (33-46)	57 (48-64)	66 (63-68)
Функциональный класс, NYHA	ФК I	0	0	21 (14,1%)	24 (92,3)
	ФК II	6 (22,2%)	21 (42,9%)	82 (55,4%)	2 (7,3)
	ФК III	17 (63%)	23 (46,9%)	28 (18,9%)	0
	ФК IV	4 (14,8%)	5 (10,2)	17 (11,4%)	0
Мозговой натрийуретический пептид, пг/мл		453 (320-868)	234 (134-575)	80,7 (36,3-197)	27,1 (15,5-34,8)

Исходно определяли в плазме венозной крови общий НСУ. Забор крови производили натошак в одноразовую вакуумную пробирку с антикоагулянтом в необходимой пропорции, перемешивали и центрифугировали в течение 15 минут на 3000 оборотах в минуту, отбирали и замораживали при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  1 мл для последующего хранения и одновременного определения серии проб. Для определения гомоцистеина в плазме крови использовали высокоэффективный жидкостный хроматограф (HPLC Agilent 1100, HP), содержащий 4-канальный градиентный насос, термостат колонок, автосамплер и детектор флуоресценции. Разделение осуществляли на колонке Диасорб 130 C16T, 3x250 мм, 7 мкм. Подвижная фаза: 0,1 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 17 мМ  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , pH 3,65, 40 мг/л ЭДТА, 3% ацетонитрила. Скорость потока 0,6 мл/мин, температура колонки  $30^{\circ}\text{C}$ . Детектирование осуществлялось по флуоресценции (379/510 нм). Аминотиолы плазмы крови восстанавливали с помощью трис-(2-карбоксиитил)-фосфина (ТСЕР) с последующей дериватизацией 7-флюоробензо-2-оксо-1,3-диазол-4-сульфонатом аммония (SBD-F). В качестве внутреннего стандарта использовали N-ацетил цистеин (NAC). Регистрация хроматограмм и их количественная обработка осуществлялись с помощью Agilent ChemStation A10.01 (HP, US) [32-34].

### **Статистическая обработка**

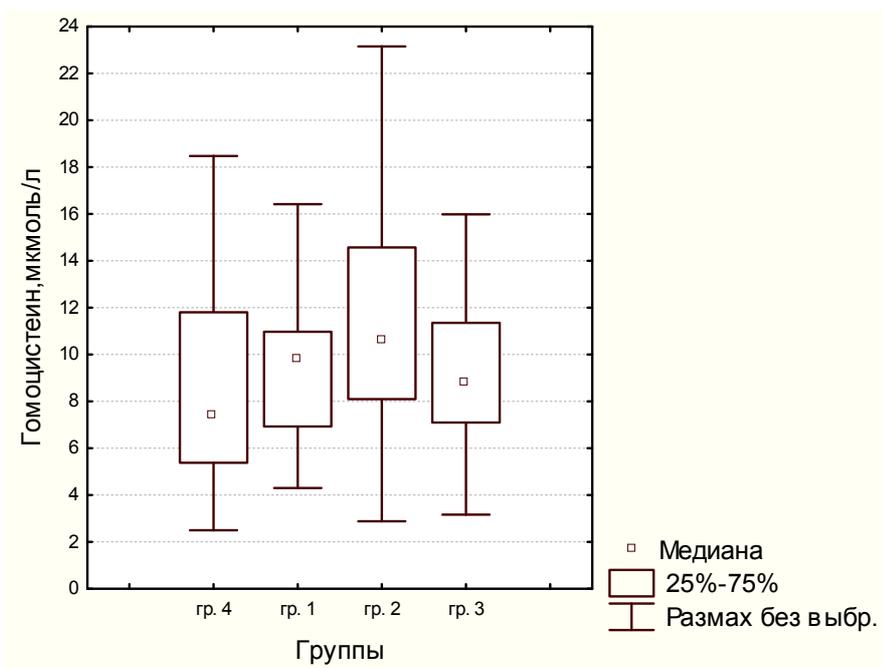
Большинство данных обрабатывалось непараметрическими методами с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0. Количественные данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (между 25 и 75 процентилями), качественные данные в виде абсолютных и относительных частот. Для оценки значимости различий количественных параметров между двумя независимыми выборками использовали критерий Манна-Уитни, между двумя связанными выборками – критерий Уилкоксона. При оценке достоверности различий частоты качественных показателей применяли двухсторонний точный критерий Фишера. Для выявления связи признаков проводили корреляционный анализ на основании критерия Спирмена. Для выявления диаг-

ностического значения изучаемых параметров рассчитывали ОШ, 95% ДИ для него и операционные характеристики метода (чувствительность, специфичность, предсказательная ценность положительного и отрицательного результатов, диагностическая эффективность).

### 1.3 Результаты и обсуждение

#### 1.3.1 Уровень гомоцистеина в плазме крови у больных ХСН

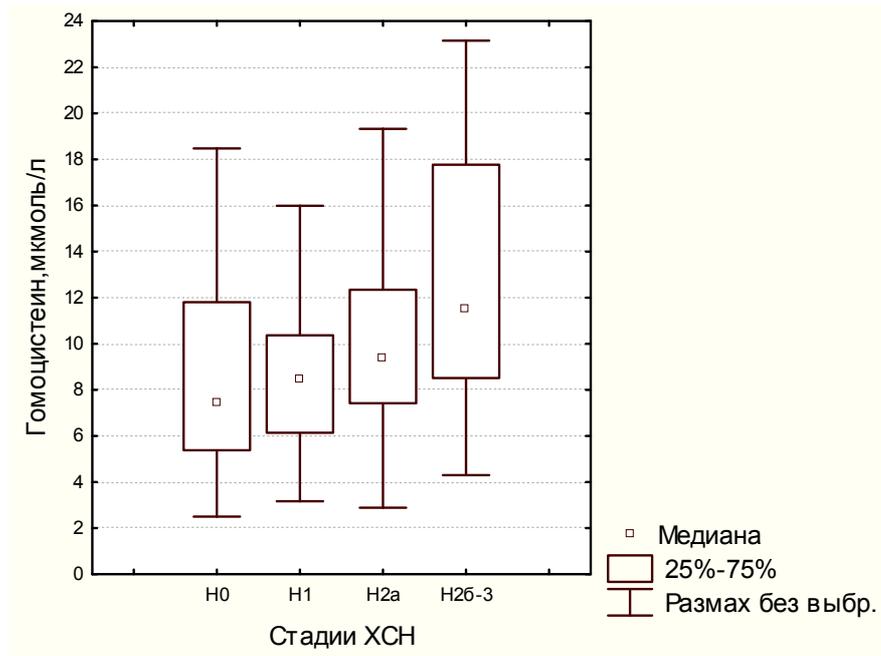
Показатели уровня Нсу в исследуемых группах отражены на рисунке 1.1



**Рисунок 1.1 – Показатели уровня Нсу в плазме крови в исследуемых группах больных**

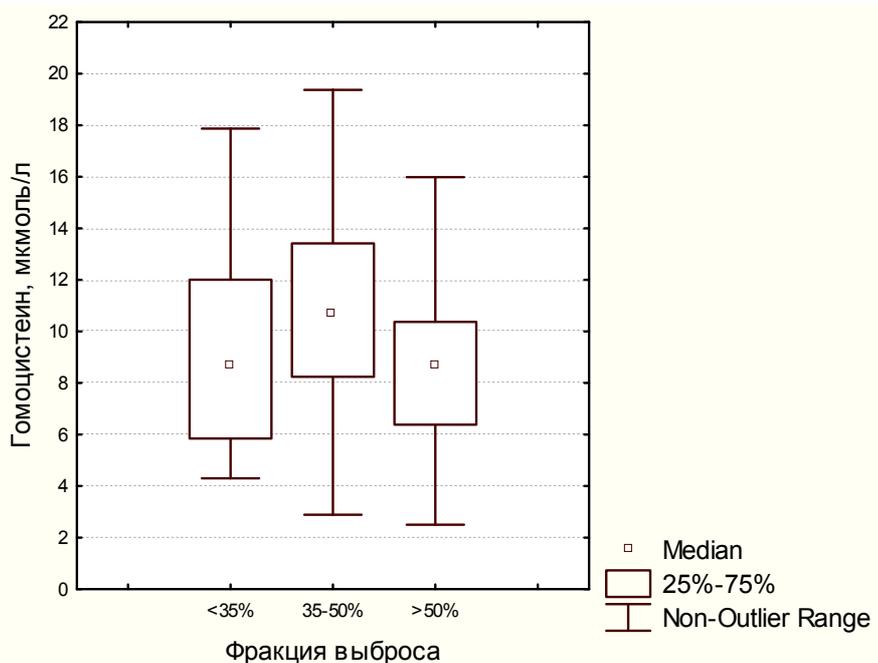
В результате анализа исходных данных получили, что уровень общего Нсу в группе 2 составил 10,6(8,1-14,6) мкмоль/л, что значимо ( $p < 0,05$ ) выше, чем в группе 4 – 7,4(5,4-11,8) мкмоль/л. В 1-й и 3-й группах значения Нсу не различались и составили: 9,8(6,9-10,98) и 8,79(7,1-11,4) мкмоль/л (рис. 1.1).

Уровень общего Нсу достоверно выше у больных с 2б-3 стадией ХСН – 11,5(8,5-17,8) мкмоль/л по сравнению с 1, 2а и 0 стадиями: 8,5(6,1-10,4), ( $p < 0,01$ ); 9,4(7,4-12,3), ( $p < 0,005$ ) и 7,4(5,4-11,8), ( $p < 0,05$ ) мкмоль/л, соответственно. Полученные данные говорят о взаимосвязи уровня Нсу в плазме крови со степенью тяжести ХСН (рис. 1.2).



**Рисунок 1.2 – Уровень Нсу в плазме крови в исследуемых группах больных в зависимости от стадии ХСН**

При сравнении значений Нсу в зависимости от фракции выброса левого желудочка (ФВ лж) установлено, что у больных с ФВ лж 35-50% уровень биомаркера выше – 10,7(8,2-13,8) мкмоль/л по сравнению с ФВ  $< 35\%$  и  $> 50\%$  – 8,7(5,8-12,0) и 8,7(6,4-10,4) мкмоль/л ( $p < 0,01$ ), соответственно (рис. 1.3).



**Рисунок 1.3 – Уровень Нсу в плазме крови в исследуемых группах в зависимости от величины ФВ лж**

На основе анализа определено, что уровень  $\text{Hcy} > 10,7$  мкмоль/л (соответствует значению верхней квантили) ассоциировался с ФВ лж  $< 50\%$ : ОШ 4,7(95% ДИ от 1,3 до 8,5),  $p < 0,05$ ;  $\chi^2$  15,2, ( $p < 0,0001$ ).

Установлена связь между уровнем общего Нсу в плазме крови и ФВ лж ( $r = -0,26$ , ( $p < 0,01$ )) и с отдельными показателями внутрисердечной гемодинамики: КСО лж ( $r = 0,65$ ), КСД лж ( $r = 0,24$ ), КДД лж ( $r = 0,22$ ) и ЛП ( $r = 0,25$ ) ( $p < 0,05$ ). В группе 2 просматривалась сильная ассоциация между уровнем Нсу и КДД ( $r = -0,52$ ,  $p = 0,002$ ) и наличием ишемии миокарда ( $r = 0,68$ ,  $p = 0,013$ ), а в группе 3 между уровнем Нсу и QTd ( $r = 0,57$ ,  $p = 0,033$ ).

### **1.3.2 Взаимосвязь между уровнями гомоцистеина и желудочковыми нарушениями ритма у больных ХСН**

Характер взаимосвязи уровня гомоцистеина с частотой развития ЖНР изучен у 125 пациентов с ХСН с различной степенью недостаточности кровообращения (группа 1) и у 18 больных – группа сравнения с отсутствием признаков ХСН (группа 2).

Были определены значения гомоцистеина соответствующие верхнему и нижнему квартилям для всей выборки и значения биомаркера, соответствующие верхнему и нижнему квартилям, определенные только для группы 2 (таблица 1.2).

Таблица 1.2 – Значения Нсу, соответствующие верхнему и нижнему квартилям, определенные для всей выборки и для группы 2

Биомаркер	Для всей выборки		По пациентам без ХСН (гр. 2)	
	нижний квартиль	верхний квартиль	нижний квартиль	верхний квартиль
Гомоцистеин, мкмоль/л	6,78	11,98	5,28	10,8

Все больные – группы 1 и группы 2 – в зависимости от наличия или отсутствия у них при проведении холтеровского мониторирования ЭКГ (ХМЭКГ) хотя бы одного из нижеперечисленных ЖНР либо их сочетания: одиночные и монорморфные желудочковые экстрасистолы (ЖЭС) >30 в час, полиморфные ЖЭС, парные и групповые ЖЭС, пароксизмальная желудочковая тахикардия (ПЖТ) (3 подряд комплекса и более), были разделены на тех, у кого регистрировались вышеперечисленные ЖНР (87 больных) и на тех, у кого, по данным ХМЭКГ, данные типы нарушений сердечного ритма не регистрировались (38 больных).

Как показали наши исследования, уровень общего Нсу в плазме крови у больных, у которых регистрировались ЖНР, составил 11,84 (8,8-17,6) мкмоль/л против 9,16 (7,2-12,1) мкмоль/л у больных без ЖНР. При этом значения Нсу, несмотря на наличие тенденции к повышению, достоверно не различались.

Всех больных распределили по уровню общего Нсу, соответствующего верхней квартили, определенной для всей выборки, который составил 11,98 мкмоль/л (таблица 1.3). При распределении в исследуемых группах относительно указанного значения получили, что уровень Нсу >11,98 мкмоль/л в группе 1 составлял 23,1%, в группе 2 – 35,7%, в группе 3 – 23% и в группе сравнения – 16,7%, в группе 2 ко-

личество больных с уровнем  $Hcy > 11,98$  мкмоль/л значительно больше ( $p < 0,05$ ).

Нами было определено отношение шансов (ОШ) развития ЖНР по значению общего  $Hcy$ , соответствующего верхней квантили, определенной для всей выборки.

Таблица 1.3 – Распределение больных по уровню  $Hcy$  в зависимости от наличия или отсутствия ЖНР

Уровень гомоцистеина	Одно из желудочковых нарушений ритма		ЖЭС > 30 час		Парные, групповые ЖЭС	
	+	-	+	-	+	-
> 11,98 мкмоль/л	21	8	10	19	17	12
< 11,98 мкмоль/л	37	44	10	69	27	52

На основе анализа выявлено (табл. 1.3), что у больных со значением  $Hcy > 11,98$  мкмоль/л ОШ развития одного из видов ЖНР были в 3,1 раза выше, чем у больных со значениями  $Hcy < 11,98$  мкмоль/л: ОШ 3,1 (95% ДИ от 1,2 до 7,9),  $p < 0,05$ ;  $\chi^2$  6,1, ( $p < 0,01$ ), точный двухсторонний тест Фишера ( $p < 0,01$ ).

При анализе взаимосвязи отдельных видов ЖНР и уровня общего  $Hcy$  установлено, что у больных со значением  $Hcy > 11,98$  мкмоль/л ОШ для ЖЭС > 30 час в 3,6 раза выше, чем у больных со значениями  $Hcy < 11,98$  мкмоль/л: ОШ 3,6 (95% ДИ от 1,3 до 10,1),  $p < 0,05$ ;  $\chi^2$  6,69, ( $p < 0,01$ ), точный тест Фишера двухсторонний ( $p < 0,05$ ).

ОШ для парных и групповых ЖЭС составило: ОШ 2,7 (95% ДИ от 1,1 до 6,6),  $p < 0,05$ ;  $\chi^2$  5,24, ( $p < 0,05$ ), точный тест Фишера двухсторонний ( $p < 0,05$ ).

Для данной точки разделения  $Hcy$  в отношении развития любого из ЖНР чувствительность теста составила 36%, специфичность 85%. Прогностическая ценность положительного теста 0,75 (75%) и отрицательного теста 0,46 (36%).

В отношении парных и групповых ЖЭС чувствительность теста по-прежнему оставалась невысокой – 39%, специфичность достигала 82%, а прогностическая ценность по-

ложительного теста составила 0,62 и отрицательного теста 0,38.

Пациенты с уровнем общего Нсу в плазме крови, соответствующим верхней квантили, определенной для группы сравнения (10,8 мкмоль/л), составили 26,3% в группе 1, 37,4% – в группе 2, 28% – в группе 3 и 18,3% – в группе сравнения, достоверные различия сохранялись между группами ( $p < 0,05$ ). В таблице 1.4 показано распределение пациентов по уровню Нсу – 10,8 мкмоль/л, в зависимости от наличия или отсутствия ЖНР.

Таблица 1.4 – Распределение больных по уровню Нсу 10,8 мкмоль/л в зависимости от наличия или отсутствия ЖНР

Уровень гомоцистеина	Одно из желудочковых нарушений ритма		ЖЭС > 30 час		Парные, групповые ЖЭС	
	+	-	+	-	+	-
>10,8 мкмоль/л	21	9	10	20	17	13
<10,8 мкмоль/л	37	43	10	68	20	48

У больных со значением Нсу >10,8 мкмоль/л ОШ развития одного из ЖНР составило: ОШ 2,7 (95% ДИ от 1,1 до 6,7),  $p < 0,05$ ;  $\chi^2$  4,9, ( $p < 0,05$ ), точный двухсторонний тест Фишера ( $p < 0,05$ ). ОШ развития ЖЭС >30 час: ОШ 3,3 (95% ДИ от 1,3 до 9,4),  $p < 0,05$ ;  $\chi^2$  6,3, ( $p < 0,05$ ), точный тест Фишера двухсторонний ( $p < 0,05$ ). ОШ развития парных и групповых ЖЭС: ОШ 3,1 (95% ДИ от 1,3 до 7,7),  $p < 0,05$ ;  $\chi^2$  4,3, ( $p < 0,05$ ), точный тест Фишера двухсторонний ( $p < 0,05$ ).

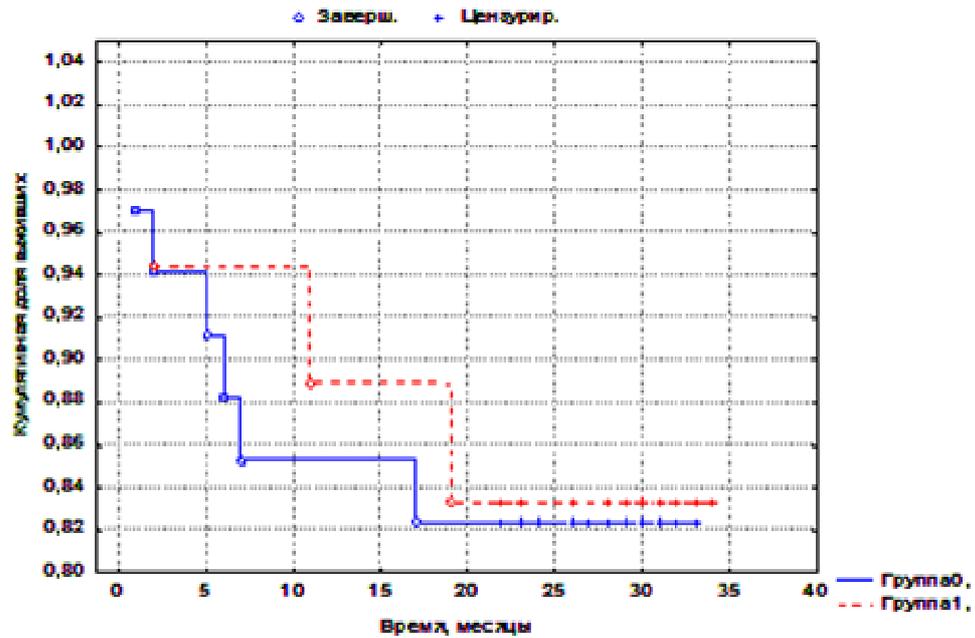
В то же время у больных с уровнем общего Нсу выше общепринятого верхнего референтного значения 15 мкмоль/л значимо чаще (точный двухсторонний тест Фишера) регистрировались ЖНР: ОШ 5,2 (95% ДИ от 1,1 до 25,4),  $p < 0,05$ .

По результатам корреляционного анализа получены ассоциации между уровнем общего Нсу в плазме крови и ЖНР ( $r = 0,21$ ,  $p < 0,05$ ). Одновременно получены значимые корреляции с классом ЖНР: ЖЭС >30 в час ( $r = 0,19$ ;  $p < 0,05$ ), парные

и групповые ЖЭС ( $r=0,23$ ;  $p<0,05$ ); полиморфные ЖЭС ( $r=0,60$ ;  $p<0,05$ ).

#### 1.4 Анализ выживаемости больных ХСН

Был проведен анализ выживаемости больных ХСН за 3-летний период. На момент опроса в группе 1 умерли 33,3% (9 из 27), в группе 2 – 19 % (8 из 43), в группе 3 – 8% (4 из 50). У больных ХСН смертность за период наблюдения составила 18,3% (21 из 120), или за год в среднем 5,8%. 3-годовая выживаемость оказалась значимо ( $p<0,05$ ) ниже в группе 1, чем в группах 2 и 3. Проведенный анализ исходных данных по влиянию на смертность больных ХСН выявил достоверные различия в показателях из числа изучавшихся у умерших за период наблюдения по сравнению с больными выжившими. Прогностическими факторами в отношении летального исхода оказались возраст, показатели ЭхоКГ, характеризующие систолическую функцию ЛЖ, величина ФВ лж; из многих временных и спектральных показателей ВСР, которые измерялись у больных ХСН, только VLF% достоверно различался у умерших по сравнению с выжившими пациентами, достоверным оказалось влияние на смертность величины Q-Td и исходного уровня ВНР. Кривые выживаемости пациентов различались в зависимости от наличия или отсутствия ПЖТ, парных ЖЭС и групповых ЖЭС. Уровень общего НСУ не был ассоциирован со смертностью. Кривая выживаемости пациентов с уровнем Нсу $>11,98$  мкмоль/л (значение верхней квантили, определенной для всей выборки) приближалась к кривой выживаемости пациентов с уровнем Нсу $<11,98$  мкмоль/л (рис. 1.1).



**Рисунок 1.1 – Кумулятивные кривые выживаемости (по методу Kaplan–Meier) больных с ХСН за 3-летний период с исходным уровнем Нсу выше и ниже 11,98 мкмоль/л**

Таким образом, выживаемость больных с уровнем Нсу  $> 11,98$  мкмоль/л не отличалась от таковой у больных с уровнем Нсу  $< 11,98$  мкмоль/л.

## 1.5 Выводы

Уровень общего НСУ у пациентов с ишемической кардиомиопатией значимо выше, чем у здоровых лиц. У больных с H2б-3 стадией ХСН уровень Нсу значимо выше, чем у пациентов с менее прогрессирующими стадиями. Уровень Нсу  $> 10,7$  мкмоль/л ассоциировался с ФВ лж  $< 50\%$ : ОШ 4,7(95%ДИ от 1,3 до 8,5),  $p < 0,05$ ;  $\chi^2$  15,2, ( $p < 0,0001$ ). Уровень содержания общего Нсу в плазме крови ассоциируется с вероятностью возникновения ЖНР. Получены достоверные корреляционные связи уровня Нсу в плазме крови с частотой ЖНР, а также степенью их тяжести. Уровень общего НСУ не был ассоциирован со смертностью.

### Литература

1. Refsum, H. Homocysteine and cardiovascular disease / H. Refsum, P.M. Ueland // *Annual Review of Medicine*. – 1998. – Vol. 49. – P. 31-62.
2. Fe'le'tou, M. Endothelial Dysfunction: a Multifaceted Disorder / M. Fe'le'tou, P.M. Vanhoutte // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2006. – Vol. 291. – P. H985-H1002.
3. Verhoef, P. Prospective studies of homocysteine and cardiovascular disease / P. Verhoef, M.J. Stampfer // *Nutr. Rev.* – 1995. – Vol. 53. – P. 283-288.
4. Majors, A. Homocysteine as a risk factor for vascular disease: enhanced collagen production and accumulation by smooth muscle cells / A. Majors, L.A. Ehrhart, E.H. Pezacka // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1997. – Vol. 17. – P. 2074-2081.
5. Hunt, M.J. Peroxisome proliferators compete and ameliorate Hcy-mediated endocardial endothelial cell activation / M.J. Hunt, S.C. Tyagi // *Am. J. Physiol. Cell.* – 2002. – Vol. 283. – P. 1073-1079.
6. Influence of homocysteine on matrix metalloproteinase-2: activation and activity / A. Bescond [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1999. – Vol. 263. – P. 498-503.
7. Stuhlinger, M.C. Endothelial dysfunction induced by hyperhomocysteinemia: role of ADMA / M.C. Stuhlinger [et al.] // *Circulation.* – 2003. – Vol. 108. – P. 933-938.
8. Harker, L.A. Homocysteine-induced arteriosclerosis: the role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis / L.A. Harker [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1976. – Vol. 58. – P. 731-741.
9. Malinow, M.R. Plasma homocyst(e)ine and arterial occlusive diseases: a mini-review / M.R. Malinow // *Clin. Chem.* – 1995. – Vol. 41. – P. 173-176.
10. McCully, K.S. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis / K.S. McCully // *Am. J. Pathol.* – 1969. – Vol. 56. – P. 111-128.
11. Nehler, M.R. Homocysteinemia as a risk factor for atherosclerosis: a review / M.R. Nehler, L.M.Jr. Taylor, J.M. Porter // *Cardiovasc. Surg.* – 1997. – Vol. 6. – P. 559-567.
12. Mujumdar, V.S. Induction of oxidative stress by homocyst(e)ine impairs endothelial function / V.S. Mujumdar, G.M. Aru, S.C. Tyagi // *J. Cell. Biochem.* – 2001. – Vol. 82. – P. 491-500.

13. Selhub, J. Homocysteine metabolism / J. Selhub // *Annu. Rev. Nutr.* – 1999. – Vol. 19. – P. 217-246.
14. Chambers, J.C. Plasma homocysteine concentrations and risk of coronary heart disease in UK, Indian Asian and European men / J.C. Chambers [et al.] // *Lancet.* – 2000. – Vol. 355. – P. 523-527.
15. Babusíková, E. Age-dependent effect of oxidative stress on cardiac sarcoplasmic reticulum vesicles / E. Babusíková [et al.] // *Physiol. Res.* – 2008. – Vol. 57, suppl. 2. – P. S49-S54
16. Hajjar, K.A. Homocysteine-induced modulation of tissue plasminogen activator binding to its endothelial cell membrane receptor / K.A. Hajjar // *J. Clin. Invest.* – 1993. – Vol. 91. – P. 2873-2879.
17. Парамонов, А.Д. Гипергомоцистеинемия и белки острой фазы при различных формах ишемической болезни сердца / А.Д. Парамонов [и др.] // *Тер. Архив.* – 2004. – Т. 76, № 6. – С. 67-70.
18. Nygard, O. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease / O. Nygard [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1997. – Vol. 337. – P. 230-236.
19. Gibelin, P. Prognostic value of homocysteinemia in patients with congestive heart failure / P. Gibelin [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2006. – Vol. 44, № 7. – P. 813-816.
20. Loscalzo, J. Homocysteine Trials – Clear Outcomes for Complex Reasons / J. Loscalzo // *N. Engl. J. Med.* – 2006. – Vol. 354, № 15. – P. 1629-1632.
21. May, H.T. Homocysteine levels are associated with increased risk of congestive heart failure in patients with and without coronary artery disease / H.T. May [et al.] // *Cardiology.* – 2007. – Vol. 107, № 3. – P. 178-184.
22. Vasan, R.S. Plasma Homocysteine and Risk for Congestive Heart Failure in Adults Without Prior Myocardial Infarction / R.S. Vasan [et al.] // *JAMA.* – 2003. – Vol. 289. – P. 1251-1257.
23. Cesari, M. Hyperhomocysteinemia Is Inversely Related With Left Ventricular Ejection Fraction and Predicts Cardiovascular Mortality in High-Risk Coronary Artery Disease Hypertensives / M. Cesari [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* – 2005. – Vol. 25. – P. 115-121.

24. Herrmann, M. Relationship of Plasma Homocysteine with the Severity of Chronic Heart Failure / M. Herrmann [et al.] // Clin. Chem. – 2005. – Vol. 51. – P. 1512-1515.

25. Hughes, W.M. Jr. Role of copper and homocysteine in pressure overload heart failure / W.M.Jr. Hughes [et al.] // Cardiovasc. Toxicol. – 2008. – Vol. 8, № 3. – P. 137-144.

26. Nasir, K. Elevated Homocysteine Is Associated With Reduced Regional Left Ventricular Function: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis / K. Nasir [et al.] // Circulation. – 2007. – Vol. 115. – P. 180-187.

27. Sundström, J. Relations of plasma homocysteine to left ventricular structure and function: the Framingham Heart Study / J. Sundström [et al.] // Eur. Heart J. – 2004. – Vol. 25, № 6. – P. 523-530.

28. Vizzard, E. Raised homocysteine plasma concentration in patients with heart failure: clinical significance / E. Vizzard [et al.] // Monaldi Arch. Chest Dis. – 2007. – Vol. 68, № 2. – P. 96-102.

29. Selhub, J. The many facets of hyperhomocysteinemia: studies from the Framingham cohorts // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 1726S-1730S.

30. Effects of elevated Homocysteine hormone on electrical activity in the human atrium: A simulation study / P. Law [et al.] // Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. – 2009. – Vol. 2009. – P. 3936-3939.

31. Hyperhomocysteinemia and sudden cardiac death: potential arrhythmogenic mechanisms / C. Maldonado [et al.] // Curr. Vasc. Pharmacol. – 2010. – Vol. 8, № 1. – P. 64-74.

32. Pfeiffer, C.M. Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homocysteine and cysteine in a clinical laboratory setting / C.M. Pfeiffer, D.L. Huff, E.W. Gunter // Clin. Chem. – 1999. – Vol. 45. – P. 290–292.

33. Nolin, T.D. Simultaneous determination of total homocysteine, cysteine, cysteinylglycine, and glutathione in human plasma by high-performance liquid chromatography: Application to studies of oxidative stress / T.D. Nolin, M.E. McMenamin, J. Himmelfarbac // J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. [Electronic resource]. – 2010. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1959569/>. – Date of access: 20.11.2010.

34. Наумов А.В., Дорошенко Е.М. Определение гомоцистеина методом ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией в микрообъёмах биологической жидкостей. // Сборник тезисов докладов Республиканской научной конференции по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ – 2010», Минск, 14-15 мая 2010 г. – С. 138.

## Глава 2

# МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ, ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ И УПРУГО-ЭЛАСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОБЩЕЙ СОННОЙ АРТЕРИИ В ПОСТИНФАРКТНОМ ПЕРИОДЕ

### 2.1 Введение и краткий литературный обзор

В настоящее время термин «дисфункция эндотелия» широко используется для обозначения любых форм нарушений активности эндотелия сосудов. Доказано, что дисфункция эндотелия (ДЭ) вносит вклад в развитие ишемической болезни сердца (ИБС), артериальной гипертензии (АГ), хронической сердечной недостаточности (ХСН), сахарного диабета (СД), патологии периферических артерий, а также увеличивает риск осложнений при данных заболеваниях [1, 2, 3].

Ранние стадии атеросклероза нередко сопровождаются появлением бессимптомных структурно-функциональных изменений артериальной стенки, что проявляется, прежде всего, нарушением эластических свойств магистральных артерий [4], что рассматривается как один из количественных критериев, определяющих смертность от сердечно-сосудистых заболеваний [2, 5]. Изменение эластичности сосудов адекватно отражает дисбаланс эндотелиальной системы и процессы ремоделирования стенок сосудов. Показатели состояния эндотелия, определяемые методом реактивной гиперемии, и эластичность артерий функционально взаимосвязаны [2, 6].

Повышенный уровень гомоцистеина (НСУ) по совершенно различным патологическим механизмам вызывает развитие ДЭ и повышение артериальной жесткости [7, 8, 9, 10].

Перспективные и патогенетически обоснованные направления терапии ИБС путем коррекции ДЭ используются в качестве первичной и вторичной профилактики [11]. Это означает, что успешная антиангинальная и гипотензивная тера-

пия без коррекции ДЭ не может считаться полностью решенной задачей. Выбор лекарственного препарата должен проводиться не только на основе его гиполипидемического или гипотензивного эффекта, но и с учетом его влияния на улучшение эластических свойств аорты и магистральных артерий [12, 13].

Применение фолиевой кислоты (ФК) прежде всего связано с ее способностью снижать концентрации НСУ в крови. Чрезвычайно интересной оказалась способность ФК влиять на функциональное состояние эндотелия. Е-NOS конвертирует L-аргинин в цитруллин с высвобождением NO. Эта реакция нуждается в тетрагидробиоптерине (ВН4) и НАДФН в качестве эссенциальных кофакторов [14]. Еще в 1998 г. ученые сообщили, что N<sup>5</sup>-метил-ТНФ восстанавливает функцию эндотелия при наследственной гиперхолестеринемии (ГХС) [15] и у больных с ГХС, принимающих статины. В дальнейшем был показан прямой эффект N<sup>5</sup>-метил-ТНФ на ферментативную активность как рекомбинантной eNOS, так и в культуре эндотелиоцитов. *In vitro* N<sup>5</sup>-метил-ТНФ, а также ВН4 и птероилмоноглутамат снижали НСУ-индуцированный подъем внутриклеточного супероксида, но у больных ИБС функция эндотелия улучшалась без влияния на антиоксидантный фон и не коррелировала со снижением НСУ [16]. Еще одна группа исследователей продемонстрировала, что N<sup>5</sup>-метил-ТНФ улучшает эндотелий-зависимую вазодилатацию (ЭЗВД) и снижает продукцию супероксида в сосудах *in vitro* и *in vivo* [17]. Однако эти эффекты не могли быть объяснены только способностью N<sup>5</sup>-метил-ТНФ связывать супероксид *in vitro* и понижать НСУ *in vivo*. Была показана способность N<sup>5</sup>-метил-ТНФ напрямую связывать пероксинитрит, повышать ВН4 и коэффициент отношения ВН4 к общему биоптерину в сосудах, предотвращать оксидацию ВН4 и повышать активность eNOS [17]. Далее было выявлено, что ВН4 может восстанавливаться из своей окисленной формы с участием дигидрофолатредуктазы. В ответ на воздействие ангиотензина II на эндотелиоциты повышается активность Nox и выработка H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, что приводит к снижению экспрессии дигидрофолатредуктазы и, как следствие, к недостаточности ВН4 и снижению ак-

тивности eNOS [18, 19]. Дефицит ФТ может усиливать эффект других факторов риска (ННСУ, различный МТГФР-генотип), а также уменьшать способность антиоксидантной терапии защищать от генетических поломок, что убедительно продемонстрировано в плацебо-контролируемом исследовании по изучению влияния антиоксидантной терапии (Se, токоферол, каротин, витамин С) на окислительный стресс и хромосомные поломки у пациентов с различным МТГФР C677 генотипом [20]. Выявлена также способность больших доз ФК расширять коронарные сосуды у больных ИБС и улучшать аденозин-стимулированный миокардиальный кровоток по данным позитронно-эмиссионной томографии [21]. Высокие дозы ФК и витамина B<sub>6</sub> быстро приводят к нормализации функции эндотелия у детей с сахарным диабетом 1-го типа [22], а для развития ДЭ у новорожденных независимыми факторами риска являлись низкий вес при рождении и низкий уровень фолатов (ФТ) эритроцитов их матерей [23]. В рандомизированном исследовании с участием молодых пациентов, перенесших в недавнем прошлом ИМ и характеризующихся высоким уровнем СУ плазмы выявлено, что снижение концентраций НСУ ассоциируется со значительным улучшением эндотелиальной функции вне зависимости от антиоксидантной активности плазмы [24].

Результаты клинических исследований о влиянии ФК на функциональное состояние эндотелия у различных категорий больных и здоровых добровольцев довольно противоречивы. Так, установлено, что применение ФК в дозе 10 мг в сутки в течение 6 недель значительно улучшало ЭЗВД плечевой артерии (ПА) у больных ИМ [25], прием ФК в дозе 3 мг в сутки в течение 12 недель [26] или 5 мг в сутки в течение 8 недель [27] также улучшил ЭЗВД ПА у больных ИБС. Однако, по данным других исследовательских групп, прием 5 мг ФК в сутки на протяжении 12 недель не оказывал значительного влияния на ЭЗВД ПА, суммарное содержание нитратов и нитритов и концентрацию fVW у больных ИБС [28]. Назначение пациентам с атеросклерозом периферических артерий 10 мг ФК ежедневно на протяжении 8 недель также не повлияло на степень ЭЗВД [29]. У больных инсультом через 4

года эффект приема 2 мг ФК в сочетании с 25 мг пиридоксина и 0,5 мг кобаламина на ЭЗВД ПА достоверно не отличался от плацебо [30]. Только в группе больных атеросклерозом, принимавших 800 мкг ФК в составе витаминно-минерального комплекса, ЭЗВД ПА значительно улучшилась по сравнению с приемом 1600 мкг или плацебо [31].

Результаты исследований по влиянию фолатотерапии на другой суррогатный маркер атеросклероза: толщину комплекса интима-медиа (КИМ), – также неоднозначны. Применение 2,5 мг ФК в сочетании с 25 мг витамина В<sub>6</sub> и 0,5 мг витамина В<sub>12</sub> на протяжении 1 года у пациентов с толщиной КИМ общей сонной артерии (ОСА) больше 1 мм привело к уменьшению КИМ с 1,5 мм до 1,42 мм в группе витаминотерапии и к увеличению с 1,47 до 1,54 мм ( $p=0,019$  в группе получавших плацебо) [32]. Результатом приема 5 мг ФК в течение 18 мес. явилось уменьшение толщины КИМ с 0,96 до 0,93 мм наряду с утолщением до 0,98 мм в группе плацебо [33], после трансплантации почки [34], у пациентов с хронической почечной недостаточностью [35, 36], замедление прогрессирования субклинического атеросклероза у здоровых лиц с уровнем НСУ  $\geq 9,1$  мкмоль/л без значительного изменения с меньшей концентрацией плазменного НСУ [37]. По данным других авторов, 3-летняя терапия больных ИБС ФК в дозе 2,5 мг в сутки по сравнению с плацебо не привела к значимым изменениям, однако наблюдалась тенденция к уменьшению толщины КИМ у пациентов с МТГФР 677ТТ мутацией [38].

Мета-анализ 22 исследований свидетельствует о позитивном влиянии фолатотерапии на функциональное состояние эндотелия больных ИБС (1,9%; 0,4-3,4% 95% доверительный интервал ДИ) и СД (3,5%; 2,3-4,7% 95% ДИ), проведенной высокими дозами ФК на протяжении короткого периода времени (до 8-12 недель), и об отсутствии значимого влияния в группах больных хронической почечной недостаточностью и здоровых добровольцев с ННСУ, а также при более длительных сроках наблюдения [30].

Удивителен тот факт, что исследования, проведенные с использованием низких дозировок ФК, достаточных для эф-

фективного снижения гомоцистеинемии, оказались крайне немногочисленны, и, в основном, с участием здоровых добровольцев. Так, при исходно нормальной функции эндотелия у здоровых добровольцев оптимизация поступления ФТ с пищей или низкодозовая терапия (400 мкг в сутки) снижала уровень НСУ, но не увеличивала ЭЗВД [39]. Результаты исследований с участием больных ИБС оказались противоречивыми. По одним данным, сочетанный прием 400 мкг ФК, 2 мг пиридоксина на протяжении 4 недель позволил нормализовать уровень НСУ и улучшить ЭЗВД ПА у больных ИБС [40]. Однако сравнительное применение 400 мкг и 5 мг ФК в сутки на протяжении 6 недель значительно улучшило функцию эндотелия пациентов с ИБС только во 2-й группе. В исследовании Г.И. Сидоренко и др. достигнута высокая степень эффективности витаминного комплекса, содержащего 200-400 мкг ФК в коррекции ННСУ, показателей вазомоторной функции эндотелия и гемостазиограммы у больных стенозирующим коронарным атеросклерозом [41]. Это получает подтверждение в исследовании нарушения сосудистой функции у больных ИБС в стадии подготовки к реваскуляризации, у которых применение низких доз ФК (400 мкг в сутки) в течение 7 недель выявило значительный положительный эффект на ЭЗВД, скорость распространения пульсовой волны (СПВ) и артериальную жесткость *in vivo* и *in vitro*, что было опосредовано эффектом фолацина на eNOS и окислительный стресс в эндотелии [42]. Важно подчеркнуть, что в данном исследовании эффекты фолатотерапии, как и накопление N<sup>5</sup>-метил-ТНФ в оболочке артерии, оказались практически идентичными при дозе 400 мкг и 5 мг. Это позволило предположить, что лечение низкими дозами ФК, эквивалентными обогащенной фолатами диетой, повышает внутрисосудистую концентрацию N<sup>5</sup>-метил-ТНФ и индуцирует максимальное улучшение сосудистой функции [42]. Верхний порог безопасности потребления ФК составляет 1000 мкг в сутки. Максимально допустимым в процессе длительного приема уровнем потребления ФК и пиридоксина являются 600 мкг и 6 мг в сутки, соответственно [43, 44].

В доступной литературе мы не встретили исследований, посвященных эффективности длительной низкодозовой гомоцистеинснижающей терапии ФК, основанных на комплексной оценке влияния на функциональное состояние эндотелия и упруго-эластические свойства сосудистой стенки у больных ИБС с перенесенным ИМ.

Целью нашего исследования было повышение эффективности комплексной патогенетической терапии больных ИБС с перенесенным инфарктом миокарда путем коррекции дисфункции эндотелия, артериальной жесткости и микронутриентного дефицита организма.

## **2.2 Материал и методы исследования**

Для выполнения поставленных задач организовано проспективное контролируемое рандомизированное клиническое исследование открытым методом [45]. Под нашим наблюдением находился 161 человек, в том числе 116 больных ИБС, перенесших ИМ (105 мужчин и 11 женщин) и 45 практически здоровых лиц. Средний возраст больных ИБС составил 50 (6,84) лет. 97 человек перенесли крупноочаговый (Q – ИМ), 19 – мелкоочаговый ИМ (не Q – ИМ), у 77 (66%) пациентов диагностирован ИМ передней стенки, у 38 (33%) – задней стенки левого желудочка. 85 больных (73%) были обследованы через 1 месяц от начала ИМ. Остальные обследованные (31 человек – 27%) наблюдались с постинфарктным кардиосклерозом (ПИКЗ) с давностью ИМ от 0,6 до 3-х лет. У 84 пациентов (72%) ИБС сопутствовала артериальная гипертензия (АГ) I-II степени (по классификации РБ, 2006). Диагноз ИМ выставлялся на основании жалоб, анамнеза, данных объективного обследования в сочетании с повышением титра основных маркеров некроза миокарда (тропонин Т, КФК-МВ, миоглобина, АСТ, АЛТ), ЭКГ критериями инфаркта миокарда и ЭХО-КГ признаками нарушения локальной сократимости левого желудочка.

Критерии включения в группу обследованных больных ИБС:

- наличие перенесенного не ранее 1-го месяца назад острого ИМ или ПИКЗ;

- возраст 40-60 лет;
- период постменопаузы у женщин.

Критериями исключения из исследования были: возникновение периинфарктной стенокардии, наличие АГ III ст., ХСН выше N1 по Василенко-Стражеско и ФК II по NYHA, фибрилляции предсердий, СД, хронической обструктивной болезни легких, хронической почечной недостаточности и анемического синдрома, обострения язвенной болезни желудка и/или 12-перстной кишки, а также прием мультивитаминных и антиоксидантных препаратов в течение 2-х предшествующих месяцев, предполагаемая низкая приверженность пациентов к лечению или отказ от участия в исследовании.

Контрольную группу составили 45 практически здоровых лиц в возрасте 49 (7) лет с отсутствием клиники ИБС, ишемических изменений на ЭКГ покоя, атеросклеротических бляшек в ОСА при ультразвуковом исследовании, отрицательной пробой при проведении велоэргометрии. Среди них было 37 мужчин (82%) и 8 женщин (18%) с отсутствием указаний на заболевания респираторной, сердечно-сосудистой системы, хронические заболевания желудочно-кишечного тракта и эндокринной системы.

Первичной конечной точкой исследования являлась оценка эффективности комбинированного применения функционально связанных витаминов в дополнение к стандартной патогенетической терапии, ее влияние на показатели вазомоторной функции эндотелия ПА, упруго-эластические свойства ОСА на фоне клинического течения заболевания, вторичной – изменение биохимических показателей уровней ФТ, НСУ плазмы крови.

Выполнялись лабораторные исследования: общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови на глюкозу, калий, креатинин, АСТ, АЛТ, коагулограмма высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ), исследовался липидный состав плазмы крови. Определение фолатина и НСУ в плазме крови проводилось в группе аналитической биохимии ЦНИЛ УО «ГрГМУ». В одно и то же время всем лицам проводились: запись ЭКГ покоя, ультразвуковое эхосканирова-

ние с доплерографией общих сонных артерий и плечевой артерии с проведением пробы на реактивную гиперемия.

2 основные и 1 контрольная группы были сформированы случайным образом. Все группы оказались полностью сопоставимы, так как статистически значимо не различались по возрасту, полу, локализации ИМ, частоте включения больных с ИМ и ПИКЗ, АГ, отягощенной наследственностью, курением, индексом массы тела, уровням вчСРБ, фибриногена, АСТ, АЛТ, показателям липидограммы и наличию гиперхолестеринемии, уровням ФТ, НСУ плазмы крови, частоте развития гипергомоцистеинемии (ННСУ) ( $p > 0,05$  для всех показателей). Не было различий по исходному функциональному состоянию сосудов: степени эндотелий-зависимой вазодилатации (ЭЗВД) и константе чувствительности эндотелия к напряжению «сдвига» (КЧЭНС) ПА, частоте развития ДЭ и «парадоксальной» вазоконстрикторной реакции (ПВ), а также КИМ ОСА и значениям коэффициентов растяжимости (КР), эластичности (КЭ) и упругости (КУ) ( $p > 0,05$  для всех параметров).

В стационаре все больные ИМ получали антиангинальную и гипотензивную, антитромботическую терапию с применением иАПФ,  $\beta$ -адреноблокаторов, ацетилсалициловой кислоты, нитратов/молсидомина (по требованию). 80% больных непродолжительно (2-3,5 недели) получали статины (ловастатин) в дозировке 20 мг в сутки.

На амбулаторном этапе пациенты 1-й группы (группа сравнения,  $n=28$ ) в течение 6 месяцев получали в качестве базисной терапии иАПФ эналаприл в суточной дозе 10-20 мг,  $\beta$ -блокатор атенолол в дозе 25-50 мг в сутки, ацетилсалициловую кислоту (75 мг/сутки) и нитраты (по требованию). 2-я группа ( $n=29$ ) в дополнение к базисной терапии в течение 6 месяцев получала 500 мкг ФК в сутки. Пациенты 3-й группы ( $n=32$ ) в дополнение к базисной терапии в течение 6 месяцев принимали 300 мкг ФК и 5 мг пиридоксина.

Согласно протоколу исследования, через 1 месяц были обследованы по 12 случайно выбранных пациентов из 1-й и 2-й групп лечения. Через 6 месяцев были повторно обследованы все пациенты.

При изучении функции эндотелия использовалась проба с реактивной гиперемией с применением ультразвука высокого разрешения по методике, описанной D. Celermajer [46]. Перед оценкой функционального состояния эндотелия пациентам отменялись вазоактивные препараты за 48 часов. Исследование проводилось в положении пациента лежа после отдыха в течение 10 мин. Линейный датчик ультразвуковой системы Philips P700 располагали на расстоянии 2-5 см выше локтевого сгиба и локализовали плечевую артерию в продольном сечении. Измеряли диаметр (d) ПА (расстояние между проксимальным и дистальным по отношению к датчику доплеровскими сигналами), максимальную линейную (S) и конечную диастолическую (D) скорость артериального кровотока по ней строго в одном и том же месте. Дистальнее изучаемого сосуда пациентам накладывали манжетку для измерения артериального давления. Затем в манжетке на 5 мин. нагнетали давление, на 40-50 мм рт. ст. превышающее систолическое. Сразу после декомпрессии манжетки в течение 15 секунд определяли скорость кровотока, и в течение 60 секунд – диаметр. Реакцию на усиление кровотока, то есть эндотелий-зависимую вазодилатацию (ЭЗВД), рассчитывали как разницу диаметра на фоне реактивной гиперемии и исходного уровня по формуле:

$$\text{ЭЗВД}=(d - d_0)*100/d_0,$$

где  $d_0$  – исходный диаметр ПА,  $d$  – диаметр ПА при РГ.

Нормальной реакцией плечевой артерии (ПА) принято считать ее расширение на фоне реактивной гиперемии на 10% и более. Меньшая степень вазодилатации, или «парадоксальная» вазоконстрикция (ПА), является патологической и свидетельствует о наличии дисфункции эндотелия (ДЭ). Кроме того, по методике, предложенной О.В. Ивановой [47], были рассчитаны показатели напряжения сдвига на эндотелии по формулам:

$$\tau=4*\eta*S/d,$$

где  $\tau$  – чувствительность ПА к напряжению «сдвига» на эндотелии,  $\eta$  – вязкость крови (в среднем 0,05 Пз),  $S$  – максимальная линейная скорость кровотока,  $d$  – диаметр ПА, и

$$KЧЭНС=(\Delta d/d_0)/(\Delta\tau/\tau_0),$$

где КЧЭНС – константа чувствительности эндотелия к напряжению «сдвига» на эндотелии,  $\Delta d/d_0$  – относительное изменение диаметра ПА,  $\Delta\tau/\tau_0$  – изменение напряжения «сдвига» на эндотелии.

Чем выше показатель КЧЭНС, тем лучше чувствительность ПА к напряжению «сдвига».

Изучение сонных артерий проводилось при положении обследуемого лежа на спине, под голову подкладывался небольшой валик, голова несколько отклонялась в противоположную сторону, подбородок приподнимался вверх. Использовался линейный датчик с частотой сканирования 4-10 МГц, частотой доплеровского исследования 7,5 МГц. Исследование ОСА начиналось с ее визуализации в поперечном сечении. Датчик ставился в области переднего края грудиноключично-сосцевидной мышцы над ключицей и постепенно перемещался вверх вдоль сосуда до бифуркации, которая, как правило, соответствует уровню верхнего края щитовидного хряща. Из аналогичного доступа проводилось исследование артерии в продольной плоскости. Визуализация ОСА во второй продольной плоскости производилась по заднему краю грудино-ключично-сосцевидной мышцы.

При исследовании в В-режиме в дистальной части ОСА определялась толщина комплекса интима-медиа (КИМ) ОСА, представляющего собой расстояние от внутреннего края интимы (обращенного в просвет сосуда) до наружного края меди. В качестве нормы экспертами Европейского общества по АГ и Европейского общества кардиологов в 2007 г. выбраны значения толщины стенки  $< 0,9$  мм, утолщение КИМ 0,9-1,3 мм, а критерием бляшки обозначен КИМ, равный 1,3 мм. При их анализе учитывались размер, локализация, форма, структура, эхогенность. Размер определяется вручную при помощи электронного штангенциркуля.

Основными количественными параметрами доплеровского режима являются:

1) пиковая систолическая скорость (S, кГц, м/с) – максимальная линейная скорость в систолу;

2) конечно-диастолическая скорость ( $D$ , кгц, м/с) – максимальная скорость в конце диастолы.

С точки зрения механики, важное значение имеет определение не только толщины КИМ, но и КР, который соотносит изменение площади ОСА при изменении АД к исходной площади сосуда, а также КЭ, который показывает, на сколько изменяется площадь ОСА при повышении АД на 1 мм рт. ст. КР и КЭ характеризуют пульсационный и циркуляторный стресс артериальной стенки и отражают изменение буферной функции ОСА. Расчет КУ, характеризующего эластичность артерии на единицу ее толщины, позволяет выявить основное звено, определяющее снижение растяжимости ОСА. Этот параметр может зависеть не только от толщины КИМ, но и от повышения жесткости ОСА или комбинации этих факторов. Вышеуказанные параметры рассчитывались по следующим формулам:

$$КР = (\Delta A/A)/\Delta P,$$

где КР – коэффициент растяжимости,  $A$  – площадь поперечного сечения артерии,  $\Delta A$  – изменение площади поперечного сечения при данном изменении АД,  $\Delta P$  – изменение АД,

$$КЭ = \Delta A/\Delta P,$$

где КЭ – коэффициент эластичности,  $\Delta A$  – изменение площади поперечного сечения при данном изменении АД,  $\Delta P$  – изменение АД.

Коэффициент упругости ( $KУ \times 10^{-5} \text{Н/м}^2$ ) рассчитывался по формуле:

$$KУ = \frac{\Delta P}{\Delta d_n} \times \frac{2d_n \times d_v^2 \times (1 - \zeta^2)}{d_n^2 - d_v^2}$$

где КУ – коэффициент упругости,  $\Delta P$  – изменение артериального давления,  $d_n$  и  $d_v$  – соответственно, наружный и внутренний диаметры артерии,  $\Delta d_n$  – изменение наружного диаметра,  $\zeta$  – коэффициент Пуассона (для артерий человека он равен 0,5).

Наружный и внутренний диаметры артерий измерялись при ультразвуковом исследовании в М-режиме. Наружный диаметр артерии определялся как сумма внутреннего диаметра и ширины КИМ. Значения всех параметров приводились к системе СИ. Перевод значений АД в систему СИ проводился из расчета  $1 \text{ мм рт.ст.} = 133,3 \text{ Н/м}^2$ .

Статистический анализ полученных данных проводился с помощью программного обеспечения STATISTICA 5.5, StatSoft Corp., США. Значения изучаемых показателей представлены в виде среднего арифметического значения (M) и среднего квадратичного (стандартного) отклонения (SD), а особо асимметричные вариационные ряды – дополнительно в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала [25-й; 75-й процентиля]. Применялись непараметрические методы статистики: сравнение двух независимых групп проводилось путем проверки статистических гипотез с применением непараметрического U критерия Манна-Уитни, а трех и более – ANOVA по Краскелу-Уоллису (H) с последующим парным сравнением по Манну-Уитни. Для сравнения двух зависимых групп использовался T критерий Вилкоксона. Для сравнения групп по качественному признаку использовался  $\chi^2$  Пирсона, по бинарному признаку – точный критерий Фишера. Проводился ранговый корреляционный анализ по Спирмену. Достоверность различий в группах была принята при уровне статистической значимости  $p < 0,05$  [45].

## 2.3 Результаты

### 2.3.1 Показатели функционального состояния эндотелия плечевой артерии и жесткости общей сонной артерии у здоровых лиц

Результаты ультразвукового исследования ПА и пробы с реактивной гиперемией представлены в таблице 2.1.

Медиана основного показателя вазомоторной функции эндотелия – степень ЭЗВД ПА, составила 11,9%, а медиана константы чувствительности эндотелия к напряжению сдвига КЧЭНС – 0,358 у.е.

Таблица 2.1 – Результаты ультразвукового исследования ПА и пробы с реактивной гиперемией практически здоровых лиц

Показатели	Среднее значение, n=45	Стандартное отклонение	Нижний квартиль	Верхний квартиль
$\Delta\tau/\tau_0$ , %	28	28	5	43
d ПА исх., мм	3,78	0,68	3,30	4,20
d ПА на РГ, мм	4,28	0,71	3,60	4,90
ЭЗВД ПА%	12,82	4,35	10,1	15,9
КЧЭНС, у.е.	0,373	0,202	0,242	0,538
ПВ, n (%)	2 (4,44%)	-	-	-
ДЭ, n (%)	8 (18%)	-	-	-

ЭЗВД у здоровых лиц была сохранена у 82% человек, ДЭ выявлена у 18% обследованных, преимущественно в виде недостаточной вазодилатации, и у 2-х человек (4,44%) – в виде «парадоксальной» вазоконстрикции – у курильщиков с повышенным весом.

Результаты ультразвукового исследования ОСА и значения расчетных показателей жесткости представлены в таблице 2.2.

Таблица 2.2 – Результаты ультразвукового исследования ОСА и ее упруго-эластических свойств у практически здоровых лиц

Показатели	Среднее значение, n=45	Стандартное отклонение	Нижний квартиль	Верхний квартиль
d, мм	6,2	0,8	5,75	6,60
КИМ, мм	0,68	0,18	0,60	0,75
КЭ, мм <sup>2</sup> /мм рт. ст.	0,170	0,067	0,131	0,216
КР, мм рт. ст. <sup>-1</sup>	0,0056	0,0022	0,0045	0,0062
КУ, *10 <sup>5</sup> Н/м <sup>2</sup>	4,683	3,308	3,089	4,648

Утолщение КИМ свыше 0,9 мм зарегистрировано у 5 (11%) обследованных, у 2-х из которых также выявлена ДЭ.

При проведении корреляционного анализа в группе практически здоровых лиц между изучаемыми функциональными показателями и биохимическими параметрами, а также некоторыми факторами риска ИБС были выявлены статистически значимые корреляции между уровнем систолического

АД (САД) и возрастом ( $r=0,39$   $p=0,007$ ), индексом массы тела (ИМТ), ( $r=0,33$   $p=0,032$ ), избыточной массой тела ( $r=0,39$   $p=0,01$ ) и толщиной КИМ ОСА ( $r=0,40$   $p<0,001$ ). Аналогичные закономерности найдены для уровня диастолического АД (ДАД) и возраста ( $r=0,31$   $p=0,035$ ), ИМТ ( $r=0,39$   $p=0,01$ ), толщины КИМ ( $r=0,47$   $p=0,002$ ).

Таким образом, выявлена тенденция к повышению АД с возрастом, а также у лиц с избыточной массой тела. У здоровых лиц отмечено снижение скоростных потоков в ОСА с возрастом, о чем свидетельствовала обратная корреляция с S ( $r=-0,52$   $p<0,001$ ), D ( $r=-0,36$   $p=0,01$ ). Выявлена корреляция средней силы между возрастом обследованных лиц и толщиной КИМ ОСА и ( $r=0,60$   $p<0,001$ ), КР ( $r=-0,44$   $p=0,004$ ) и КЭ ( $r=-0,37$   $p=0,015$ ), а также между толщиной КИМ и ИМТ ( $r=0,45$   $p=0,003$ ), уровнем вчСРБ ( $r=0,35$   $p=0,029$ ) и степенью ЭЗВД ПА ( $r=-0,50$   $p=0,001$ ). Это свидетельствовало об ухудшении вазомоторной функции с ростом толщины КИМ и наличии выраженной взаимосвязи функционального состояния эндотелия и упруго-эластических свойств сосудистой стенки, что соответствует данным отечественных наблюдений [48]. У здоровых лиц найдена обратная корреляция между исходным диаметром ПА и относительным его приростом при проведении пробы с РГ ( $r=-0,46$   $p=0,002$ ), что также соответствует данным других авторов.

Таким образом, полученные результаты изучаемых показателей ультразвукового исследования ПА и ОСА, оценки функционального состояния эндотелия и расчетных показателей, отражающих упруго-эластические свойства ОСА, а также найденные корреляционные закономерности сопоставимы с данными для здоровых лиц данной возрастной группы, полученными другими авторами [48].

Результаты процентильного анализа содержания ФТ, НСУ в плазме крови практически здоровых лиц представлены в таблице 2.3.

Таблица 2.3 – Результаты процентильного анализа содержания ФТ, НСУ в плазме крови больных ИБС с перенесенным ИМ

Показатель	Процентили									Референ. величины
	3	5	10	25	50	75	90	95	97	
ФТ, нмоль/л	4	4	5	7	9	13	19,4	24,2	25	10-14
НСУ, мкмоль/л	7	7,36	8,05	9,79	12	14,1	17,34	18,18	18,8	8-10

Это указывает, что у 25% обследованных практически здоровых лиц фолатный статус оценивается как неоптимальный.

### 2.3.2 Сравнительная характеристика функционального состояния эндотелия плечевой артерии и жесткости общей сонной артерии у больных ИБС с перенесенным ИМ и у практически здоровых лиц

Как следует из таблицы 2.4, обследованные больные ИБС с перенесенным ИМ статистически значимо отличались от группы практически здоровых лиц по скоростным характеристикам кровотока в ПА и ОСА.

ДЭ выявлена у 90% обследованных больных, у 85 (73%) человек – в виде недостаточной ЭЗВД ПА, которая в среднем составила 4,62% (в 2,8 раза меньше, чем в группе здорового контроля), и у 20 человек (17%) – в виде вазоспастической реакции.

Толщина КИМ ОСА больных ИБС в 1,4 раза превышала аналогичный показатель у здоровых лиц, утолщение КИМ свыше 0,9 мм выявлено у 66 (57%) больных ИБС ( $p < 0,001$  по сравнению со здоровыми), КЭ и КР оказались в 2 и в 2,2 раза меньше, соответственно, а величина КУ – в 1,6 раза больше.

Таким образом, у обследованных больных ИБС с перенесенным ИМ наблюдалось выраженное нарушение функционального состояния эндотелия ПА и показателей резистентности ОСА.

Таблица 2.4 – Результаты ультразвукового исследования функционального состояния сосудов у больных ИБС и у практически здоровых лиц

Показатели	Здоровые лица, n=45		Больные ИБС с перенесенным ИМ, n=116		p
	М	SD	М	SD	
$\Delta\tau/\tau_0$ , %	28	28	65	47	<0,001*
d ПА исх., мм	3,78	0,68	3,94	0,52	0,11
d ПА на РГ, мм	4,28	0,71	4,11	0,52	0,25
ЭЗВД ПА%	12,82	4,35	4,62	3,55	<0,001*
	11,90 [10,13;15,95]		4,54 [2,41;6,67]		
КЧЭНС ПА, у.е.	0,373	0,202	0,118	0,146	<0,001*
	0,357 [0,242;0,538]		0,068 [0,0325;0,148]		
ПВ, n (%)	2 (4,44%)	-	20 (17%)	-	p1=0,040*
ДЭ, n (%)	8 (18%)	-	105(90%)	-	p1<0,001*
d ОСА, мм	6,2	0,8	6,5	0,8	0,091
КИМ ОСА, мм	0,68	0,18	0,97	0,25	<0,001*
	0,65 [0,60;0,75]		0,95 [0,8;1,125]		
КЭ ОСА, мм <sup>2</sup> /мм рт. ст.	0,170	0,067	0,084	0,045	<0,001*
	0,161 [0,131;0,216]		0,077 [0,051;0,104]		
КР ОСА, мм рт. ст. <sup>-1</sup>	0,0056	0,0022	0,0026	0,0015	<0,001*
	0,0054 [0,0045;0,0062]		0,0022 [0,0016;0,0035]		
КУ ОСА, *10 <sup>5</sup> Н/м <sup>2</sup>	4,683	3,308	7,626	3,820	<0,001*
	3,877 [3,089;4,648]		7,168 [4,787;9,952]		

Примечания:

1. \* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки, p<0,05
2. p – вероятность ошибки для критерия Манна-Уитни
3. p1 – вероятность ошибки для точного критерия Фишера

### 2.3.3 Изучение взаимосвязи основных показателей функционального состояния эндотелия плечевой артерии и жесткости общей сонной артерии с биохимическими параметрами фолатного, липидного обмена у больных ИБС с перенесенным инфарктом миокарда

При проведении анализа взаимосвязи были выявлены статистически значимые корреляции, отражавшие адаптивные изменения в сосудистой стенке, например, увеличение диаметра ОСА и толщины КИМ, а также компенсаторное снижение скоростных потоков в ОСА с возрастом, наличием избыточной массы тела или развитием АГ (таблица 2.5).

Таблица 2.5 – Коэффициенты корреляций изучаемых функциональных и биохимических показателей, а также некоторых факторов риска у больных ИБС с перенесенным ИМ

Коррелированные показатели	r	p	Коррелированные показатели	r	p
Диаметр ПА и ЭЗВД ПА	-0,42	<0,001	Диаметр ОСА и возраст	0,28	0,002
ЭЗВД и КЧЭНС	0,65	<0,001	Диаметр ОСА и ИМТ	0,32	<0,001
Диаметры ПА и ОСА	0,38	<0,001	Диаметр ОСА и АГ	0,27	0,004
ХС ЛПОНП и НСУ	0,27	0,014	Диаметр ПА и пол	-0,39	<0,001
ЭЗВД ПА и ФТ	0,26	0,005	КИМ ОСА и ФТ	-0,28	0,001
ЭЗВД ПА и НСУ	-0,30	<0,001	КИМ и НСУ	0,21	0,02
КЧЭНС и ФТ	0,23	0,014	КИМ ОСА и вчСРБ	0,26	0,003
КЧЭНС и НСУ	-0,27	0,003	КИМ ОСА и возраст	0,39	<0,001
ДЭ и ФТ	-0,19	0,045	КИМ ОСА и АГ	0,26	0,005
ДЭ и НСУ	0,23	0,014	КР и ФТ	0,22	0,017
ЭЗВД ПА и ХС ЛПВП	0,19	0,037	КР и вчСРБ	-0,19	0,042
ДЭ и ХС ЛПВП	-0,24	0,01	КР и АГ II ст.	-0,20	0,029
НСУ и ПВ	0,23	0,01	КЭ и ФТ	0,20	0,028
ЭЗВД ПА и ННСУ	-0,24	0,008	КЭ и АГ II ст.	-0,23	0,013
КЧЭНС и ННСУ	-0,19	0,036	КУ и ХС	0,21	0,031
ЭЗВД ПА и СРБ	-0,26	0,005	КУ и ФТ	-0,20	0,032
ФТ и НСУ	-0,47	<0,001	КУ и ИМТ >30	0,25	0,006
НСУ и наследственность	0,23	0,014	КУ и АГ II ст.	0,28	0,002
СРБ и ХС	0,23	0,01	САД и возраст	0,21	0,024
СРБ и фибриноген	0,39	0,004	САД и курение	-0,26	0,005
СРБ и курение	0,23	0,01	ДАД и НСУ	0,19	0,042
ХС ЛПВП и курение	-0,21	0,02	ДАД и курение	-0,24	0,01
ПИКЗ и курение	0,26	0,048	АГ и возраст	0,27	0,003
ТГ и ИМТ	0,20	0,03	Фибриноген и наследственность	0,39	0,003
ХС ЛПВП и ИМТ	-0,21	0,023	АЛТ и ПИКЗ	-0,25	0,007
ХС ЛПОНП и курение	0,27	0,016			

Примечание – p – вероятность ошибки для r критерия Спирмена

Эластические свойства ОСА ухудшались с развитием АГ, особенно II ст. Корреляция средней силы найдена между степенью ЭЗВД и КЧЭНС ( $r=0,65$   $p<0,001$ ), коэффициентом, характеризующим чувствительность ПА к напряжению сдвига на эндотелии. Эта величина определяет, насколько идеальна регуляция радиуса/диаметра артерии по напряжению

сдвига и зависит в основном от релаксирующих свойств сосуда. Необходимо отметить, что наличие положительной скорости в ПА в фазу диастолы прямо пропорционально коррелировало с лучшими значениями КЭ ОСА.

Выявлена ассоциация между традиционным фактором риска ИБС – курением, – и повышенной концентрацией атерогенной фракции ХС ЛПОНП, сниженным содержанием ХС ЛПВП, а также с маркером воспаления сосудистой стенки вчСРБ, уровень которого, в свою очередь, возрастал вместе с уровнем фибриногена. Отрицательная корреляция между степенью ЭЗВД ПА и уровнями вчСРБ ( $r=-0,26$   $p=0,005$ ) и положительная – с толщиной КИМ ОСА ( $r=0,26$ ;  $p=0,003$ ). Коэффициенты корреляций между показателями липидного обмена с функциональными параметрами сосудов оказались низкими, что может быть объяснено достаточно невысокими цифрами общего холестерина у обследованных больных в сравнении с другими исследованиями, а также тем, что большинство пациентов непродолжительно (2-4 недели) получали в стационаре гиполипидемическую терапию статинами.

У больных ИБС с перенесенным ИМ при первичном обследовании проведенная по всему массиву данных корреляция между уровнями ФТ и НСУ была достаточно выраженной ( $r=-0,47$ ,  $p<0,001$ ), однако корреляции уровня НСУ и основных показателей функционального состояния эндотелия оказались несколько ниже: для степени ЭЗВД  $r=-0,30$  ( $p=0,001$ ), для КЧЭНС  $r=-0,27$  ( $p=0,003$ ). Следует отметить наличие положительной ассоциации между уровнями гомоцистеинемии и наличием у больных ДЭ, а также частотой развития «парадоксальной» вазоконстрикторной реакции – самым выраженным нарушением функционального состояния эндотелия. Еще меньше оказались коэффициенты корреляции при сопоставлении уровня фолатемии и вышеуказанных показателей: для ЭЗВД  $r=0,26$  ( $p=0,005$ ), для КЧЭНС  $r=0,23$  ( $p=0,014$ ). Наличие ДЭ ассоциировалось с низкими уровнями ФТ, ХС ЛПВП и наличием ННСУ. Соотношение показателей упруго-эластических свойств ОСА с уровнями ФТ и НСУ выявило слабые корреляционные связи ( $r<0,25$ ), кроме КИМ ОСА и ФТ ( $r=-0,28$   $p=0,001$ ).

### 2.3.4 Функциональное состояние эндотелия плечевой артерии и упруго-эластические свойства общей сонной артерии у больных с перенесенным инфарктом миокарда в зависимости от различного фолатного статуса

Поскольку обследованные больные ИБС отличались от здоровых лиц по уровням НСУ и ФТ плазмы крови, а также с учетом высокой вариабельности использованных функциональных тестов и показателей статуса ФК, нами проведен дополнительный анализ зависимости показателей функционального состояния эндотелия и эластических свойств сосудов от уровня фолатемии, дифференцируя на 3 подгруппы в соответствии с тертилью содержания ФТ в плазме крови. Пациенты 3-х выделенных подгрупп оказались сопоставимы между собой, так как статистически значимо не отличались друг от друга по всем изученным и указанным в табл. 2.6 показателям. Подгруппы 1 и 3 различались только по уровню (ФТ [5,69 (1,19) и 17,71 (4,89)] нмоль/л), НСУ ([14,2 (3,39) и 10,45 (2,87)] мкмоль/л) и частоте развития ННСУ [36(41%) и 17 (20%)], ( $p < 0,001$ ).

При парном сравнении 1-й–3-й подгрупп пациентов выявлено, что в 3-й подгруппе с самыми высокими уровнями ФТ плазмы крови степень ЭЗВД ПА была в 1,4 раза, а КЧЭНС – в 2 раза выше, чем в 1-й подгруппе (таблица 2.6), что свидетельствует о лучшем функциональном состоянии эндотелия у больных ИБС с высоким фолатным статусом. Частота выявления ДЭ и вазоспастической реакции ПА также закономерно уменьшались от 1-й к 3-й подгруппе, хотя разница не достигла уровня статистической значимости. Количество больных с утолщением КИМ ОСА свыше 0,9 мм оказалось у 29 (74%) человек в 1-й подгруппе, у 21 (54%) – во 2-й и только у 16 (42%) – в 3-й ( $p = 0,018$ ). В 3-й подгруппе толщина КИМ ОСА оказалась в 1,3 раза меньше, чем в 1-й, КЭ в 1,4 раза превышал аналогичный в подгруппе с самым низким содержанием ФТ плазмы, КР – в 1,6 раза. КУ ОСА оказался достоверно ниже уже во 2-й подгруппе больных ИБС по сравнению с 1-й ( $p = 0,047$ ) без существенной динамики в 3-й подгруппе.

Таблица 2.6 – Результаты ультразвукового исследования функционального состояния сосудов у больных ИБС с различным содержанием ФТ плазмы

Показатели	Подгруппа 1, n=39		Подгруппа 2, n=39		Подгруппа 3, n=38		p
	М	SD	М	SD	М	SD	
$\Delta\tau/\tau_0$ ПА, %	71	49	64	47	62	49	0,41
d ПА исх., мм	4,0	0,41	3,8	0,53	3,9	0,62	0,44
d ПА на РГ, мм	4,2	0,44	4,0	0,54	4,1	0,62	0,67
ЭЗВД ПА%	3,65	3,113	4,69	3,44	5,57	3,89	0,024
	3,78[2,04;5,13]		4,65[2,25;7,21]		5,12[2,56;7,89]		*
КЧЭНС ПА, у.е.	0,099	0,143	0,107	0,113	0,148	0,177	0,041
	0,045[0,016;0,125]		0,074[0,035;0,142]		0,093[0,049;0,167]		*
ПВ, n (%)	9(23%)	-	7(18%)	-	4(10%)		p1=0,22
ДЭ, n (%)	37(95%)	-	37(95%)	-	31(81%)		p1=0,08
d ОСА, мм	0,67	0,08	0,64	0,09	0,63	0,07	0,1
КИМ ОСА, мм	1,072	0,228	0,950	0,228	0,893	0,253	0,001
	1,10[0,90;1,20]		0,95[0,75;1,075]		0,90[0,70;1,05]		*
КЭ, мм <sup>2</sup> /мм рт. ст.	0,074	0,042	0,086	0,042	0,094	0,051	0,034
	0,063[0,047;0,087]		0,080[0,053;0,113]		0,085[0,061;0,114]		*
КР, мм рт. ст. <sup>-1</sup>	0,0024	0,0015	0,0025	0,0011	0,0031	0,0017	0,022
	0,0018 [0,0014;0,003]		0,0022 [0,0017;0,003]		0,0028 [0,0019;0,0038]		*
КУ, *105Н/м <sup>2</sup>	8,699	4,123	7,205	3,787	6,930	3,475	0,040
	8,497 [5,786;11,071]		5,993 [4,833;8,592]		6,401 [4,282;8,803]		*

Примечания:

1. \* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$ ;
2. p – вероятность ошибки для критерия Манна-Уитни;
3. p1 – вероятность ошибки для точного критерия Фишера;
4. Me [25-й; 75-й процентиля] – медиана и интерквартильный интервал.

Проведенный анализ взаимосвязей в 1-й подгруппе пациентов с самым низким фолатным статусом (уровнем фолатемии меньше 7 нмоль/л) выявил статистически значимые корреляции средней силы между КЭ и наличием АГ ( $r=-0,34$   $p=0,03$ ). КУ прямо пропорционально коррелировал с ИМТ ( $r=0,42$   $p=0,007$ ). В 3-й подгруппе пациентов с относительно высоким уровнем фолатемии (более 13 нмоль/л) проявились известные факторы риска утолщения КИМ и нарушения эластических свойств ОСА: ассоциация КИМ и АГ ( $r=0,63$   $p<0,001$ ), КИМ и возраст ( $r=0,60$   $p<0,001$ ), КР и АГ ( $r=-0,34$   $p=0,04$ ), КР и курение ( $r=0,37$   $p=0,02$ ), КР и отягощенная наследственность ( $r=-0,35$   $p=0,004$ ), КУ и курение ( $r=-0,43$   $p=0,009$ ), а также обратно пропорциональная зависимость между КР и уровнем ХС ( $r=-0,42$   $p=0,009$ ), КЭ и ХС ( $r=-0,39$   $p=0,018$ ) и прямо пропорциональная между КУ и ХС ( $r=0,61$   $p<0,001$ ). Кроме того, обнаружена прямая корреляция между степенью ЭЗВД ПА и уровнем ХС ЛПВП ( $r=0,36$   $p=0,03$ ).

Таким образом, функциональное состояние эндотелия ПА и упруго-эластические свойства ОСА у больных ИБС с перенесенным ИМ оказались достоверно лучше у лиц с высоким уровнем фолатемии. У этой категории больных показатели вазомоторной функции эндотелия ПА и жесткости ОСА в большей степени соотносились с традиционными факторами риска ССЗ – возрастом, наличием АГ, дислипидемией, курением и избыточным весом. У пациентов с низкими уровнями ФТ плазмы крови ярче проявилась ассоциация с уровнем НСУ.

В следующей серии исследований мы разделили больных ИБС на 3 подгруппы в соответствии с тертилью содержания НСУ в плазме крови. Пациенты 3-х выделенных подгрупп оказались сопоставимы между собой, так как статистически значимо не отличались друг от друга по всем изученным показателям. Как следует из таблицы 2.7, 1-я–3-я подгруппы больных ИБС, разделенные по уровню НСУ плазмы, статистически значимо отличались по показателям вазомоторной функции эндотелия ПА. Степень ЭЗВД ПА в 1,9 раза ( $p=0,002$ ), а КЧЭНС ПА – в 2 раза ( $p<0,001$ ) больше в 1-й подгруппе с самым низким уровнем гомоцистеинемии

Таблица 2.7 – Результаты ультразвукового исследования функционального состояния сосудов у больных ИБС с различным содержанием гомоцистеина плазмы крови

Показатели	Подгруппа 1, n=39		Подгруппа 2, n=39		Подгруппа 3, n=38		p
	М	SD	М	SD	М	SD	
$\Delta\tau/\tau_0$ ПА, %	61	47	70	56	66	40	0,63
d ПА исх., мм	3,9	0,62	3,9	0,52	4,0	0,44	0,62
d ПА на РГ, мм	4,1	0,62	4,1	0,56	4,2	0,43	0,87
ЭЗВД ПА%	5,89	3,87	4,83	3,54	3,15	2,65	0,002*
	5,40 [2,44;7,89]		4,40 [2,44;7,89]		2,63 [0;5,13]		
КЧЭНС ПА, у.е.	0,159	0,175	0,117	0,128	0,077	0,122	<0,001*
	0,115 [0,049;0,181]		0,064 [0,034;0,164]		0,047 [0;0,083]		
ПВ, n (%)	3(8%)	-	6(15%)	-	11(28%)	-	-
ДЭ, n (%)	32(82%)	-	34(87%)	-	100%	-	-
d ОСА, мм	6,5	0,9	6,4	0,8	6,4	0,8	0,65
КИМ ОСА, мм	0,94	0,19	0,94	0,23	1,04	0,29	0,12
	0,95[0,85;1,05]		0,95[0,70;1,10]		1,05[0,80;1,30]		
КЭ <sub>2</sub> мм <sup>2</sup> /мм рг. ст.	0,093	0,048	0,082	0,052	0,078	0,035	0,19
	0,085 [0,057;0,113]		0,064 [0,043;0,110]		0,077 [0,052;0,094]		
КР, мм рг. ст. <sup>-1</sup>	0,0030	0,0016	0,0024	0,0014	0,0026	0,0015	0,18
	0,0027 [0,0019;0,0039]		0,0019 [0,0014;0,0029]		0,002 [0,0015;0,0035]		
КУ, *105Н/м <sup>2</sup>	6,944	3,617	8,620	4,674	7,332	2,8744	0,33
	5,807 [4,362;8,497]		7,652 [5,133;11,224]		7,152 [5,452;9,323]		

Примечания:

1. \* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$

2. p – вероятность ошибки для критерия Манна-Уитни

3. Me [25-й; 75-й процентиля] – медиана и интерквартильный интервал

(<9,8 мкмоль/л), чем в 3-й подгруппе. Даже во 2-й подгруппе степень ЭЗВД ПА оказалась статистически значимо выше, чем в 3-й ( $p=0,038$ ).

Следует отметить, что в 3-й подгруппе при превышении уровня НСУ в 13,2 мкмоль/л (верхняя тертиль) ДЭ была выявлена у всех больных ИБС с перенесенным ИМ. В 1-й подгруппе у 7 человек вазомоторная функция эндотелия была

сохранена ( $p=0,011$ ), а из 32 остальных – только у 3-х лиц наблюдалась ПВ, что значительно реже, чем в 3-й подгруппе ( $p=0,012$ ).

В группе больных ИБС, перенесших ИМ и имеющих признаки ДЭ, у пациентов с вазоспастической реакцией ПА уровень НСУ плазмы крови был достоверно выше, чем у больных с недостаточной вазодилатацией [13,9 (3,6) и 12,1 (3,1)] мкмоль/л, соответственно,  $p=0,028$ ).

Количество больных с превышением толщины КИМ ОСА в 0,9 мм в 1-й и 2-й подгруппах составило 21 (54%) человек, а в 3-й – 24 (62%) человека ( $p=0,77$ ). Среднее значение толщины КИМ ОСА в 3-й подгруппе больных имело тенденцию к повышению по сравнению с 1-й и 2-й. Наблюдалась тенденция к снижению КР и КЭ, а также к увеличению КУ во 2-й и 3-й подгруппах больных с концентрацией НСУ плазмы крови более 9,8 мкмоль/л (первая тертиль). При парном сравнении во 2-й подгруппе пациентов по сравнению с 1-й КР был в 1,3 выше ( $p=0,041$ ).

При сравнении показателей эластичности ОСА у больных ИБС с наиболее отличающимися уровнями гомоцистеинемии в соответствии с квартилью распределения НСУ плазмы крови было выявлено достоверное утолщение КИМ ОСА с 0,94 (0,20) мм,  $Me=0,95$  мм у лиц ( $n=29$ ) с уровнем НСУ менее 9,3 мкмоль/л до 1,10 (0,30) мм,  $Me=1,10$  мм у пациентов ( $n=29$ ) с уровнем НСУ свыше 14,1 мкмоль/л ( $p=0,034$ ). У этих же обследованных отличались КУ (6,104 (2,938),  $Me=5,620$  и 7,720 (2,712),  $Me=7,482 * 105Н/м^2$ , соответственно ( $p=0,039$ ).

Проведенный анализ взаимосвязей в 1-й подгруппе пациентов с уровнем НСУ плазмы крови меньше 9,8 мкмоль/л выявил статистически значимые корреляции средней силы между толщиной КИМ и наличием АГ ( $r=0,45$   $p=0,004$ ), возрастом ( $r=0,40$   $p=0,01$ ), а также между КР и ХС ( $r=-0,38$   $p=0,018$ ), КУ и ХС ( $r=0,50$   $p=0,001$ ), КУ и АГ ( $r=0,38$   $p=0,015$ ). В этой же подгруппе степень ЭЗВД обратно пропорционально коррелировала с уровнем вчСРБ ( $r=-0,49$   $p=0,001$ ).

В 3-й подгруппе пациентов с уровнем НСУ плазмы крови более 13,1 мкмоль/л выявлена корреляция уровня вчСРБ и

толщины КИМ ( $r=0,43$   $p=0,005$ ), КР ( $r=-0,44$   $p=0,006$ ) и КЭ ( $r=-0,40$   $p=0,01$ ). В этой подгруппе степень ЭЗВД ПА прямо пропорционально коррелировала с ХС ЛПВП ( $r=0,33$   $p=0,038$ ).

Итоговая оценка результатов исследования и расчет корреляций между биохимическими и функциональными показателями не подтверждает с достаточной степенью убедительности роль НСУ, как патогенетического фактора нарушения функции эндотелия и упруго-эластических свойств ОСА, скорее всего, в связи с тем, что мы не наблюдали выраженной ННСУ. Более значимым оказалось снижение уровня фолата у обследованных больных. Это дает основание предполагать, что изменения фолатного обмена с учетом многообразия функций коферментной формы ФК могут реализоваться в иных биохимических реакциях, помимо метаболизма метионина и НСУ. С некоторой долей условности можно высказать предположение, что степень выраженности ДЭ и нарушения эластичности сосудов в большей мере связана с нарушением фолатного статуса в целом, нежели с возникновением ННСУ, а НСУ можно отводить функцию маркера.

Результаты процентильного анализа содержания ФТ, НСУ в плазме крови больных ИБС с перенесенным ИМ представлены в таблице 2.8. Медианы уровней ФТ и НСУ характеризуется отличием от группы практически здоровых лиц. Умеренная ННСУ выявлена у 73% больных ИБС. Используя уровень НСУ плазмы в качестве функционального маркера фолатного статуса, с помощью регрессионного анализа мы вычислили минимальный уровень ФТ плазмы в 12,7 нмоль/л (11,5-13,8 95% ДИ), необходимый для поддержания «нормального» уровня НСУ, ниже которого НСУ имеет тенденцию к повышению свыше 10 мкмоль/л. В таком случае, количество больных ИБС с перенесенным ИМ и неоптимальным содержанием ФТ плазмы крови составило 82 (71%) человека. В общепопуляционных исследованиях предложены аналогичные критические уровни ФТ, составившие 8 нмоль/л для роста НСУ выше 14 мкмоль/л, 10 нмоль/л – при выполнении

Таблица 2.8 – Результаты процентильного анализа содержания ФТ, НСУ в плазме крови больных ИБС с перенесенным ИМ

Показатель	Процентили									Референ. величины
	3	5	10	25	50	75	90	95	97	
ФТ, нмоль/л	4	4	5	7	9	13	19,4	24,2	25	10-14
НСУ, мкмоль/л	7	7,36	8,05	9,79	12	14,1	17,34	18,18	18,8	8-10

нагрузочной пробы с метионином и фолатотерапии, и 15 нмоль/л [51].

В соответствии с задачами исследования мы провели сравнение эффективности 2-х схем применения ФК для коррекции фолатного статуса (в том числе ННСУ) и изучение показателей биодоступности фолацина и пиридоксина у больных ИБС с перенесенным ИМ. Для оценки патогенетической значимости уровня ФТ плазмы крови и ННСУ, как факторов риска, указанные показатели сопоставляли с параметрами функционального состояния эндотелия ПА и резистентности ОСА.

### 2.3.5 Влияние патогенетической терапии на клиническое течение ИБС у больных с перенесенным инфарктом миокарда

Результаты 1-6-месячной терапии у больных ИБС с использованием стандартной антиангинальной и гипотензивной терапии показали хорошую переносимость данной комбинации пациентами на всем протяжении наблюдения и отсутствие серьезных побочных эффектов.

Для оценки клинического течения ИБС в постинфарктном периоде были выделены следующие критерии: стабильное течение ИБС сопровождалось снижением частоты и ослаблением приступов стенокардии, отсутствием стенокардии покоя, уменьшением потребности в приеме нитратов пролонгированного действия и нитроглицерина, способностью выполнять физические нагрузки, характерные для II-III функционального класса стабильной стенокардии напряжения. Критериями дестабилизации состояния были учащение и усиление приступов стенокардии напряжения, появление

приступов в покое и ночью, снижение толерантности к физическим нагрузкам, увеличение количества потребляемого нитроглицерина и потребности в нитратах длительного действия, необходимость повторной госпитализации с диагнозом «нестабильная стенокардия» и внутривенного введения нитратов. Следует отметить, что указанные критерии клинического течения ИБС основаны на жалобах больных, следовательно, на субъективной оценке своего состояния. Оценка динамики тяжести сердечной недостаточности не входила в задачи исследования из-за ограничения в физической активности больных на момент первичного обследования, а при физикальном осмотре степень ХСН не выходила за пределы N1 по Василенко-Стражеско и ФК II по NYHA.

Согласно критериям исключения из исследования, в него не вошли пациенты в возрасте старше 60 лет, имеющие серьезные хронические сопутствующие заболевания, с длительным анамнезом ИБС и наличием АГ III степени. Поэтому течение ИБС после перенесенного ИМ на протяжении 6 месяцев после первичного обследования протекало стабильно у 91% больных (таблица 2.9) во всех сформированных группах, число зафиксированных эпизодов дестабилизации статистически значимо не отличалось во всех группах больных ИБС ( $p > 0,05$  для всех вариантов сравнения).

Таблица 2.9 – Исходы течения ИБС в исследуемых группах на амбулаторном этапе наблюдения

Этап наблюдения	Клиническое течение	1 группа, n=28	2 группа, n=29	3 группа, n=32
1 месяц амбулаторного наблюдения	Дестабилизация	0%	0%	0%
	Стабилизация	12 (100%)	12 (100%)	12 (100%)
6 месяцев амбулаторного наблюдения	Дестабилизация	5(18%)	3(10%)	3(9%)
	Стабилизация	23(82%)	26(90%)	29(91%)

### 2.3.6 Влияние базисной терапии на функциональное состояние эндотелия, упруго-эластические свойства общей сонной артерии и динамику биохимических показателей у больных ИБС с перенесенным инфарктом миокарда

Результаты ультразвукового обследования ПА и пробы с РГ не выявили существенных различий по сравнению с исходными данными. Под влиянием проводимой терапии степень ЭЗВД ПА изменилась в среднем с 4,35 (2,89)% до 4,48 (3,77),  $p=0,86$ . Медиана КЧЭНС сместилась с 0,093 [0,035;0,189] у. е. до 0,116 [0,050;0,271] у. е., что также оказалось статистически незначимо ( $p=0,43$ ). ДЭ выявлена у 10 больных в виде недостаточной вазодилатации ПА и у одного – в виде ПВ.

Результаты влияния базисной терапии на функциональное состояние эндотелия через 6 месяцев лечения представлены в таблице 2.10, из которой следует, что в группе сравнения все представленные в таблице показатели статистически значимо не отличались в динамике.

Таблица 2.10 – Динамика показателей ультразвукового исследования ПА и пробы с РГ в 1-й группе через 6 месяцев

Показатели	Исходно, n=28		Через 6 месяцев, n=28		p	Здоровые лица, n=45	
	M	SD	M	SD		M	SD
S, кГц	1,75*	0,65	1,73*	0,43	0,97	1,98	0,54
D, кГц	0,074	0,115	0,078	0,106	0,99	0,078	0,105
S РГ, кГц	2,95	0,92	2,75	0,89	0,16	2,79	0,70
D РГ, кГц	0,69*	0,51	0,59*	0,41	0,07	0,42	0,40
Прирост S, %	79*	55	60	44	0,41	45	33
$\Delta\tau/\tau_0$ , %	68*	55	54*	43	0,51	28	28
d исх., мм	3,95	0,54	4,03	0,53	0,03**	3,78	0,68
d на РГ, мм	4,12	0,57	4,20	0,57	0,08	4,28	0,71
ЭЗВД, %	4,60*	3,36	4,10*	3,37	0,45	12,82	4,35
	4,65[2,44;5,74]		4,45[1,70;5,22]			11,90[10,13;15,95]	
КЧЭНС, у.е.	0,143*	0,194	0,154*	0,182	0,77	0,373	0,202
	0,067[0,035;0,163]		0,099[0,029;0,216]			0,357[0,242;0,538]	

Примечания:

- \* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p<0,05$  по сравнению со здоровым контролем
- \*\* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p<0,05$
- p – вероятность ошибки для критерия Вилкоксона
- Me [25-й; 75-й перцентили] – медиана и интерквартильный интервал

Некоторый прирост ЭЗВД и КЧЭНС отмечен у 43% пациентов, однако частота выявления ДЭ (89%) и ПВ (14%) у больных с перенесенным ИМ достоверно не снизилась ( $p=0,62$ ).

Это, по-видимому, связано с низкой тканевой специфичностью эналаприла и недостаточной селективностью ателолола, используемых в протоколе лечения, и согласуется с мнением других авторов, по данным которых применение эналаприла не позволяет эффективно улучшить функциональное состояние эндотелия у больных ИБС, АГ, ХСН и СД [1, 52, 53-57].

Некоторое положительное влияние этих препаратов на функцию эндотелия прежде всего связано с их гипотензивным эффектом.

Под влиянием проводимой терапии в течение 1 месяца у 12 повторно обследованных больных ИБС 1-й группы не произошло статистически-значимых изменений показателей УЗИ и параметров жесткости ОСА. Значения измерений толщины КИМ ОСА составили 1,03 (0,20) и 1,03 (0,19) мм, соответственно ( $p=0,59$ ). Средние расчетные величины КР оказались 0,0019 (0,0006) мм рт. ст. исходно и 0,0017 (0,0005) мм рт. ст. повторно ( $p=0,84$ ). Медины КЭ составили 0,056 мм<sup>2</sup> /мм рт. ст. ( $p=0,25$ ). Медиана КУ несколько сместилась вниз с 8,705 до 8,272 \*10<sup>5</sup>Н/м<sup>2</sup> ( $p=0,39$ ). Таким образом, применение базисной терапии в течение 1 месяца не оказало существенного влияния на жесткость ОСА.

Как видно из таблицы 2.11, под влиянием базисной терапии в течение 6 месяцев показатели УЗИ и доплерографии ОСА, такие как скоростные потоки, диаметр и толщина КИМ ОСА ( $p=0,074$ ), достоверно не изменились. Произошло улучшение буферной функции ОСА в виде достоверного увеличения КР в среднем на 20% ( $p=0,021$ ) и КЭ – на 32% ( $p=0,017$ ), что привело к снижению пульсового давления и постнагрузки на сердце, и препятствовало развитию гипертрофии и ремоделирования левого желудочка.

Однако жесткость артерии, характеризующаяся КУ, снизилась недостоверно ( $p=0,14$ ). В сравнении со здоровыми обследованными у больных, перенесших ИМ, через 6 меся-

Таблица 2.11 – Динамика показателей ультразвукового исследования функционального состояния ОСА в 1-й группе через 6 месяцев

Показатели	Исходно, n=28		Через 6 месяцев, n=28		p	Здоровые лица, n=45	
	M	SD	M	SD		M	SD
САД, мм рт.ст.	128	16	133*	16	0,06	124	13
ДАД, мм рт.ст.	82	10	84	8	0,23	80	8
S, кГц	1,80*	0,46	1,72*	0,40	0,25	2,30	0,66
D, кГц	0,52*	0,12	0,60*	0,33	0,80	0,61	0,14
RI	0,70*	0,06	0,75	0,19	0,07	0,73	0,053
d, мм	6,67*	0,80	6,75*	0,85	0,97	6,2	0,8
КИМ, мм	1,01*	0,20	0,97*	0,22	0,07	0,68	0,18
	1,05[0,90;1,125]		0,95[0,85;1,10]			0,65[0,60;0,75]	
КЭ, мм <sup>2</sup> / мм рт. ст.	0,073 *	0,048	0,096*	0,059	0,017 *	0,170	0,067
	0,062 [0,045;0,085]		0,079 [0,053;0,134]			0,161 [0,131;0,216]	
КР, мм рт. ст. <sup>-1</sup>	0,002 4*	0,0018	0,0029*	0,0020	0,021 *	0,0056	0,0022
	0,0019[0,0014;0,0024]		0,0022[0,0016;0,0036]			0,0054[0,0045;0,0062]	
КУ, *10 <sup>5</sup> Н/м <sup>2</sup>	8,497 *	2,681	7,912*	3,949	0,14	4,683	3,308
	8,497 [6,973;10,424]		7,612 [4,680;10,713]			3,877 [3,089;4,648]	

Примечания:

1. \* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$  по сравнению со здоровым контролем;
2. \*\* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$ ;
3. p – вероятность ошибки для критерия Вилкоксона;
4. Me [25-й; 75-й процентиля] – медиана и интерквартильный интервал.

цев проводимой базисной терапии сохранялись выраженные нарушения упруго-эластических свойств ОСА в виде высокодостоверного ( $p < 0,001$ ) утолщения КИМ, в 1,7 раза снижения КЭ ( $p < 0,001$ ), двукратного снижения КР ( $p < 0,001$ ) и увеличения КУ в 1,7 раза ( $p < 0,001$ ). Невыраженная динамика КУ может быть объяснена тем, что этот показатель в наибольшей степени зависит от толщины КИМ и жесткости артерии (наличия склеротических изменений и замещения гладкомы-

шечных клеток в средней оболочке), которые в небольшой степени изменились в процессе лечения. Кроме того, при повторном обследовании значения САД были достоверно выше, чем у здоровых лиц, что, конечно, сказалось на уменьшении разницы систолического и диастолического диаметров ОСА. Улучшение буферной функции ОСА, по видимому, вызвано длительной гипотензивной терапией эналаприлом и атенололом, то есть устранением патологического влияния хронического повышения АД на артериальную стенку.

Динамика изучаемых биохимических показателей свидетельствует, что через 6 месяцев базисной терапии уровень общего холестерина практически не изменился ( $p=0,78$ ). Несколько улучшился липидный спектр крови в виде увеличения ХС ЛПВП на 8%,  $p=0,02$  и снижения ТГ на 19%,  $p<0,001$ . Это могло стать следствием модификации образа жизни и коррекции питания после перенесенного ИМ, поскольку больные не принимали регулярной гиполипидемической терапии. В результате лечения активность АЛТ снизилась до 0,60 (0,27),  $p=0,01$ , но активность ферментов все еще превышала таковую в группе здорового контроля ( $p=0,016$  и  $p<0,001$  для АСТ и АЛТ, соответственно).

Уровень ФТ плазмы крови достоверно не изменился ( $p=0,89$ ) и составил 11,81 (6,35) нмоль/л, показатель гомоцистеинемии также не претерпел значительных изменений ( $p=0,43$ ) и достиг 12,38 (4,76) мкмоль/л. Частота ННСУ практически не колебалась ( $p=1,0$ ), уровень НСУ свыше 10 мкмоль/л выявлялся у 65% обследованных больных ИБС, что значительно превышало этот показатель у здоровых лиц ( $p=0,015$ ). *Следовательно, наличие неоптимального фолатного статуса осталось устойчивым в течение длительного периода времени.*

Проведенный корреляционный анализ в 1-й группе выявил статистически значимые связи между уровнями ФТ и НСУ при повторном обследовании ( $r=-0,55$   $p=0,002$ ), что подтверждает функциональную связь этих показателей и корреляцию исходных и повторных концентраций НСУ в плазме крови ( $r=0,69$   $p<0,001$ ), что свидетельствует о стойкости с течением времени нарушений метаболизма НСУ.

Таким образом, шестимесячное наблюдение за группой сравнения свидетельствует об отсутствии значимого улучшения фолатного и липидного статуса больных ИБС в постинфарктном периоде под влиянием стандартной базисной терапии и указывает на возможность совместного объединения в группы наблюдения пациентов, перенесших ОИМ не менее 1 месяца назад.

### **2.3.7 Влияние патогенетической терапии с включением фолиевой кислоты в дозе 500 мкг в сутки на функциональное состояние эндотелия, упруго-эластические свойства общей сонной артерии и динамику биохимических показателей у больных ИБС с перенесенным инфарктом миокарда**

Результаты ультразвукового обследования ПА и пробы с РГ не выявили существенных различий по сравнению с исходными данными. По влиянием проводимой терапии степень ЭЗВД ПА изменилась в среднем с 5,76 (3,79)% до 6,05 (3,85),  $p=0,73$ . Медиана КЧЭНС сместилась с 0,079 [0,036;0,194] у.е. до 0,166 [0,048;0,332] у.е., что также оказалось статистически незначимо ( $p=0,13$ ). ДЭ выявлена у 8 больных в виде недостаточной вазодилатации ПА и у одного – в виде ПВ.

Таким образом, применение базисной терапии с включением фолиевой кислоты в дозе 500 мкг в сутки на протяжении 1 месяца не привело к улучшению вазомоторной функции эндотелия у больных ИБС с перенесенным ИМ.

Результаты влияния комплексной терапии на функциональное состояние эндотелия через 6 месяцев лечения представлены в таблице 2.12.

Наряду с изменением диаметра ПА при реактивной гиперемии ( $p<0,001$ ) степень ЭЗВД в среднем увеличилась, однако не достигла уровня статистической значимости ( $p=0,097$ ).

Медиана КЧЭНС достоверно сместилась с 0,073 у.е. до 0,156 у.е. ( $p=0,014$ ). Степень ЭЗВД и КЧЭНС не достигли показателей группы контроля ( $p<0,001$ ), однако улучшение функции эндотелия в виде прироста ЭЗВД наблюдалось у 15 повторно обследованных больных ИБС (50%), а ДЭ выявлена

Таблица 2.12 – Динамика показателей ультразвукового исследования ПА и пробы с РГ во 2-й группе через 6 месяцев

Показатели	Исходно, n=29		Через 6 месяцев, n=29		p	Здоровые лица, n=45	
	M	SD	M	SD		M	SD
S, кГц	1,82	0,49	1,90	0,61	0,83	1,98	0,54
D, кГц	0,064	0,099	0,109	0,13	0,20	0,078	0,105
S РГ, кГц	3,07*	0,74	2,69	0,67	0,09	2,79	0,70
D РГ, кГц	0,78*	0,58	0,54*	0,37	0,01**	0,42	0,40
Прирост S, %	73*	41	48	44	0,02**	45	33
$\Delta\tau/\tau_0$ , %	64	37	38	38	0,006**	28	28
d исх., мм	3,89	0,56	4,22*	0,56	<0,001**	3,78	0,68
d на РГ, мм	4,09	0,58	4,60	0,57	<0,001**	4,28	0,71
ЭЗВД, %	5,56*	4,12	7,63*	5,13	0,097	12,82	4,35
	5,41[2,63;8,33]		7,15[3,63;11,16]			11,90[10,13;15,95]	
КЧЭНС, у.е.	0,120*	0,128	0,231*	0,189	0,014**	0,373	0,202
	0,073 [0,045;0,144]		0,156 [0,095;0,334]			0,357 [0,242;0,538]	

Примечания:

- \* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$  по сравнению со здоровым контролем;
- \*\* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$ ;
- p – вероятность ошибки для критерия Вилкоксона;
- Me [25-й; 75-й процентиля] – медиана и интерквартильный интервал.

у 19 (67%) против 23 (79%) исходно ( $p=0,034$ ). «Парадоксальная» вазоконстрикторная реакция зафиксирована у 2 человек вместо 5 исходно.

Результаты первичного анализа позволили сделать предварительный вывод о недостаточной эффективности ФК в дозе 500 мкг в сутки в составе комплексной терапии для коррекции ДЭ, однако было отмечено, что во 2-й группе исходно оказалось больше всего человек – 6 (21%), без нарушенной вазомоторной функции эндотелия. После исключения из анализа пациентов без исходной ДЭ степень увеличения ЭЗВД достоверно увеличилась с 3,98 (2,86)% (Me=4,25 [1,85;5,71]%) до 6,95 (5,48)% (Me=5,97 [2,38;8,16]%), ( $p=0,026$ ).

Таким образом, назначение больным 500 мкг ФК в составе комплексной терапии улучшает некоторые показатели ДЭ в виде прироста степени ЭЗВД и КЧЭНС, и уменьшает проявления «парадоксальной» вазоконстрикции.

Под влиянием проводимой терапии в течение 1 месяца у 12 повторно обследованных больных ИБС 2-й группы не произошло статистически-значимых изменений показателей УЗИ и параметров жесткости ОСА. Значения измерений толщины КИМ ОСА составили 0,99 (0,20) и 0,99 (0,20) мм, соответственно ( $p=0,99$ ). Средние расчетные величины КР оказались 0,0025 (0,0011) мм рт. ст. исходно и 0,0024 (0,0009) мм рт. ст. повторно ( $p=0,87$ ). Медиана КЭ составила 0,066 мм<sup>2</sup>/мм рт. ст. исходно и 0,072 мм<sup>2</sup>/мм рт. ст. при повторном обследовании ( $p=0,99$ ). Значение КУ несколько сместилось вниз с 8,097 (4,977) до 7,687 (3,555) \*10<sup>5</sup>Н/м<sup>2</sup> ( $p=0,81$ ). Таким образом, применение комплексной терапии в течение 1 месяца не оказало существенного влияния на жесткость ОСА.

Как видно из таблицы 2.13, под влиянием комплексной терапии в течение 6 месяцев показатели УЗИ и доплерографии ОСА, такие как скоростные потоки, диаметр и толщина КИМ ОСА ( $p=0,07$ ), достоверно не изменились. Произошло улучшение буферной функции ОСА в виде достоверного увеличения КР в среднем на 100% ( $p<0,001$ ) и КЭ – на 105% ( $p<0,001$ ), что привело к снижению пульсового давления, постнагрузки на сердце, и препятствовало развитию гипертрофии и ремоделирования левого желудочка.

Также произошло уменьшение КУ в среднем на 32% ( $p=0,011$ ). У больных, перенесших ИМ, толщина КИМ ОСА в 1,4 раза превышала таковую у здоровых лиц. Однако под влиянием проводимой в течение 6 месяцев комплексной терапии произошло улучшение упруго-эластических свойств ОСА, поскольку основные параметры, их характеризующие, статистически значимо не отличались от таковых в группе здоровых лиц. Так, вероятность различия групп ( $p$ ) для КР составила 0,18, для КЭ – 0,22, а для КУ – 0,95. Улучшение буферной функции ОСА вызвано длительной гипотензивной терапией эналаприлом и атенололом, то есть устранением патологического влияния хронического повышения АД на

Таблица 2.13 – Динамика показателей ультразвукового исследования функционального состояния ОСА в 2-й группе через 6 месяцев

Показатели	Исходно, n=29		Через 6 месяцев, n=29		p	Здоровые лица, n=45	
	M	SD	M	SD		M	SD
САД, мм.рт.ст.	125	15	125	14	0,68	124	13
ДАД, мм.рт.ст.	82	7	83	9	0,48	80	8
S, кНсу	1,94*	0,57	2,01*	0,47	0,41	2,30	0,66
D, кНсу	0,54*	0,14	0,57	0,10	0,14	0,61	0,14
RI	0,73	0,06	0,71	0,06	0,052	0,73	0,053
d, мм	6,56	0,84	6,70*	0,87	0,09	6,2	0,8
КИМ, мм	0,97*	0,22	0,96*	0,23	0,07	0,68	0,18
	0,95[0,80;1,10]		0,95[0,80;1,10]			0,65[0,60;0,75]	
КЭ, мм <sup>2</sup> / мм рт. ст.	0,080*	0,037	0,150	0,061	<0,001*	0,170	0,067
	0,077 [0,056;0,102]		0,152 [0,109;0,186]			0,161 [0,131;0,216]	
КР, мм рт. ст. <sup>-1</sup>	0,0025*	0,0011	0,0050	0,0027	<0,001*	0,0056	0,0022
	0,0024 [0,0017;0,0031]		0,0046 [0,0028;0,0068]			0,0054 [0,0045;0,0062]	
КУ, *10 <sup>5</sup> Н/м <sup>2</sup>	7,975*	4,868	5,378	3,723	0,011*	4,683	3,308
	5,983 [4,488;9,954]		3,621 [2,597;7,858]			3,877 [3,089;4,648]	

Примечания:

1. \* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$  по сравнению со здоровым контролем;
2. \*\* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$ ;
3. p – вероятность ошибки для критерия Вилкоксона;
4. Me [25-й; 75-й процентиль] – медиана и интерквартильный интервал.

ремоделирование сосудистой стенки. Поскольку уровни АД на момент повторного обследования не отличались во 2-й группе больных ИБС и здоровых лиц ( $p=0,8$  для САД,  $p=0,2$  для ДАД), значительная положительная динамика КУ свидетельствовала о благоприятном воздействии проводимой терапии на жесткость артериальной стенки, что объяснимо функциональной взаимозависимостью эластичности артерий и состоянием эндотелия. Изменение жесткости может варьировать в зависимости от сосудистого тонуса, который регулируется нейро-гуморальной системой и местной продукцией вазоактивных субстанций, особенно NO [2, 58].

Изменение изучаемых биохимических показателей свидетельствует, что через 6 месяцев комплексной терапии уровень общего холестерина снизился недостоверно ( $p=0,22$ ). Несколько улучшился липидный спектр крови в виде увеличения ХС ЛПВП на 14% ( $p=0,033$ ), понижения уровня ХС ЛПНП на 15% ( $p=0,040$ ) и снижения ТГ на 25% ( $p<0,001$ ). Это могло стать следствием модификации образа жизни и коррекции питания после перенесенного ИМ, поскольку больные не принимали регулярной гиполипидемической терапии. Об этом же свидетельствует невыраженная динамика снижения частоты выявления гиперхолестеринемии с 66 до 54%.

В результате лечения активность АЛТ снизилась в 1,75 раза ( $p<0,001$ ), и уровни ферментов не отличались от таковых в группе здорового контроля. Содержание ФТ плазмы крови возросло пятикратно, до 52,6 (33,9) нмоль/л ( $p<0,001$ ), что сопровождалось снижением уровня гомоцистеинемии на 35% до среднего значения в 7,87 (2,50) мкмоль/л ( $p<0,001$ ). Частота ННСУ снизилась с 79% до 17% ( $p=0,002$ ), что статистически незначимо отличалось от здорового контроля ( $p=0,18$ ).

Проведенный корреляционный анализ во 2-й группе позволил сделать вывод о том, что устранение ННСУ в результате проведенной метаболической терапии привел к снижению коэффициентов корреляции между уровнями НСУ и степенью ЭЗВД, КЧЭНС ( $r=-0,54$   $p=0,002$  и  $r=-0,49$   $p=0,006$ , соответственно) до статистически незначимых ( $r=0,15$   $p=0,46$  и  $r=0,05$   $p=0,87$ ). Обращает на себя внимание отрицательная корреляция между уровнями ФТ исходно в этой группе и развитием вазоспастической реакции ( $r=-0,39$   $p=0,027$ ). Степень снижения гомоцистеинемии оказалась выраженной при исходно более высоких уровнях НСУ ( $r=-0,58$   $p=0,003$ ).

Таким образом, шестимесячное наблюдение за 3-й группой свидетельствует о значительном улучшении фолатного статуса больных ИБС в постинфарктном периоде под влиянием стандартной базисной терапии и об отсутствии выраженного улучшения липидного обмена.

### 2.3.8 Влияние патогенетической терапии с включением комплекса 300 мкг фолиевой кислоты в дозе и 5 мг пиридоксина в сутки на функциональное состояние эндотелия, упруго-эластические свойства общей сонной артерии и динамику биохимических показателей у больных ИБС с перенесенным инфарктом миокарда

Результаты ультразвукового обследования ПА и пробы с РГ не выявили существенных различий по сравнению с исходными данными. По влиянием проводимой терапии степень ЭЗВД ПА изменилась в среднем с 3,57 (4,08)% до 3,65 (2,76)% ( $p=0,69$ ). Медиана КЧЭНС сместилась с 0,083 [0;0,166] у.е. до 0,092 [0,052;0,151] у.е., что также оказалось статистически незначимо ( $p=0,72$ ). ДЭ выявлена у 8 больных в виде недостаточной вазодилатации ПА и у 2 – в виде ПВ.

Результаты влияния комплексной терапии на функциональное состояние эндотелия через 6 месяцев лечения представлены в таблице 2.13.

Таблица 2.13 – Динамика показателей ультразвукового исследования ПА и пробы с РГ в 3-й группе через 6 месяцев

Показатели	Исходно, n=32		Через 6 месяцев, n=32		p	Здоровые лица, n=45	
	М	SD	М	SD		М	SD
S, кГц	1,73*	0,41	1,86	0,46	0,11	1,98	0,54
D, кГц	0,101	0,118	0,107	0,118	0,88	0,078	0,105
S РГ, кГц	2,80	0,90	2,69	0,69	0,68	2,79	0,70
D РГ, кГц	0,41	0,34	0,42	0,27	0,49	0,42	0,40
Прирост S, %	67	59	47	34	0,051	45	33
$\Delta\tau/\tau_0$ , %	60*	53	35	32	0,006**	28	28
d исх., мм	3,89	0,53	4,03	0,51	0,004**	3,78	0,68
d на РГ, мм	4,04	0,50	4,35	0,53	<0,001**	4,28	0,71
ЭЗВД, %	3,93*	3,44	9,31*	2,79	<0,001**	12,82	4,35
	3,55 [0;6,11]		9,52[7,79;11,08]			11,90[10,13;15,95]	
КЧЭНС, у.е.	0,116*	0,159	0,340	0,280	<0,001**	0,373	0,202
	0,067 [0;0,146]		0,236 [0,116;0,471]			0,357 [0,242;0,538]	

Примечания:

- \* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p<0,05$  по сравнению со здоровым контролем;
- \*\* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p<0,05$ ;
- p – вероятность ошибки для критерия Вилкоксона;
- Me [25-й; 75-й процентиля] – медиана и интерквартильный интервал.

На фоне увеличения исходного диаметра ПА значения пиковой скорости кровотока в систолу (см. табл. 2.13) изменились до показателей группы здорового контроля ( $p=0,40$ ), напряжение «сдвига» на эндотелии уменьшилось в 2 раза и достигло показателя в группе здоровых лиц ( $p=0,37$ ). Наряду с изменением диаметра ПА при реактивной гиперемии ( $p<0,001$ ) степень ЭЗВД в среднем увеличилась с 3,94 (3,44)% до 9,31 (2,79)% ( $p<0,001$ ).

Медиана КЧЭНС высокодостоверно сместилась с 0,067 [0;0,146] у.е. до 0,357 [0,242;0,538] у.е. ( $p<0,001$ ) и статистически значимо не отличалась от значений в контрольной группе ( $p=0,15$ ). Степень ЭЗВД ПА не достигла показателей группы контроля ( $p<0,001$ ), однако улучшение функции эндотелия в виде прироста ЭЗВД наблюдалось у 28 (89%) повторно обследованных больных ИБС, а ДЭ выявлена у 15 (46%) против 30 (90%) исходно ( $p=0,005$ ). «Парадоксальная» вазоконстрикторная реакция не была зафиксирована ни у одного человека спустя 6 месяцев лечения, хотя изначально отмечалась у 9 больных ИБС из 32. Таким образом, назначение больным гомоцистеинснижающей (300 мкг ФК и 5 мг пиридоксина) терапии в составе комплексного лечения корригирует выраженные показатели ДЭ в виде прироста степени ЭЗВД ПА и КЧЭНС, и уменьшает или нивелирует проявления «парадоксальной» вазоконстрикции.

Под влиянием проводимой терапии в течение 1 месяца у 12 повторно обследованных больных ИБС 3-й группы не произошло статистически-значимых изменений показателей УЗИ и параметров жесткости ОСА. Значения измерений толщины КИМ ОСА составили 0,93 (0,18) при первичном и повторном обследовании ( $p=0,99$ ). Средние расчетные величины КР оказались 0,0026 (0,0011) мм рт. ст. исходно и 0,0028 (0,0013) мм рт. ст. повторно ( $p=0,33$ ). КЭ оказался равен 0,086 (0,051) мм<sup>2</sup>/мм рт. ст. исходно и 0,091 (0,0057) мм<sup>2</sup>/мм рт. ст. при повторном обследовании ( $p=0,17$ ). Значение КУ несколько сместилась вниз с 6,956 (2,695) до 6,462 (2,693) \*10<sup>5</sup>Н/м<sup>2</sup> ( $p=0,24$ ). Под влиянием комплексной терапии в течение 6 месяцев показатели УЗИ и доплерографии ОСА, такие как скоростные потоки и толщина КИМ ОСА ( $p=0,07$ ), достоверно не изменились (таблица 2.14).

Таблица 2.14 – Динамика показателей ультразвукового исследования функционального состояния ОСА во 2-й группе через 6 месяцев

Показатели	Исходно, n=32		Через 6 месяцев, n=32		p	Здоровые лица, n=45	
	М	SD	М	SD		М	SD
САД, мм рт.ст.	131*	13	129	14	0,46	124	13
ДАД, мм рт.ст.	84	8	83	8	0,68	80	8
S, кГц	1,88*	0,42	1,82*	0,40	0,23	2,30	0,66
D, Гц	0,52*	0,14	0,53*	0,10	0,42	0,61	0,14
RI	0,71	0,06	0,69*	0,05	0,048*	0,73	0,053
d, мм	6,39	0,81	6,52	0,83	0,026*	6,2	0,8
КИМ, мм	0,98*	0,27	0,94*	0,25	0,067	0,68	0,18
	0,95[0,76;1,20]		0,85[0,75;1,05]			0,65[0,60;0,75]	
КЭ, мм <sup>2</sup> / мм рт. ст.	0,083*	0,039	0,153	0,54	<0,001*	0,170	0,067
	0,081[0,057;0,112]		0,143[0,112;0,197]			0,161[0,131;0,216]	
КР, мм рт. ст. <sup>-1</sup>	0,0026*	0,0011	0,0047*	0,0018	<0,001*	0,0056	0,0022
	0,0025 [0,0016;0,0033]		0,0042 [0,0033;0,0058]			0,0054 [0,0045;0,0062]	
КУ, *10 <sup>5</sup> Н/м <sup>2</sup>	7,399*	3,962	5,588	3,671	0,015*	4,683	3,308
	6,401 [4,935;7,943]		4,749 [3,153;6,393]			3,877 [3,089;4,648]	

Примечания:

1. \* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$  по сравнению со здоровым контролем;
2. \*\* – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$ ;
3. p – вероятность ошибки для критерия Вилкоксона;
4. Me [25-й; 75-й процентиля] – медиана и интерквартильный интервал.

Произошло увеличение диаметра ОСА ( $p=0,026$ ) и улучшение буферной функции ОСА в виде достоверного увеличения КР в среднем на 81% ( $p < 0,001$ ) и КЭ – на 86% ( $p < 0,001$ ), что привело к снижению пульсового давления и постнагрузки на сердце и препятствовало развитию гипертрофии и ремоделирования левого желудочка. Также произошло уменьшение КУ в среднем на 25% ( $p=0,015$ ). У больных, перенесших ИМ, толщина КИМ ОСА в 1,4 раза превышала таковую у здоровых лиц. Однако под влиянием проводимой в течение 6 месяцев комплексной терапии произошло улучшение упруго-эластических свойств ОСА, поскольку основные параметры, их характеризующие, статистически зна-

чимо не отличались от таковых в группе здоровых лиц. Так, вероятность ошибки различия групп ( $p$ ), для КЭ – 0,31, а для КУ – 0,12. Только прирост КР не достиг диапазона здорового контроля ( $p=0,016$ ). Диаметр ОСА в силу адаптивных возрастных изменений в группе больных ИБС был выше, чем в группе здорового контроля ( $p=0,18$ ), а скоростные потоки, соответственно, ниже ( $p=0,001$  для S и  $p=0,013$  для D). Улучшение буферной функции ОСА, по видимому, вызвано длительной гипотензивной терапией эналаприлом и атенололом, то есть устранением патологического влияния хронического повышения АД на ремоделирование сосудистой стенки. Поскольку уровни АД на момент повторного обследования не отличались во 2-й группе больных ИБС и здоровых лиц ( $p=0,15$  для САД,  $p=0,08$  для ДАД), значительная положительная динамика КУ свидетельствовала о благоприятном воздействии проводимой терапии на жесткость артериальной стенки, что объяснимо функциональной взаимозависимостью эластичности артерий и состоянием эндотелия.

Изменение изучаемых биохимических показателей в 3-й группе свидетельствует, что уровень общего холестерина имел тенденцию к повышению ( $p=0,67$ ). Несколько изменился липидный спектр крови в виде увеличения ХС ЛПВП на 13% ( $p=0,01$ ), уровня ХС ЛПНП на 18% ( $p=0,007$ ) и снижения ТГ на 21% в среднем ( $p\approx 0,05$ ). Это могло стать следствием модификации образа жизни и коррекции питания после перенесенного ИМ, поскольку больные не принимали регулярной гиполипидемической терапии. Об этом же свидетельствует невыраженная динамика снижения частоты выявления гиперхолестеринемии с 72 до 67%. В результате лечения, как показатель биодоступности пиридоксина, активность аминотрансфераз была существенно выше, чем в группе здорового контроля ( $p<0,001$  для АСТ и АЛТ).

Содержание ФТ плазмы крови возросло втрое до 30,21 (20,6) нмоль/л ( $p<0,001$ ), что сопровождалось снижением уровня гомоцистеинемии на 25% до среднего значения в 8,95 (2,77) мкмоль/л ( $p<0,001$ ). Частота ННСУ снизилась с 66% до 27% ( $p=0,023$ ), что статистически незначимо отличалось от здорового контроля ( $p=0,8$ ). Проведенный корреля-

ционный анализ в 3-й группе позволил сделать вывод о том, что устранение ННСУ в результате проведенной метаболической терапии привел к снижению коэффициентов корреляции между уровнями НСУ и степенью ЭЗВД, КЧЭНС ( $r=-0,32$   $p=0,07$  и  $r=-0,29$   $p=0,1$ , соответственно) до статистически незначимых ( $r=-0,07$   $p=0,68$  и  $r=-0,03$   $p=0,81$ ). Степень снижения гомоцистеинемии оказалась более выраженной при исходно более высоких уровнях НСУ ( $r=-0,52$   $p=0,003$ ).

Итоговая оценка динамики биохимических показателей в трех обследованных группах свидетельствует, что у больных с перенесенным ИМ наблюдалось достоверное снижение фолатов (ФТ) в плазме крови в сочетании с умеренной ННСУ. Доля лиц с уровнем НСУ выше 10 мкмоль/л составляла 72%. В результате шестимесячного назначения патогенетической терапии с включением ФК в дозе 500 мкг в сутки выявлены пятикратный рост фолатемии ( $p<0,001$ ) и снижение уровня НСУ на 35% ( $p<0,001$ ). При этом число больных с ННСУ снизилось с 79 до 17%. При назначении ФК в дозе 300 мкг в сутки в сочетании с 5 мг пиридоксина увеличение фолатемии оказалось менее выраженным, однако она трехкратно превысила исходный уровень ( $p<0,05$ ). В этой группе пациентов падение уровня НСУ достигло 25% ( $p<0,05$ ), а число лиц с ННСУ снизилось с 66 до 27%. Показателем биодоступности пиридоксина у данной группы больных было изменение активности трансаминаз. Таким образом, коррекция ННСУ достигнута достаточно эффективно при применении обеих схем лечения, причем, увеличение фолатемии произошло пропорционально дозировке ФК.

### **2.3.9 Сравнительная оценка результатов применения различных схем терапии на функциональное состояние эндотелия, упруго-эластические свойства общей сонной артерии в сформированных группах больных ИБС с перенесенным инфарктом миокарда**

Динамика изменения степени ЭЗВД по группам представлена на рисунке 2.1, на котором наглядно видно, что ни в одной из групп больных ИБС в результате лечения не удалось добиться полного восстановления вазомоторной функ-

ции эндотелия, так как степень ЭЗВД не достигла уровня в группе здорового контроля. В 1-й группе статистически значимых изменений ЭЗВД не произошло ( $p=0,45$ ). Наиболее выраженная динамика наблюдалась в 3-й группе больных ИБС, перенесших ИМ и получавших в дополнение к базисной терапии комплекс из 300 мкг ФК и 5 мг пиридоксина в сутки. Частота выявления ДЭ достоверно отличалась в 3-й группе от 1-й ( $p<0,001$ ) и во 2-й от 1-й ( $p=0,032$ ).

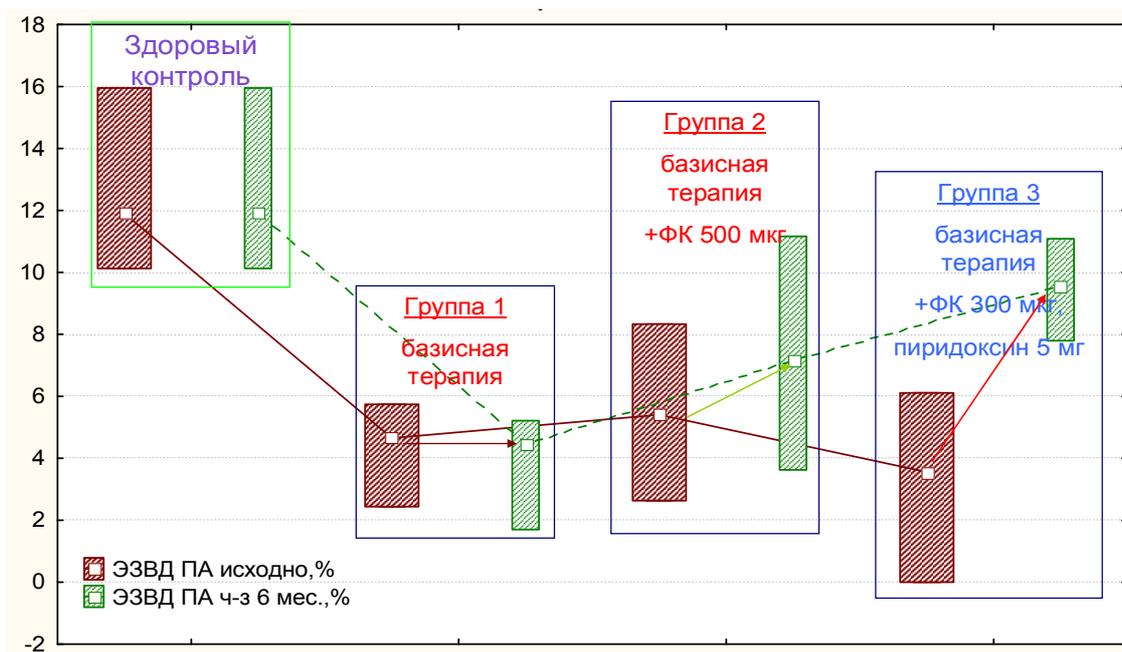
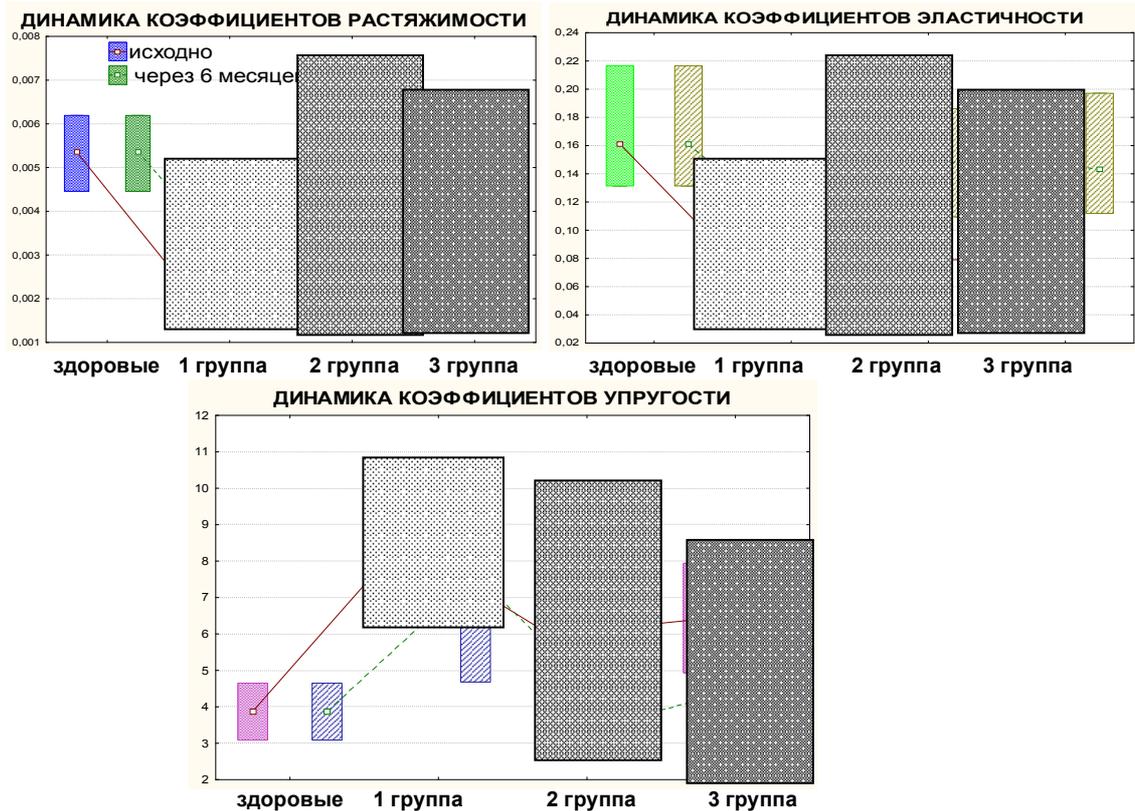


Рисунок 2.1 – Сравнение динамики степени ЭЗВД в трех группах

Результаты проведенной патогенетической терапии в сформированных группах больных статистически значимо не повлияли на показатели основных ультразвуковых показателей ОСА. Различия оказались только в расчетных показателях, характеризующих упруго-эластические свойства ОСА: КР, КЭ и КУ. Динамику изменения этих параметров можно наглядно проследить на рисунке 2.2. Наиболее выраженные изменения жесткости сонных артерий под влиянием проводимой терапии произошли во 2-й и 3-й группах.



**Рисунок 2.2 – Сравнение показателей жесткости ОСА в трех группах**

## 2.4 Заключение

1. У больных ИБС с перенесенным ИМ по сравнению с контрольной группой здоровых лиц выявлены нарушения вазомоторной функции эндотелия (недостаточная эндотелийзависимая вазодилатация, ЭЗВД плечевой артерии у 73% обследованных больных, «патологическая» вазоконстрикция, ПВ – у 17%). Это сопровождалось повышением артериальной жесткости в виде увеличения толщины комплекса интима-медиа (КИМ) и коэффициента упругости (КУ), а также снижения коэффициентов эластичности (КЭ) и растяжимости (КР) общей сонной артерии на фоне дисбаланса показателей липидного обмена, повышения медиаторов воспаления (вчСРБ, фибриноген), развития гипергомоцистеинемии.

2. У 72% больных ИБС с перенесенным ИМ выявлена гипергомоцистеинемия, величина которой ассоциировалась с наличием ДЭ и развитием ПВ ( $r=0,23$ ;  $p=0,01$ ). Повышенные показатели гомотеинемии коррелировали с ЭЗВД

( $r=-0,30$ ;  $p=0,001$ ) и константой чувствительности эндотелия к напряжению сдвига (КЧЭНС), ( $r=-0,27$ ;  $p=0,003$ ), сопровождались увеличением толщины КИМ и КУ.

3. Наличие ДЭ и повышение артериальной жесткости ассоциировалось с низкими уровнями фолатов плазмы крови. Выявлена корреляция уровня фолатемии и ЭЗВД ( $r=0,26$ ;  $p=0,005$ ), КЧЭНС ( $r=0,23$ ;  $p=0,014$ ), а также увеличение ЭЗВД в 1,4 раза ( $p=0,024$ ), КЧЭНС – в 2 раза ( $p=0,04$ ) в группе больных с высоким уровнем фолатов по сравнению с низким, разделенных в соответствии с тертилью фолатемии. Значение толщины КИМ коррелировало с уровнями фолатов плазмы ( $r=-0,28$ ;  $p=0,001$ ). КР в 1,6 раза ( $p=0,022$ ), КЭ – в 1,4 раза ( $p=0,034$ ) превышали аналогичные показатели, а КУ оказался в 1,3 раза ( $p=0,04$ ) ниже в группе с высоким уровнем фолатов плазмы крови. У больных ИБС с перенесенным ИМ и, в меньшей степени, в группе здоровых лиц наблюдалось снижение фолатного статуса у 50% и 25%, соответственно.

4. Применение базисной антиангинальной терапии эналаприлом, атенололом, аспирином и нитратами (по требованию) не привело к улучшению вазомоторной функции эндотелия, а неоптимальный фолатный статус оставался устойчивым в течение длительного периода времени. Дополнительный прием фолиевой кислоты в суточной дозе 500 мкг или 300 мкг фолиевой кислоты и 5 мг пиридоксина в течение 6 месяцев привел к 5-кратному и 3-кратному повышению фолатемии и снижению гомоцистеина на 35% и 25% в плазме крови, соответственно ( $p<0,001$ ), что сопровождалось положительной динамикой КР, КЭ и КУ общей сонной артерии и улучшением функционального состояния эндотелия в виде прироста степени ЭЗВД и КЧЭНС ( $p<0,001$ ). Динамика ЭЗВД и КЧЭНС, а также нивелирование ПВ оказались более выраженными в группе сочетанного применения витаминных препаратов.

#### Литература

1. Davignon, J. Role of Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis / J. Davignon, P. Ganz // *Circulation*. – 2004. – Vol. 109, № 3. – P. 27–32.

2. Halcox, J.P. Endothelial function predicts progression of carotid intima-media thickness / J.P. Halcox [et al.] // *Circulation*. – 2009. – Vol. 119, № 7. – P. 919–921.

3. The clinical implications of endothelial dysfunction / M.E. Widlansky [et al.] // *JAMA*. – 2003. – Vol. 42. – P. 1149–1160.

4. Johnston, K.W. Quantitative analysis of continuous wave doppler spectral broadening for the diagnosis of carotid disease: result of multicentral study / K.W. Johnston, W.H. Baker, S.I. Burnham // *J. Vasc. Surg.* – 1986. – Vol. 4. – P. 493–504.

5. Prediction of clinical cardiovascular events with Carotid Intima-Media Thickness – a systematic review and meta-analysis / M.W. Lorenz [et al.] // *Circulation*. – 2007. – Vol. 115. – P. 459–467.

6. Carotid intimal-media thickness and endothelial function in young patients with history of myocardial infarction / G. Coppola [et al.] // *Int. Angiol.* – 2009. – Vol. 28, № 2. – P. 120–126.

7. Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults / M.F. Bellamy [et al.] // *Circulation*. – 1998. – Vol. 98, № 18. – P. 1848–1852.

8. Hyperhomocysteinemia induced by feeding rats diets rich in dl-homocysteine thiolactone promotes alterations on carotid reactivity independent of arterial structure / C.R. de Andrade [et al.] // *Medline [Electronic resource]*. – 2009 – Mode of access : Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease / S. Blankenberg [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 349, № 17. – P. 1605–1613.

9. Glutathione peroxidase-1 activity, atherosclerotic burden, and cardiovascular prognosis / C. Espinola-Klein [et al.] // *Am. J. Cardiol.* – 2007. – Vol. 99, № 6. – P. 808–812.

10. Ситникова, М.Ю. Фармакологическая защита эндотелия в рамках стандартной терапии хронической сердечной недостаточности / М.Ю. Ситникова, С.Г. Иванов, К.А. Хмельницкая // *Бюл. НИИ кардиологии им. В.А. Алмазова*. – 2004. – Том. 2, № 1. – С. 101–108.

11. Cooke, J.P. Therapeutic interventions in endothelial dysfunction: endothelium as a target organ / J.P. Cooke // *Clin. Cardiol.* – 1997. – Vol. 20, suppl. 2. – P. 45–51.

12. Persistent impairment of endothelial vasomotor function has a negative impact on outcome in patients with coronary artery disease / Kitta, Y. [et al.] // *JAMA*. – 2009. – Vol. 53, № 4. – P. 331–333.

13. Yang, Y.M. ENOS uncoupling and endothelial dysfunction in aged vessels / Y.M. Yang, A. Huang, G. Kaley, D. Sun // Medline [Electronic resource]. – 2009 – Mode of access : [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19767531?ordinalpos=18&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed\\_ResultsPanel.Pubmed\\_DefaultReportPanel.Pubmed\\_RVDocSum](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19767531?ordinalpos=18&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DefaultReportPanel.Pubmed_RVDocSum) – Date of access : 10.10.2009.

14. 5-methyltetrahydrofolate, the active form of folic acid, restores endothelial function in familial hypercholesterolemia / M.C. Verhaar [et al.] // *Circulation*. – 1998. – Vol. 97, № 3. – P. 237–241.

15. Folic acid reverts dysfunction of endothelial nitric oxide synthase / E.S. Stroes [et al.] // *Circ. Res.* – 2000. – Vol. 86, № 11. – P. 1129–1134.

16. 5-methyltetrahydrofolate rapidly improves endothelial function and decreases superoxide production in human vessels: effects on vascular tetrahydrobiopterin availability and endothelial nitric oxide synthase coupling / C. Antoniades [et al.] // *Circulation*. – 2006. – Vol. 114, № 11. – P. 1193–1201.

17. Angiotensin II stimulates NADH and NADH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells / K.K. Griendling [et al.] // *Circ. Res.* – 1994. – Vol. 74. – P. 1141–1148.

18. Chalupsky, K. Endothelial dihydrofolate reductase: critical for nitric oxide bioavailability and role in angiotensin II uncoupling of endothelial nitric oxide synthase / K. Chalupsky, H. Cai // *Proc. Natl. Acad. Sci. – USA*, 2005. – Vol. 25. – P. 9056–9061.

19. Folate levels determine effect of antioxidant supplementation on micronuclei in subjects with cardiovascular risk / B. Smolková [et al.] // *Mutagenesis*. – 2004. – № 6. – P. 469–476.

20. High-dose folic acid acutely improves coronary vasodilator function in patients with coronary artery disease / A. Tawakol [et al.] // *JAMA*. – 2005. – Vol. 45. – P. 1580–1584.

21. Folate and Vitamin B6 Rapidly Normalize Endothelial Dysfunction In Children With Type 1 Diabetes Mellitus / E. Karen [et al.] // *Pediatrics*. – 2006. – Vol. 118. – P. 242–253.

22. Endothelial Function in Newborn Infants Is Related to Folate Levels and Birth Weight / H. Martin [et al.] // *Pediatrics*. – 2007. – Vol. 119. – P. 1152–1158.

23. Folic acid and vitamin E supplementation effects on homocysteinemia, endothelial function and plasma anti-oxidant capacity in young myocardial infarction patients / D. Assanelli [et al.] // *Pharmacol. Res.* – 2004. – Vol. 49. – P. 79–84.

24. Effect of folic acid on endothelial function following acute myocardial infarction / A.L. Moens [et al.] // *Am. J. Cardiol.* – 2007. – Vol. 99, № 4. – P. 476–481.

25. Effect of folic acid and antioxidant vitamins on endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease / L.M. Title [et al.] // *JAMA.* – 2000. – Vol. 36, № 3. – P. 758–765.

26. Improved vascular endothelial function after oral B vitamins: An effect mediated through reduced concentrations of free plasma homocysteine / J.C. Chambers [et al.] // *Circulation.* – 2000. – Vol. 102, № 20. – P. 2479–2483.

27. A randomized double-blind placebo-controlled trial of the effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid on endothelial function in patients with coronary artery disease / J. Thambyrajah [et al.] // *JAMA.* – 2001. – Vol. 37, № 7. – P. 1858–1863.

28. ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocysteinemia: effects of L-arginine and B-vitamins / K. Sydow [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2003. – Vol. 57, № 1. – P. 243–252.

29. The effect of long-term homocysteine-lowering on carotid intima-media thickness and flow-mediated vasodilation in stroke patients: a randomized controlled trial and meta-analysis / K. Potter [et al.] // *BMC. Cardiovasc. Disord.* – 2008. – № 8. – P. 8–24.

30. Effect of Sclerovit on endothelial dysfunction, hemorheological parameters, platelet aggregation, plasma concentration of homocysteine and progression of atherosclerosis in patients with vascular diseases / B. Horvath [et al.] // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2009. – Vol. 42, № 1. – P. 19–28.

31. Decrease of carotid intima-media thickness in patients at risk to cerebral ischemia after supplementation with folic acid, vitamins B6 and B12 / U. Till [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2005. – Vol. 181. – P. 131–135.

32. The effect of folic acid supplementation on carotid intima-media thickness in patients with cardiovascular risk: A randomized, placebo-controlled trial / G. Ntaios [et al.] // *Medline [Electronic resource].* – 2009 – Mode of access : [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19201496?ordinalpos=9&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed\\_ResultsPanel.Pubmed\\_DefaultReportPanel.Pubmed\\_RVDocSum](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19201496?ordinalpos=9&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DefaultReportPanel.Pubmed_RVDocSum) – Date of access : 10.10.2009.

33. Role of folic acid in atherosclerosis after kidney transplant: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial/ M.

Nafar [et al.] // *Exp. Clin. Transplant.* – 2009. – Vol. 7, № 1. – P. 33–39.

34. Effect of a treatment strategy consisting of pravastatin, vitamin E, and homocysteine lowering on carotid intima–media thickness, endothelial function, and renal function in patients with mild to moderate chronic kidney disease: results from the Anti–Oxidant Therapy in Chronic Renal Insufficiency (ATIC) Study / P.W. Nanayakkara [et al.] // *Arch. Intern. Med.* – 2007. – Vol. 167, № 12. – P. 1262–1270.

35. Uremic hyperhomocysteinemia: a randomized trial of folate treatment for the prevention of cardiovascular events / A.C. Vianna [et al.] // *Hemodial. Int.* – 2007. – Vol. 11, № 2. – P. 210–216.

36. High–dose B vitamin supplementation and progression of subclinical atherosclerosis: a randomized controlled trial / H.N. Hodis [et al.] // *Stroke.* – 2009. – Vol. 40, № 3. – P. 670–671.

37. Effect of folic acid treatment on carotid intima–media thickness of patients with coronary disease / C. Fernández–Miranda [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2007. – Vol. 118, № 3. – P. 345–349.

38. Optimization of dietary folate or low –dose folic acid supplements lower homocysteine but do not enhance endothelial function in healthy adults, irrespective of the methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) genotype / C.H. Pullin [et al.] // *JAMA.* – 2001. – Vol. 38, № 7. – P. 1799–1805.

39. Effect of homocysteine–lowering therapy on vascular endothelial function and exercise performance in coronary patients with hyperhomocysteinemia / M.H. Dinckal [et al.] // *Act. Cardiol.* – 2003. – Vol. 58, № 5. – P. 389–396.

40. Сидоренко, Г.И. Коррекция гипергомоцистеинемии фолатсодержащим микронутриентным комплексом у больных стенозирующим коронарным атеросклерозом / Г.И. Сидоренко, С.Ф. Золотухина // *Питание и обмен веществ : сб. научных статей, выпуск 3 / Ин–т биохимии НАН Беларуси; сост. и науч. ред. А.Г. Мойсеенок.* – Минск: Белорусская наука, 2008. – С. 244–251.

41. Global Improvement of Vascular Function and Redox State With Low–Dose Folic Acid Implications for Folate Therapy in Patients With Coronary Artery Disease / C. Shirodaria [et al.] // *Circulation.* – 2007. – Vol. 115. – P. 2262–2270.

42. Инструкция по нормам физиологических потребностей в пищевых веществах и энергии для различных групп детского населения Республики Беларусь : утв. МЗ Респ. Беларусь 31.12.02. – Минск : Минск, 2005. – 10 с.

43. Тутельян, В.А. Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ. Методические рекомендации / В.А. Тутельян – Москва : Медкнига, 2004. – 47 с.
44. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных / О.Ю. Реброва – Москва : Медиа Сфера, 2006. – 305 с.
45. Noninvasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis // D. S. Celermajer [et al.] // *Lancet*. – 1992. – Vol. 340. – P. 1111–1115.
46. Иванова, О.В. Определение чувствительности плечевой артерии к напряжению сдвига на эндотелии как метод оценки состояния эндотелий зависимой вазодилатации с помощью ультразвука высокого разрешения у больных с артериальной гипертензией / О.В. Иванова, А.Н. Рогоза, Т.В. Балахонова // *Кардиология*. – 1998. – Т. 38, № 3. С. 37–42.
47. Ультразвуковое исследование артерий : руководство / Т.В. Каминская [и др.] ; под общ. ред. В.В. Мирончика, В.А. Янушко. – Минск : БелНИИ кардиологии, 1999. – 119 с.
48. Relation of serum homocysteine and lipoprotein (a) concentrations to atherosclerotic disease in a prospective Finnish population based study / G. Alfthan [et al.] // *Atherosclerosis*. – 1994. – Vol. 106. – P. 9–19.
49. Serum total homocysteine concentrations in adolescent and adult Americans: results from the third National Health and Nutrition examination Survey / P.A. Jacques [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1999. – № 69. – P. 482–489.
50. Alfthan, G. Folate intake, plasma folate and homocysteine status in random Finnish population / G. Alfthan, M.S. Laurinen, L.M. Valsta // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2003. – Vol. 57. – P. 81–88.
51. Anderson, T.J. Comparative study of ACE-inhibition, angiotensin II antagonism, and calcium channel blockade on flow-mediated vasodilation in patients with coronary disease (BANFF study) / T.J. Anderson, E. Elstein, H. Haber, F. Charbonneau // *JAMA*. – 2000. – Vol. 35, № 1. – P. 60–66.
52. Differences in the effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors on the rate of endothelial cell apoptosis: in vitro and in vivo studies / C. Ceconi [et al.] // *Cardiovasc. Drugs. Ther.* – 2007. – Vol. 21, № 6. – P.423–429.
53. Erzen, B. Treatment of essential arterial hypertension with enalapril does not result in normalization of endothelial dysfunction of the conduit arteries / B. Erzen, P. Gradisek, P. Poredos, M. Sabovic // *Angiology*. – 2006. – Vol. 57, № 2. – P. 187–192.

54. Hornig, B. Differential effects of quinaprilat and enalaprilat on endothelial function of conduit arteries in patients with chronic heart failure / B. Hornig, N. Arakawa, D. Hausmann, H. Drexler // *Circulation*. – 1998. – Vol. 98, № 25. – P. 2842–2848.

55. Kiowski, W. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on endothelial function and vascular design in hypertension / W. Kiowski, L. Linder, R. Nuesch // *Circulation*. – 1992. – Vol. 86. – Suppl. I. – P. 559.

56. Mailloux, A. Captopril and enalaprilat decrease antioxidant defences in human endothelial cells and are unable to protect against apoptosis / A. Mailloux, B. Deslandes, M. Vaubourdoles, B. Baudin // *Cell. Biol. Int.* – 2003. – Vol. 27, № 10. – P. 825–830.

57. Carotid intimal-media thickness and endothelial function in young patients with history of myocardial infarction / G. Coppola [et al.] // *Int. Angiol.* – 2009. – Vol. 28, № 2. – P. 120–126.

## Глава 3

# ГОМОЦИСТЕИН И ФИБРИЛЛЯЦИЯ ПРЕДСЕРДИЙ

### 3.1 Эпидемиология фибрилляции предсердий на современном этапе

Фибрилляция предсердий (ФП) представляет собой суправентрикулярную тахиаритмию, при которой имеет место некоординированная активация предсердий и нерегулярный желудочковый ответ. ФП вызывает пристальный интерес как проблема современного здравоохранения и медицинской науки в силу ряда обстоятельств: распространенность ФП в общей популяции составляет от 0,5 до 2%, и прогрессивно увеличивается с возрастом (среди больных старше 60 лет 5-9%). Риск развития ФП у лиц, достигших 40 лет, составляет около 25%; длительное время аритмия может персистировать, не вызывая значимых клинических проявлений, отсюда истинная распространенность ФП, вероятно, значительно выше. ФП страдают более чем 2 млн больных в США и 6 млн в Европе, при этом в ближайшие 50 лет ожидается, что это число удвоится. Социо-экономическая значимость ФП обусловлена высокой смертностью, развитием сердечно-сосудистых осложнений, тромбоэмболическими событиями, увеличением частоты госпитализаций, инвалидизации и связанными с этим материальными затратами [1-3].

### 3.2 Некоторые аспекты патогенеза фибрилляции предсердий

В основе патогенеза ФП лежит электрофизиологическое и структурное ремоделирование левого предсердия. Под ремоделированием понимают адаптивное изменение во времени свойств кардиомиоцитов для поддержания гомеостаза при воздействии внешних и внутренних стрессоров. Фундаментальной основой развития ФП являются гипоксия, дисфункция эндотелия, окислительный стресс и стресс эндоплазматической сети, воспаление, апоптоз кардиомиоцитов. Указан-

ные феномены ведут к целому ряду взаимосвязанных, взаимообусловленных и оказывающих взаимное влияние патологических реакциях, которые сводятся к укорочению потенциала действия и эффективного рефрактерного периода предсердных кардиомиоцитов (снижение транзитного выходящего калиевого тока ( $I_{to}$ ), медленного кальциевого тока ( $I_{Ca,L}$ ), натриевого тока ( $I_{Na}$ ), постоянного выходящего калиевого тока ( $I_{Ksus}$ ), повышение калиевого тока входящего выпрямления ( $I_{K1}$ ) и ацетилхолинзависимого калиевого тока входящего выпрямления ( $I_{K,Ach}$ ); нарушению межклеточных соединений (уменьшение экспрессии коннексина 40); ультраструктурным изменениям (миолиз, гипертрофия, накопление гликогена, изменения хроматина, дедифференциация кардиомиоцитов); накоплению внеклеточного матрикса (увеличение экспрессии ангиотензиновых рецепторов 1 типа ( $AT_1$ ), тканевого фактора роста  $\beta 1$  ( $TGF-\beta 1$ ), активация матриксных металлопротеиназ (ММР) и угнетение их тканевых ингибиторов (ТИМР), как результат, накопление коллагена 1 типа, фибронектина 1 и фибриллина 1, и, в конечном итоге, фиброз миокарда) [4-7].

Указанные изменения ведут к повышению триггерной активности или патологическому автоматизму предсердных кардиомиоцитов, снижению скорости внутрипредсердного проведения, неоднородной предсердной рефрактерности, расхождению проведения. Локальный триггер может привести к появлению устойчивых высокочастотных драйверов (роторов). Волны, которые расходятся от роторов, имеют пространственно распределенное фрагментирование и дают начало фибрилляторному проведению. Наблюдения показывают, что при сохранении частой предсердной активации на протяжении длительного времени изменение электрофизиологического и анатомического субстрата ведет к устойчивости ФП («ФП порождает ФП») [4-7].

### 3.3 Гомоцистеин и фибрилляция предсердий

Значение повышения уровня гомоцистеина (Hcy) изучали применительно к отдельным звеньям патогенеза ФП. Ввиду плеiotропности эффектов Hcy и взаимозависимости фи-

зиологических и патологических процессов в сердечно-сосудистой системе, вопрос о том, в какой степени связь Нсу – ФП является прямой, причинно-обусловленной, либо же порождена совпадением вследствие наличия у пациентов сочетанной патологии, открыт по сегодняшний день [8].

Среди многообразия патогенетических связей между уровнем Нсу и данной аритмией целесообразно выделить ряд направлений. В целом, негативные эффекты Нсу при ФП обусловлены теми же механизмами, что и при другой сердечно-сосудистой патологии, а именно, образованием Нсу-тиолактона, который обладает способностью к посттрансляционной модификации лизиновых остатков белков. Кроме того, общеизвестен факт связи Нсу с белками посредством неферментативного образования дисульфидных мостиков пропорционально его уровню, что в условиях гипергомоцистеинемии (ННсу) также может вести к нарушению функционирования белков [9, 10]. В условиях ННсу развивается окислительный стресс, т.к. Нсу снижает транскрипцию, трансляцию и каталитическую активность антиоксидантных ферментов, как, например, супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы [11]. В свою очередь, активация перекисного окисления ведет к развитию специфической клеточной реакции, называемой стрессом эндоплазматической сети, который заключается в нарушении синтеза и созревания белковых молекул. Накопление таких несформированных белков может запустить каскад апоптотических реакций [12].

### **3.3.1 Влияние гомоцистеина на процессы структурного и электрического ремоделирования предсердий**

О взаимосвязи ФП и Нсу свидетельствует тот факт, что в условиях ННсу развивается структурное ремоделирование по причине повышения экспрессии матриксных металлопротеиназ (ММП) – ферментов, которые обуславливают изменение состава внеклеточного матрикса в результате повышения синтеза коллагена в интерстиции миокарда, таким образом, развивается «островковый» фиброз, дилатация предсердий, что является морфологическим субстратом для электрической гетерогенности миокарда и его фибрилляторной актив-

ности. Увеличивается экспрессия дисинтегрин, молекул адгезии, что также способствует поддержанию процессов ремоделирования [13-15].

При ННсу развивается электрическое ремоделирование миокарда предсердий вследствие дисфункции ионных каналов [16-19]. Так, при ННсу изменяется кинетика натриевых каналов ( $I_{Na}$ ): имеет место увеличение натриевого тока и максимального значения потенциала действия, замедление инактивации каналов (смещение кривой инактивации канала к более положительному значению мембранного потенциала) и ускорение восстановления натриевых каналов после инактивации, увеличение потенциала покоя [16]. Непосредственного влияния ННсу на активацию натриевых каналов обнаружено не было. Данные изменения имели место при токсических концентрациях Нсу, а при физиологических – изменения отсутствовали [16].

Не остается интактным и калиевый ток: на  $24,8 \pm 5,9\%$  и  $38,4 \pm 10,4\%$  в среде с концентрацией Нсу 50 и 500 мкмоль/л соответственно, снижается транзиторный выходящий калиевый ток ( $I_{to}$ ), сверхбыстрый калиевый ток задержанного выпрямления ( $I_{Kur}$ ) снижается примерно на 30% при экспозиции 500 мкмоль/л Нсу, калиевый ток входящего выпрямления ( $I_{K1}$ ) при той же концентрации повышается на 40% [17]. Это сопровождается значительными изменениями потенциала действия в предсердиях: развивается гиперполяризация потенциала покоя, повышается потенциал фазы плато, уменьшается длительность потенциала действия [18].

Имели место частотно-зависимые изменения эффективного рефрактерного периода кардиомиоцитов при высокой концентрации Нсу: при малой частоте стимуляции возбудимость предсердий снижалась, тогда как при высокой – увеличивалась [18]. Генерация волн повторного входа возбуждения (re-entry) в условиях ННсу приводила к развитию устойчивой их циркуляции в предсердиях, тогда как в контрольном эксперименте наблюдалось спонтанное прекращение эктопической активности [18].

Нсу посредством активации N-метил-D-аспарат (NMDA) рецепторов кардиомиоцитов повышает еще и со-

держание внутриклеточного кальция, что приводит к дисперсии рефрактерного периода, генерации постдеполяризации и в целом – к увеличению возбудимости клеток и аритмогенной готовности миокарда [19].

Следует отметить, что, как повышение внутриклеточной концентрации натрия, так и кальция ведет к развитию дисфункции митохондрий, проявляющейся нарушением транспорта электронов от одного звена дыхательной цепи к другому, т.е. ее рассогласованием, по сути – тканевой гипоксией [20]. Как результат, снижается синтез энергетического субстрата, и развивается окислительный стресс и стресс эндоплазматической сети [11, 12].

Гипоксия и структурное ремоделирование также связаны между собой двусторонними связями. Так, в условиях недостатка кислорода на саркоплазматическом ретикулуме активируются Са-чувствительные рецепторы, что ведет к повышению свободного и митохондриального содержания кальция, запуску каскада апоптотических изменений, гибели кардиомиоцитов и развитию заместительного фиброза [21]. В свою очередь, наличие фиброза предсердий ведет к нарушению диффузии кислорода из сосудистого русла в ткани, т.к. увеличиваются и расстояние, которое требуется преодолеть молекулам кислорода, и диффузионные свойства ткани (снижается коэффициент диффузии) [22]. Компенсаторно увеличивается экспрессия факторов, активизирующих неоангиогенез (факторы, индуцируемые гипоксией (HIF), фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF) [22, 23].

### **3.3.2 Тромбоэмболические осложнения при фибрилляции предсердий: значение гомоцистеина**

Повышенный риск тромбообразования при ФП в определенной степени также приписывают эффектам Hcy, поскольку в экспериментальных работах показано влияние Hcy на повышение экспрессии тканевого фактора [24], снижение инактивации фактора Va [25], снижение тромбомодулина [26], тканевого активатора плазминогена [27]. У больных с неклапанной ФП, осложнившейся развитием ишемического инсульта и наличием при эхокардиографии тромба в ушке

левого предсердия уровень Нсу был выше (20,75 мкмоль/л) по сравнению с теми, у кого тромбы отсутствовали (13,34 мкмоль/л) ( $p < 0,001$ ) [28]. В другом исследовании у пациентов с ФП, осложнившейся ишемическим инсультом, уровень Нсу был выше (12,4 $\pm$ 3,3 мкмоль/л), чем при неосложненной ФП (8,3 $\pm$ 2,3 мкмоль/л) ( $p < 0,05$ ) [29]. Причем наличие ННсу было ассоциировано с повышением риска тромбоэмболических осложнений даже в условиях адекватной антикоагулянтной терапии варфарином [30].

Однако некоторые исследователи считают, что это обусловлено различиями в составе групп по основной патологии: наличию артериальной гипертензии, системного атеросклероза и т.д., которые также ведут к развитию гиперкоагуляции, нежели изолированным влиянием Нсу на гемостаз [31, 32].

### 3.3.3 Гомоцистеин и артериальная жесткость

Последнее время внимание исследователей привлекает проблема упруго-эластических свойств сосудистой стенки. В связи с этим феномен артериальной жесткости подвергается детальному изучению. Показано, что артериальная жесткость ассоциирована с риском неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [33-36]. Артериальная жесткость имеет множество детерминант в популяции: возраст, пол, частота сердечных сокращений, рост, вес, отношение общий холестерин/холестерин липопротеинов высокой плотности, глюкоза крови, диабет, курение, общая сердечно-сосудистая патология, заместительная гормональная терапия, лечение артериальной гипертензии, прием аспирина более 3 дней в неделю, медикаментозная терапия гиперхолестеролемии [37, 38].

Среди 2 тысяч участников Framingham Offspring Study (средний возраст 61 год, 55% женщины) исследовали взаимосвязь ряда биомаркеров: воспалительных (С-реактивный белок и фибриноген), нейрогуморальных (мозговой натрийуретический пептид и N-концевой проатриальный натрийуретический пептид), окислительного стресса (Нсу), ренин-ангиотензиновой системы (ренин и альдостерон), тромбоцитарных и функции эндотелия (D-димеры и ингибитор актива-

ции плазминогена 1 типа), повреждения микрососудистого русла (экскреция альбумина с мочой) – с показателями артериальной жесткости, полученными методом аппланационной тонометрии (скорость распространения пульсовой волны на участке между сонной и бедренной артериями, центральное пульсовое давление, среднее давление, амплитуда волны давления, прирост амплитуды давления, индекс аугментации). Как оказалось, только соотношение альдостерон/ренин, С-реактивный белок и ингибитор активации плазминогена были ассоциированы с параметрами, характеризующими артериальную жесткость, тогда как уровень Нсу не коррелировал с ними, что, однако, по мнению группы исследователей, не исключает роль Нсу в патогенезе сосудистых нарушений, а обусловлено статистическими методами вследствие исключения Нсу по причине сильной связи с другими биомаркерами (в процессе пошаговой регрессии избыточные предикторы исключаются) [39]. В других небольших исследованиях показано наличие сильной [40-42], слабой [43], либо отсутствие связи между уровнем Нсу и артериальной жесткостью вообще [44-48].

Увеличение синтеза коллагена в сосудистой стенке при ННсу было продемонстрировано в ряде работ [49-53]. А.Е. Mullick [et al.] добавляли в корм мышам линии C57BL/6J 0,5% L-метионин в течение  $18 \pm 3$  недель, в результате чего получили ННсу  $41 \pm 1$  мкмоль/л, по сравнению с контрольными животными  $8 \pm 1$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ), при этом уровень фолата в обеих группах был одинаковым (около  $12 \pm 2$  г фолата/г печени). У мышей с ННсу выявили повышение сосудистой проницаемости в сонных артериях, определяемой по накоплению декстрана с помощью количественной флюоресцентной микроскопии ( $3,95 \pm 0,4$  нг/мин/см<sup>2</sup>, тогда как у контрольных животных  $2,87 \pm 0,41$  нг/мин/см<sup>2</sup>). Также имело место повышение жесткости артериальной стенки по результатам эластографии: максимального напряжения, физиологической и максимальной жесткости. Что, очевидно, было связано с накоплением коллагена в сосудистой стенке ( $49 \pm 3$  против  $37 \pm 4$  гидроксипролина/см) [49], поскольку жесткость коллагена в 1000 раз превышает таковую эластина [50].

Более того, в остром эксперименте при инкубации участков артериальной стенки в течение 2 часов в среде с ксантином (0,4 мг/мл) и ксантин-оксидазой (0,2 мг/мл) для наработки супероксид-аниона  $O_2^-$  и, отдельно, 50 мкмольями D, L-гомоцистеина имело место увеличение проницаемости с  $2,94 \pm 0,36$  до  $4,87 \pm 0,48$  нг/мин/см<sup>2</sup> (+70%) в первом случае и с  $1,80 \pm 0,19$  до  $4,02 \pm 0,20$  нг/мин/см<sup>2</sup> (+120%) во втором. Инкубация участков артериальной стенки в среде с Hcy и донатором оксида азота NO диэтиламин-NONO-атом (DEANO, 300 мкмоль) либо неферментативным внутриклеточным скэвенджером кислородных радикалов 4,5-дигидрокси-1,3-бензол-дисульфоновой кислотой (tiron,  $10^{-3}$  моля) приводило к значимому уменьшению накопления декстрана ( $3,29 \pm 0,3$  против  $2,39 \pm 0,29$  и  $2,04 \pm 0,44$  против  $1,56 \pm 0,34$  нг/мин/см<sup>2</sup>, соответственно) [49].

Схожие результаты получены и в другом исследовании. У eNOS<sup>-/-</sup> нокаут-мышей, части из которых добавляли в корм Hcy, а другой – нет, а также мышей дикой линии, которые получали Hcy (0,67 г/л), имела место наработка супероксид-аниона  $O_2^-$ , активация матриксной металлопротеиназы 9 типа, что привело к избыточному синтезу коллагена во внеклеточном матриксе и его дезорганизации [54].

### 3.3.4 Прогностическое значение гомоцистеина у пациентов с фибрилляцией предсердий

В целом данные относительно ФП и Hcy разнятся. Среди участников Framingham Heart Study (n=3120, средний возраст  $58,4 \pm 9,7$  лет, 54% женщины), за 9,7 лет (от 0,05 до 12,8 лет) проспективного наблюдения ФП была зарегистрирована у 209 пациентов (из них 40% женщины), различия в уровне Hcy у пациентов с аритмией и без нее отсутствовали ( $9,0$  ( $7,4-11,0$ ) и  $9,8$  ( $8,2-12,3$ ) мкмоль/л, соответственно), связь с риском развития ФП не была показана (OR=1,08 (95% ДИ 0,94–1,24), p=0,28) [55, 56]. H.S. Friedman также показал отсутствие различия уровня Hcy у пациентов с ФП и синусовым ритмом [57].

В исследовании M. Shimano et al. [58] у пациентов с персистирующей ФП перед проведением им процедуры ра-

диочастотной аблации выявлены значения Нсу, превышающие таковые в группе с пароксизмальной формой и группе сравнения ( $12,7 \pm 4,3$ ;  $10,4 \pm 3,6$ ;  $9,6 \pm 3,6$  мкмоль/л, соответственно,  $p < 0,05$ ). У пациентов с пароксизмальной ФП значения Нсу были сравнимыми с таковыми без анамнеза аритмии. В течение периода наблюдения  $2,1 \pm 1,5$  лет у 15 из 62 пациентов имел место рецидив ФП, а у 6 пациентов развились различные неблагоприятные сердечно-сосудистые события (инфаркт миокарда, инсульт и т.д.). При этом уровень Нсу не различался в подгруппах без рецидивов и с таковыми ФП ( $11,8 \pm 6,2$  против  $10,8 \pm 3,9$  мкмоль/л), тогда как у пациентов с сердечно-сосудистыми событиями исходно имела место значимая ННсу ( $16,9 \pm 8,9$  против  $10,4 \pm 3,5$  мкмоль/л,  $p < 0,001$ ).

В указанном исследовании [58], кроме того, была показана корреляция между уровнем Нсу и размером левого предсердия ( $r=0,30$ ,  $p < 0,01$ ), а также С-концевым телопептидом коллагена 1 типа ( $r=0,36$ ,  $p < 0,001$ ) – маркером деградации коллагена 1 типа.

Отсутствие ассоциации между уровнем Нсу и рецидивированием ФП объясняется авторами тем, в процедура радиочастотной аблации устраняет предпосылки для развития аритмии, таким образом разрывая возможную связь между ФП и Нсу [58]. При этом в случае восстановления синусового ритма методом электроимпульсной терапии исходный (до кардиоверсии) уровень Нсу был ассоциирован с риском рецидива аритмии в последующем (после кардиоверсии): при  $\leq 14,4$  мкмоль/л ОШ 0,39 (95% ДИ 0,21-0,73,  $p=0,00$ ). Период времени от восстановления синусового ритма до развития рецидива ФП за 18 месяцев наблюдения также значимо различался в подгруппах с Нсу  $>$  и  $\leq 14,4$  мкмоль/л [59].

В работе R. Marcucci et al. [60] уровень Нсу у пациентов с неклапанной постоянной ФП был значимо выше, чем у пациентов без аритмии ( $14,8$  (5,4-54,1) и  $13,7$  (7,1-52,6) мкмоль/л, соответственно,  $p < 0,001$ ). Необходимо отметить, что среди пациентов, включенных в данное исследование, часто регистрировались тромботические осложнения: из 310 у 100 в анамнезе был ишемический инсульт, у 58 транзиторная ишемическая атака, у 10 – периферические тромбоэмбо-

лии. Также была показана ассоциация между превышением уровня Hcy выше 19,6 мкмоль/л (значение верхнего квартиля для данной выборки) и шансами развития ФП: отношение шансов 4,5 (2,73-7,44) при однофакторном анализе и 6,4 (3,29-12,46) после согласования по другим факторам риска развития ФП [60].

У лиц с постоянной неклапанной ФП уровень Hcy оказался повышенным и в исследовании В. Giusti et al. [61] относительно группы сравнения: 15,2 (95% ДИ 14,7-15,7 против 11,3 (95% ДИ 11,0-11,6 мкмоль/л,  $p < 0,0001$ ). Схожие результаты выявлены и относительно ассоциации HHcy и ФП (ОШ 2,8 (95% ДИ 1,68-4,54) при уровне Hcy выше нижнего квартиля в выборке, а при значении выше верхнего квартиля – ОШ 12,9 (95% ДИ 7,96-21,06) [61].

### **3.3.5 Транссульфирование гомоцистеина: изменение при фибрилляции предсердий**

Среди продуктов катаболизма Hcy наибольший интерес представляет цистеин (Cys), который образуется из Hcy через интермедиат цистатионин посредством двух ферментов: цистатионин  $\beta$ -синтазы и цистатионин  $\gamma$ -лиазы (транссульфирование) [62].

Связь между Hcy и Cys, по мнению ряда исследователей, не сводится к синтезу Cys из Hcy, а является более сложной. Так, при уровне Hcy менее 15 мкмоль/л имеется положительная корреляция между содержанием Cys и Hcy, что объясняется тем, что степень катаболизма Hcy по пути транссульфирования пропорциональна его исходному уровню, однако при уровне Hcy выше указанного значения связь обратная. Отсюда нарушение процессов транссульфирования Hcy расценивается как причина развития HHcy [63, 64].

Так, активность цистатионин  $\beta$ -синтазы значительно снижается в условиях гипоксии, поскольку данный фермент содержит гем в роли регуляторного кофактора – при связывании с кислородом гемовое железо переходит из двухвалентного в трехвалентное состояние, в котором цистатионин  $\beta$ -синтаза имеет более высокую каталитическую активность,

наоборот – при переходе из трех- в двухвалентное состояние активность фермента падает в 1,7 раза [65-67].

Поскольку ФП ассоциирована с гипоксией [22], возможно, что в основе развития ННсу лежит снижение активности цистатионин  $\beta$ -синтазы. Кроме того, Суs, по-видимому, влияет на биодоступность Нсу, т.к. является его переносчиком и конкурирует за связывание с белками [63].

### **3.4 Характеристика обмена гомоцистеина у пациентов с фибрилляцией предсердий (результаты собственного исследования)**

#### **3.4.1 Цель и задачи**

**Цель:** характеристика гомоцистеинемии при фибрилляции предсердий.

**Задачи:**

1) определить и провести сравнительный анализ уровня Нсу и других серосодержащих аминокислот при пароксизмальной, персистирующей и постоянной ФП, а также у больных без данной аритмии у практически здоровых лиц;

2) выявить ассоциации между гомоцистеинемией и другими функциональными, лабораторными и структурными параметрами сердечно-сосудистой системы;

3) оценить связь между уровнем Нсу и рецидивированием ФП, тромботическими осложнениями, прогрессированием ХСН, смертностью;

4) оценить динамику гомоцистеинемии при терапии контроля ритма или частоты сердечных сокращений с включением ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента у пациентов с ФП.

#### **3.4.2 Материал и методы**

Для решения поставленных задач на базе отделения нарушений ритма УЗ «Гродненский областной кардиологический диспансер» обследовано 140 человек, которые были разделены на 4 группы: группа 1 включала пациентов с пароксизмальной ФП (n=37), группа 2 – пациентов с персисти-

рующей ФП, группа 3 – пациентов с постоянной ФП. Группа сравнения (0) была сформирована из пациентов аналогичного половозрастного состава и нозологической структуры, но без анамнеза ФП.

Критериями включения служило наличие любой из вышеперечисленных форм ФП, развившейся на фоне АГ, ИБС, постмиокардитического кардиосклероза. Критериями исключения из исследования явилось наличие клапанной патологии сердца, выраженной ХСН выше 1 стадии либо выше 1 функционального класса, некорригированной функции щитовидной железы, сахарного диабета, ожирения, острого коронарного синдрома на момент обследования, инфаркта миокарда и нарушения мозгового кровообращения в анамнезе, активного воспалительного процесса любой локализации, другой значимой соматической патологии, предположительной связи между развитием ФП и алкогольными эксцессами.

Исходные клинико-анамнестические, лабораторные и эхокардиографические характеристики в группах пациентов представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Характеристика групп пациентов

Параметры	Группа 0 (n=29)	Группа 1 (n=37)	Группа 2 (n=28)	Группа 3 (n=46)	p
Возраст, лет	48 (41-53)	54 (46-60)	55 (49-59,5)	55 (50-59)	<0,01
Пол (м), n (%)	19 (65,5%)	27 (73,0%)	20 (71,4%)	39 (84,8%)	NS
АГ, n (%)	27 (93,1%)	29 (78,4%)	15 (53,6%)	37 (80,4%)	<0,01
1 ст., n (%)	11 (37,9%)	6 (16,2%)	2 (7,1%)	6 (13,0%)	<0,01
2 ст., n (%)	15 (51,7%)	21 (56,8%)	10 (35,7%)	26 (56,5%)	<0,01
3 ст., n (%)	1 (3,5%)	2 (5,4%)	3 (10,7%)	5 (10,9%)	<0,01
ИБС, n (%)	5 (17,2%)	25 (67,6%)	16 (57,1%)	22 (47,8%)	<0,001
ФК 1, n (%)	2 (6,9%)	16 (43,2%)	14 (50,0%)	15 (32,6%)	<0,001
ФК 2, n (%)	3 (10,3%)	5 (13,5%)	1 (3,6%)	6 (13,0%)	NS
ФК 3, n (%)	0 (0%)	4 (10,8%)	1 (3,6%)	1 (2,2%)	NS
ХСН, n (%)	11 (37,9%)	27 (73,0%)	25 (89,3%)	43 (93,5%)	<0,001
ФПn	-	2 (1-17,5)	1 (1-2)	1 (1-2)	<0,01
ФПt2, мес.	-	1 (1-2)	2,5 (2-4,5)	3 (2-6)	NS
ФПt1, мес.	-	16,3 (0,7-40,9)	5,9 (1,8-17,5)	7,3 (2-28,1)	NS
ББ, n (%)	17 (58,6%)	9 (24,3%)	13 (46,4%)	31 (67,4%)	<0,01
Амиодарон, n (%)	0 (0%)	22 (59,5%)	17 (60,7%)	22 (47,8%)	<0,001

Параметры	Группа 0 (n=29)	Группа 1 (n=37)	Группа 2 (n=28)	Группа 3 (n=46)	p
Соталол, n (%)	0 (0%)	5 (13,5%)	5 (17,9%)	4 (8,7%)	NS
Аспирин, n (%)	4 (13,8%)	16 (43,2%)	0 (0%)	3 (6,5%)	<0,001
Варфарин, n (%)	0 (0,0%)	11 (29,7%)	28 (100,0%)	43 (93,5%)	<0,001
Статины, n (%)	1 (3,4%)	7 (18,9%)	1 (3,6%)	4 (8,7%)	NS
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	27,7 (25,6-30,8)	28,4 (25,6-30,2)	27,7 (25,0-30,1)	29,5 (26,3-31,7)	NS
АДср, мм рт. ст.	94 (86-99)	92 (90-95)	92 (86-98)	96 (88-107)	NS
АДп, мм рт. ст.	43 (41-46)	42 (38-50)	38 (34-45)	42 (40-46)	NS
АДс, мм рт. ст.	124 (116-127)	121 (116-126)	118 (110-129)	124 (115-138)	NS
АДд, мм рт. ст.	80 (74-84)	78 (75-81)	78 (73-83)	83 (76-92)	NS
ЧССср., уд/мин	70 (64-76)	62 (59-72)	62 (58-69)	89 (71-96)	<0,001
ОХС, ммоль/л	5,4 (4,9-6,3)	5,2 (4,5-5,7)	5,3 (4,6-6,3)	5,4 (4,7-6,0)	NS
ТГ, ммоль/л	1,5 (1,4-1,9)	1,5 (1,3-1,9)	1,4 (1,1-1,6)	1,6 (1,3-2,0)	NS
ЛПВП, ммоль/л	1,1 (1,1-1,2)	1,1 (1,0-1,5)	1,6 (1,1-1,6)	1,1 (0,9-1,3)	NS
ГЛ, ммоль/л	4,5 (4,3-4,9)	4,4 (4,2-4,6)	4,5 (4,2-5)	4,5 (4,1-5,1)	NS
КРЕАТ, мкмоль/л	87,9 (80,5-92,9)	91,4 (85,0-101,4)	91,0 (81,0-98,6)	95,5 (82-105)	NS
АСТ, Ед/л	23,5 (19-30)	23 (20,9-29)	26 (19-32)	26 (21,5-34,5)	NS
АЛТ, Ед/л	25,5 (17,5-34,9)	27 (20-41)	29 (22-41)	28 (22,6-37,5)	NS
К, ммоль/л	4,5 (4,4-4,7)	4,6 (4,4-4,9)	4,6 (4,3-4,9)	4,7 (4,4-5)	NS
Na, ммоль/л	143 (142-145)	145 (143-146)	144 (142-146)	145 (142-145)	NS
Cl, ммоль/л	104 (103-106)	106 (104-108)	106 (103-108)	107 (105-109)	NS
ФИБР, г/л	3,7 (3,1-4,5)	3,7 (3,2-4,7)	4,0 (3,5-4,5)	4,1 (3,2-5)	NS
СРБ, мг/л	2,83 (1,05-3,77)	1,96 (0,9-3,25)	2,8 (1,35-4,15)	2,1 (1,4-4,1)	NS
ЛП, мм	35 (31-38)	37 (34-39)	40 (36-45)	42 (40-46)	<0,001
МЖП, мм	12 (11-13)	12 (11-13)	12 (11-13)	13 (12-15)	<0,01
ЗС ЛЖ, мм	11 (10-12)	11 (10-12)	12 (11-12)	12 (12-13)	<0,001
КДД, мм	49 (45-51)	50 (46-52)	51 (49-55)	55 (53-59)	<0,001

Параметры	Группа 0 (n=29)	Группа 1 (n=37)	Группа 2 (n=28)	Группа 3 (n=46)	p
КСД, мм	33 (28-34)	31 (28-32)	34 (30-37)	38 (35-44)	<0,001
КДО, мл	108 (99-125)	120 (100-131)	125 (112-147)	149 (133-169)	<0,001
КСО, мл	38 (29-48)	38 (30-40)	48 (33-59)	57 (50-86)	<0,001
УО, мл	70 (61-80)	80 (68-95)	79 (70-92)	82 (70-95)	<0,05
ФВ, %	64 (60-69)	69 (66-72)	63 (56-72)	57 (50-63)	<0,001
ПЖ, мм	24 (21-26)	23 (22-26)	25 (22-27)	26 (25-29)	<0,001
МР, n (%)	6 (20,7%)	15 (40,5%)	16 (57,1%)	30 (65,2%)	<0,05
ГЛЖ, n (%)	8 (27,6%)	15 (40,5%)	13 (46,4%)	33 (71,7%)	<0,01
АА, n (%)	9 (31,0%)	22 (59,5%)	20 (71,4%)	31 (67,4%)	<0,05
СРПВ, м/с	8,9 (7,9-9,8)	9,5 (8,8-11,6)	9,8 (8,8-10,7)	10,5 (9,3-12,4)	<0,001

Примечание: АГ – артериальная гипертензия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, ФПn – общее количество срывов ритма на фибрилляцию предсердий в анамнезе, ФПt2 – время от последнего срыва ритма до включения в исследование, ФПt1 – общая длительность анамнеза ФП, ББ – бета-адреноблокаторы, АДс – среднее артериальное давление по суточному профилю, АДп – пульсовое артериальное давление, АДс – систолическое артериальное давление, АДд – диастолическое артериальное давление, ОХС – общий холестерол, ТГ – триглицериды, ЛПВП – холестерол липопротеидов высокой плотности, ГЛ – глюкоза, КРЕАТ – креатинин, АСТ – аспарагиновая аминотрансфераза, АЛТ – аланиновая аминотрансфераза, К – калий, Na – натрий, Cl – хлор, ФИБР – фибриноген, СРБ – С-реактивный белок, ЛП – размер левого предсердия, МЖП – толщина межжелудочковой перегородки, ЗС ЛЖ – толщина задней стенки левого желудочка, КДД – конечно-диастолический диаметр левого желудочка, КСД – конечно-систолический диаметр левого желудочка, КДО – конечно-диастолический объем левого желудочка, КСО – конечно-систолический объем левого желудочка, УО – ударный объем, ФВ – фракция выброса левого желудочка, ПЖ – диаметр правого желудочка, МР – митральная регургитация, ГЛЖ – гипертрофия левого желудочка, АА – атеросклероз аорты, СРПВ – скорость распространения пульсовой волны, NS – незначимые различия.

Как видно, пациенты группы сравнения были несколько моложе, также данная группа характеризовалась диспропорцией частоты АГ и ИБС относительно групп пациентов с ФП. Более выраженные структурно-функциональные изменения (эхокардиографические данные, ЧСС, наличие ХСН) у пациентов с ФП, особенно постоянной, закономерны. Различия в лечении обусловлены характером основной патологии и риском осложнений. Таким образом, при выполнении последующих аналитических процедур требуется учет ряда факторов.

Следует отметить, что ряд пациентов до включения в протокол исследования получали гипотензивную (лизиноприл, эналаприл, бисопролол, метопролол и др.) и антиаритмическую терапию (амиодарон, соталол, этализин), однако лечение имело эпизодический характер. Повторное исследование у пациентов с ФП выполнялось перед выпиской пациента из стационара (медиана лечения 10 дней). Во время пребывания в стационаре терапия пациентов с пароксизмальной и персистирующей ФП соответствовала стратегии контроля ритма с назначением антиаритмических препаратов III либо II классов. Пациентам группы 2 выполняли электрическую кардиоверсию. Лечение пациентов с постоянной ФП соответствовало стратегии контроля ЧСС. Все пациенты получали антитромботическую терапию согласно величине риска по шкале CHADS<sub>2</sub>. Дополнительно, независимо от наличия АГ, ИБС, ХСН при условии отсутствия противопоказаний назначали один из иАПФ (эналаприл, лизиноприл, рамиприл).

После выписки из стационара осуществлялся ежемесячный контроль состояния пациентов с целью выявления рецидивирования ФП, развития тромботических осложнений, прогрессирования ХСН, смертельных исходов. Медиана длительности наблюдения составила 1 год (от 1 недели до 20 месяцев).

Исходно и после курса стационарного лечения определяли в плазме венозной крови общий Нсу. Забор крови производили натощак в одноразовую вакуумную пробирку с антикоагулянтом в необходимой пропорции, перемешивали и центрифугировали в течение 15 минут на 3000 оборотах в минуту, отбирали и замораживали при температуре -70°C 1 мл для последующего хранения и одновременного определения серии проб.

Для этого использовали высокоэффективный жидкостный хроматограф (HPLC Agilent 1100, HP, US), содержащий 4-канальный градиентный насос, термостат колонок, автосамплер и детектор флуоресценции. Разделение осуществляли на колонке Диасорб 130 C16T, 3x250 мм, 7 мкм. Подвижная фаза: 0,1 М NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 17 мМ CH<sub>3</sub>COOH, pH 3,65, 40 мг/л ЭДТА, 3% ацетонитрила. Скорость потока 0,6 мл/мин, тем-

пература колонки 30°C. Детектирование осуществлялось по флуоресценции (379/510 нм). Аминотиолы плазмы крови восстанавливали с помощью трис-(2-карбоксиэтил)-фосфина (ТСЕР) с последующей дериватизацией 7-флюоробензо-2-оксо-1,3-дiazол-4-сульфонатом аммония (SBD-F). В качестве внутреннего стандарта использовали N-ацетил цистеин (НАС). Регистрация хроматограмм и их количественная обработка осуществлялись с помощью Agilent ChemStation A10.01 (HP, US) [68, 69].

Параллельно определяли уровень других серосодержащих аминокислот и их продуктов обмена: метионина (Met), цистатионина (Ctn), цистеина (Cys), таурина (Tau), глутатиона (GSH), цистеинилглицина (Cys-Gly).

Общий Hcy включает свободную фракцию и различные его соединения посредством дисульфидных связей (с Cys, Hcy друг с другом, с белками плазмы). Эффекты Hcy обусловлены прежде всего циркулирующим свободным Hcy, однако выделение его в процессе хроматографического исследования невозможно ввиду взаимопереходов Hcy различными фракциями.

Методы статистического анализа включили описательные статистики (медиана и интерквартильный размах, абсолютные и относительные частоты); проверку соответствия распределения данных закону нормального распределения (W-тест Шапиро-Уилка) однородности дисперсий (тест Левина), непараметрические тесты: ранговый дисперсионный анализ (ДА) Краскела-Уоллиса для сравнения нескольких групп, U-тест Манна-Уитни для попарного сравнения двух групп с учетом поправки Бонферрони ( $p < 0,0083$ ), тест Вилкоксона для сравнения величин в динамике, корреляционный анализ Спирмена; многофакторный ДА с анализом эффектов первого порядка без взаимодействия факторов для согласования групп по полу, возрасту, нозологии; преобразование Бокса-Кокса для приведения распределения данных к нормальному; множественную линейную регрессию и логистическую регрессию для выявления зависимости между параметрами в случае количественного и бинарного отклика, соответственно. Сравнение частот выполнялось посредством

точного теста Фишера для двух групп и теста Хи<sup>2</sup> Пирсона в случае более чем 2 групп. Использовали следующие программы: Statistica 6.0 (Statsoft, US), Microsoft Excel 2007 (Microsoft, US), Attestat 10.5.1. (И.П. Гайдышев, РФ).

### 3.4.3 Результаты

В результате анализа исходных данных получили, что уровень общего Нсу составил в группе сравнения 9,8 (8,6-12,2) мкмоль/л, у пациентов с пароксизмальной ФП 10,4 (9,3-13,6) мкмоль/л, персистирующей ФП 10,0 (8,8-12,1) мкмоль/л и постоянной 11,1 (8,7-13,1) мкмоль/л (рисунок 3.1). При этом значения Нсу, несмотря на наличие тенденции к повышению, не различались как между группами, представляющими различные формы фибрилляции предсердий, так и по отношению к группе пациентов без анамнеза аритмии. Группы не различались между собой и после согласования по половозрастному составу и нозологической структуре ( $F=0,8$ ,  $p=0,5$ ).

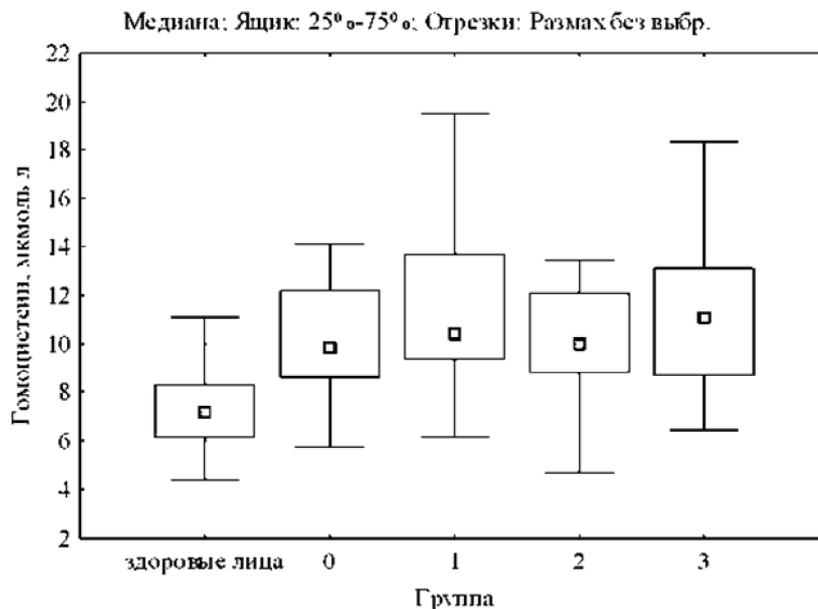


Рисунок 3.1 – Уровень общего Нсу в группах

Значение верхнего квартиля общего Нсу в исследуемой когорте составило 12,67 мкмоль/л. При распределении в группах относительно указанного значения получили, что гомоцистеинемия выше 12,67 мкмоль/л имела место у 6 (20,7%) пациентов в группе сравнения, 10 (27,0%) пациентов

с пароксизмальной, 5 (17,9%) с персистирующей и 14 (30,4%) с постоянной ФП. При распределении в группах относительно общепринятого верхнего референтного значения 15 мкмоль/л оказалось, что гипергомоцистеинемия имела место у 1 (3,5%) больного в группе 0, 6 (16,2%) в группе 1, 1 (3,6%) в группе 2, 7 (15,2%) в группе 3. Однако и при сравнении групп по частоте выявления гипергомоцистеинемии различия между группами выявлены не были ( $p > 0,05$ ).

Между тем, коллективом авторов [70, 71] при обследовании группы здоровых, некурящих лиц ( $n=37$ , 100% мужчины, возраст 43 (38-49) лет) получили уровень Нсу 7,2 (6,1-8,3) мкмоль/л. При сравнении относительно данной группы получили, что как пациенты с сердечно-сосудистой патологией без ФП, так и с аритмией имели значимо ( $p < 0,001$ ) более высокие значения Нсу. Данные различия сохраняли свою значимость и после согласования по половозрастной и нозологической структуре ( $F=3,1$ ,  $P=0,018$ ).

В таблицах 3.2 и 3.3 отражены значения серосодержащих аминокислот в группах и их корреляция с уровнем Нсу.

Таблица 3.2 – Значения серосодержащих аминокислот в группах

Параметры	Группа				p
	0	1	2	3	
Met	22,9 (19,9-27,5)	23,8 (18,5-31,3)	25,6 (20,2-31,4)	24,9 (21,4-31,4)	NS
Ctn	4,5 (2,8-5,4)	5,9 (4,3-8,1)	4,8 (4,0-7,5)	5,4 (4,1-7,5)	NS
Cys	291 (246-325)	280 (245-334)	293 (259-348)	260 (207-304)	NS
GSH	3,02 (2,28-3,77)	3,11 (2,18-3,84)	2,88 (1,80-4,01)	2,63 (1,79-3,58)	NS
Cys-Gly	69,7 (60,6-78,1)	73,9 (66,1-87,3)	81,6 (61,9-95,0)	82,9 (62,1-99,0)	NS
Tau	58,9 (47,7-103,2)	60,1 (50,7-87,0)	88,0 (53,6-106,8)	53,9 (45,2-61,2)	NS

Таблица 3.3 – Корреляции между уровнем Hcy и других серосодержащих аминокислот и их производных

Группа	Cys	Cys-Gly	GSH	Tau	Met	Ctn	
Hcy	0-3	0,36 ( $<0,001$ )	0,31 ( $<0,001$ )	0,06 (NS)	-0,12 (NS)	-0,18 ( $<0,05$ )	-0,05 (NS)
	0	0,16 (NS)	0,31 (NS)	0,11 (NS)	-0,03 (NS)	0,20 (NS)	0,36 (NS)
	1	0,30 (NS)	0,32 (NS)	-0,17 (NS)	-0,23 (NS)	-0,38 ( $<0,05$ )	-0,13 (NS)
	2	0,48 ( $<0,01$ )	-0,01 (NS)	0,13 (NS)	-0,08 (NS)	0,01 (NS)	-0,03 (NS)
	3	0,50 ( $<0,001$ )	0,53 ( $<0,001$ )	0,18 (NS)	-0,19 (NS)	-0,34 ( $<0,05$ )	-0,28 (NS)

Как видно, значимые различия между уровнем серосодержащих аминокислот и их производных между группами отсутствовали. Уровень Hcy коррелировал с таковым Cys, Cys-Gly и Met.

Cys/Hcy составил 29,0 (25,0-33,2) в группе сравнения; 26,4 (20,5-31,1) у больных с пароксизмальной ФП; 32,2 (25,1-35,3) у больных с персистирующей ФП; 24,0 (17,8-28,7) у больных с постоянной ФП (см. рисунок 3.2). При сравнении соотношения Cys и Hcy обнаружили значимые различия между группами ( $p<0,01$ ), что было обусловлено более низким значением в группе 3 относительно группы 2 и группы 0 ( $p<0,0083$ ). При согласовании по полу, возрасту, наличию АГ, ИБС, ХСН получили, что данное соотношение зависит в большей степени от пола больных ( $F=6,63$ ,  $p=0,01$ ) и наличия ИБС ( $F=7,18$ ,  $p=0,008$ ), относительно же наличия ФП ( $F=2,47$ ,  $p=0,06$ ) и ХСН ( $F=2,83$ ,  $p=0,08$ ) имела место положительная тенденция.

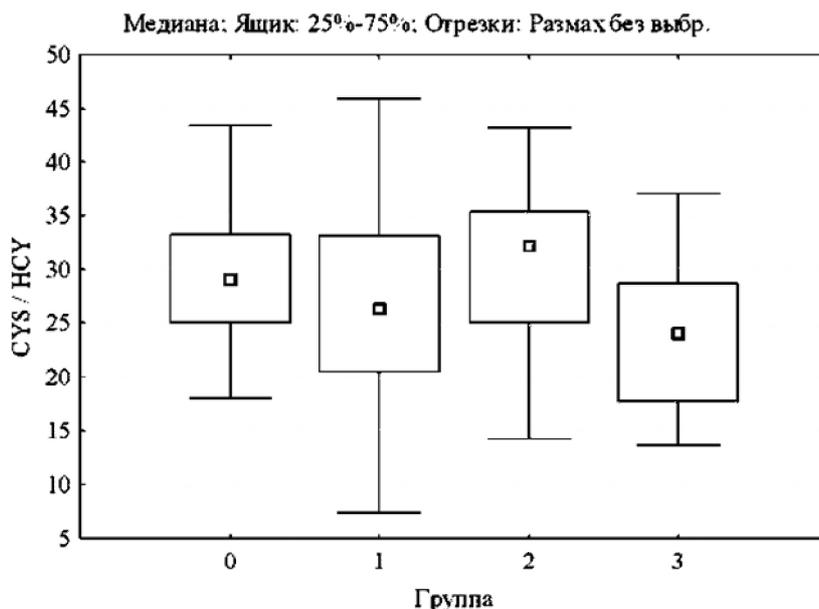


Рисунок 3.2 – Значения соотношения Cys/Нсу в группах

Установлена связь между уровнем общего Нсу и фибриногена (рисунки 3.3 и 3.4), который относится к воспалительным белкам. Данная связь имела место в группе 3 ( $R=0,44$ ,  $p<0,01$ ) и в целом в выборке ( $R=0,24$ ,  $p<0,01$ ). При этом следует отметить, что уровень Нсу не был ассоциирован с уровнем С-реактивного белка.

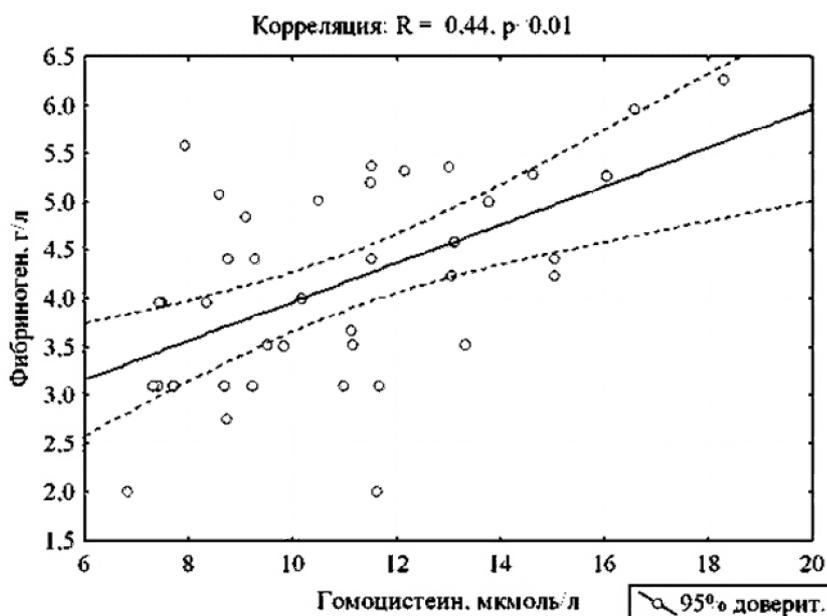
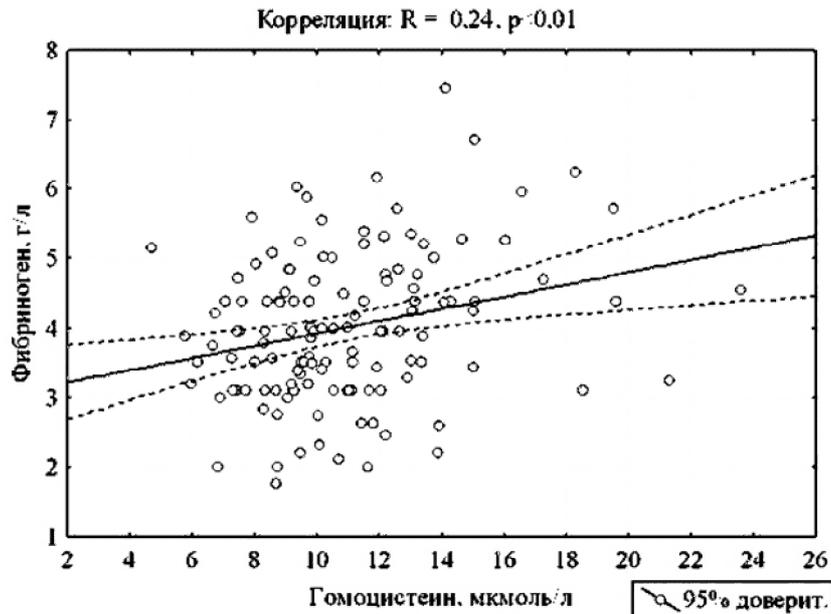
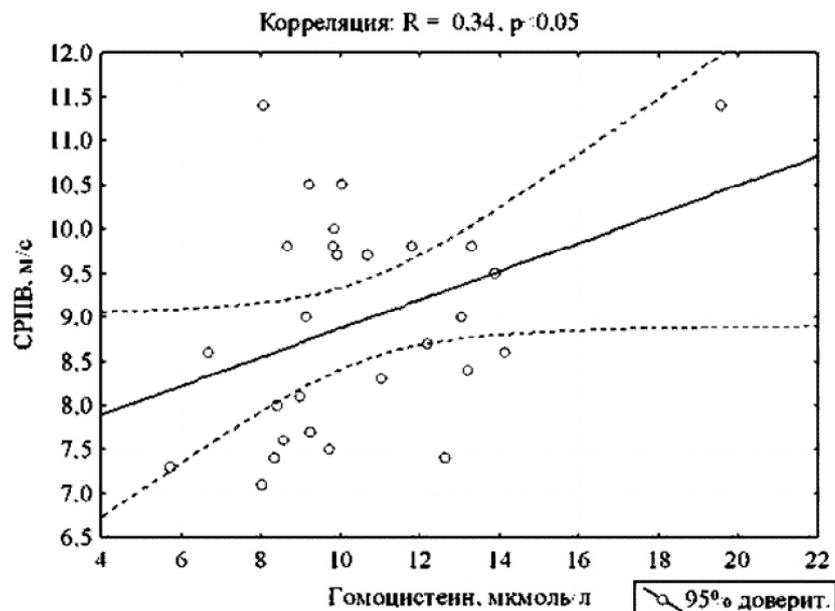


Рисунок 3.3 – Корреляция между уровнем общего Нсу и фибриногена у пациентов с постоянной ФП



**Рисунок 3.4 – Корреляция между уровнем общего Нсу и фибриногена в изучаемой выборке пациентов**

Также обнаружена ассоциация между уровнем Нсу и СРПВ (рисунки 3.5-3.7), которая характеризует артериальную жесткость: в группе 0 и 2  $R=0,34$  ( $p<0,05$ ), а в целом в когорте  $R=0,15$  ( $p<0,05$ ).



**Рисунок 3.5 – Корреляция между уровнем общего Нсу и СРПВ у пациентов без анамнеза ФП**

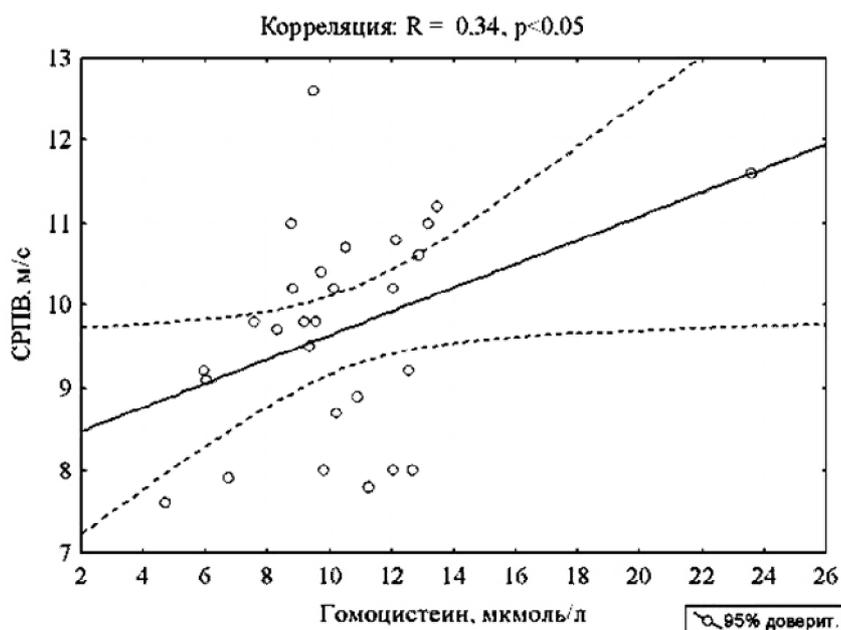


Рисунок 3.6 – Корреляция между уровнем общего Нсу и СРПВ у пациентов с персистирующей ФП

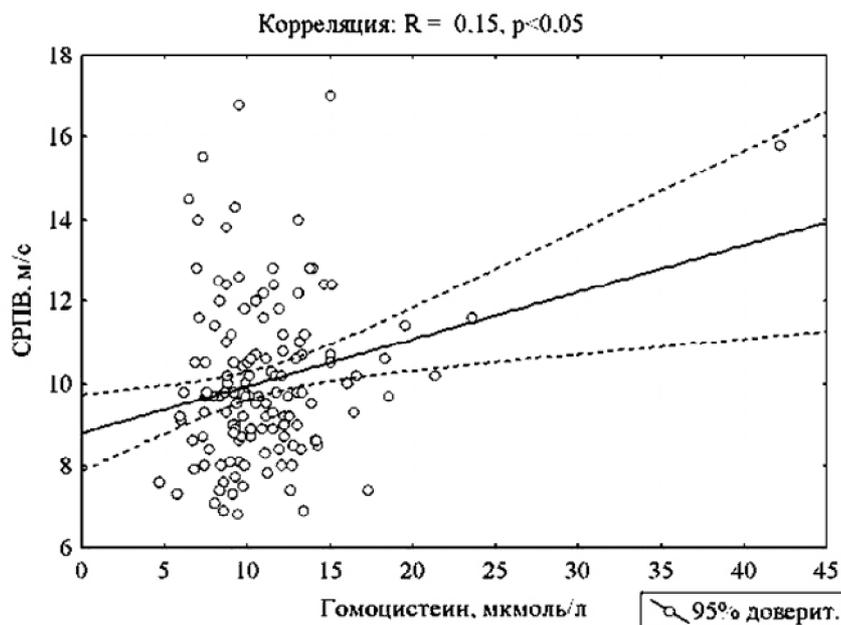
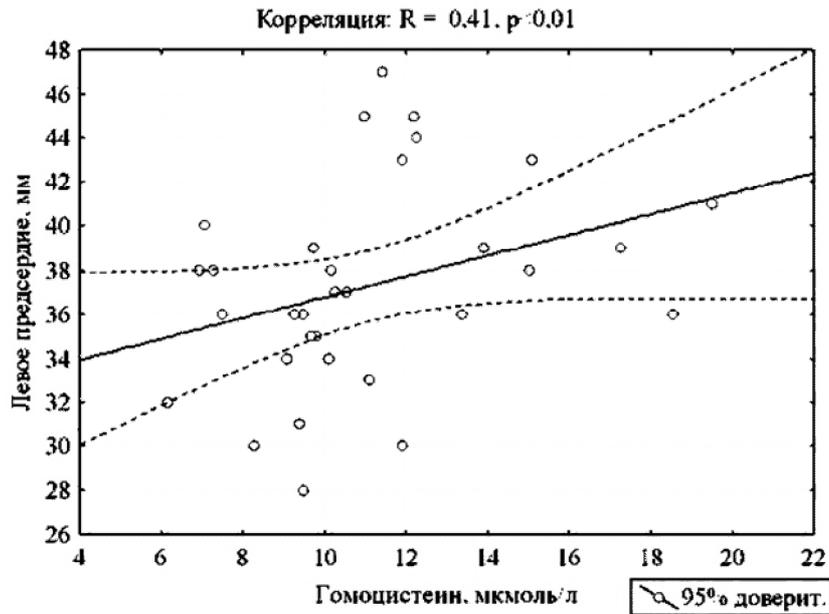
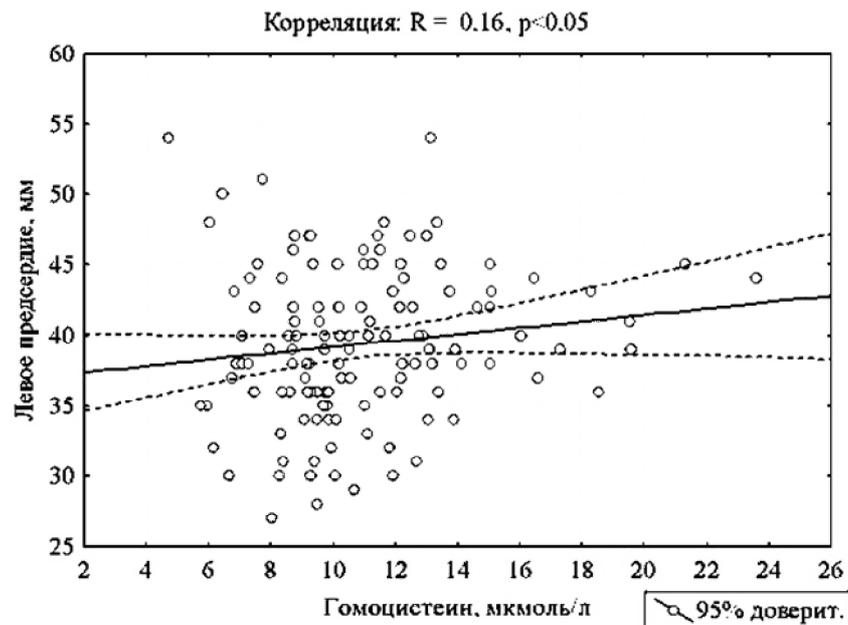


Рисунок 3.7 – Корреляция между уровнем общего Нсу и СРПВ в изучаемой выборке пациентов

Выявлена ассоциация уровня общего Нсу и размера ЛП при эхокардиографическом исследовании в М-режиме (рисунки 3.8 и 3.9). Данная ассоциация имела место у пациентов с пароксизмальной ФП ( $R=0,41, p<0,01$ ) и в целом в выборке пациентов ( $R=0,16, p<0,05$ ).



**Рисунок 3.8 – Корреляция между уровнем общего Нсу и размером ЛП у пациентов с пароксизмальной ФП**



**Рисунок 3.9 – Корреляция между уровнем общего Нсу и размером ЛП в изучаемой выборке пациентов**

Наибольший интерес для нас представляла зависимость между гомоцистеинемией и артериальной жесткостью. Поскольку последняя является интегральной структурно-функциональной характеристикой состояния артериального русла, понятно, что данная зависимость может быть случайной. Для устранения воздействия возможных третьих факторов была построена линейная регрессионная модель, вклю-

чившая в роли отклика СРПВ, а предикторов – общий Нсу, возраст и пол пациентов, наличие АГ, ИБС, ХСН, анамнеза ФП, а также среднесуточной ЧСС (ассоциация между ЧСС и СРПВ была показана нами ранее).

В результате получена значимая взаимосвязь между СРПВ и перечисленными выше предикторами ( $F=4,47$ ,  $p<0,001$ ). Коэффициент множественной корреляции  $R$  для модели в целом составил  $0,50$ , коэффициент детерминации  $R^2$   $0,25$ , скорректированный  $R^2$   $0,20$ . Итоги регрессионного анализа представлены в таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Итоги регрессионного анализа для зависимой переменной СРПВ (преобразованные данные,  $\lambda \approx -0,05$ )

Независ. переменные	$\beta$	$m$	$\beta$	$m$	Частная коррел.	Получастная коррел.	Толерантность	$t$	$p$
Пол	0,085	0,092	0,036	0,039	0,10	0,08	0,84	0,93	0,36
Возраст	0,136	0,110	0,134	0,109	0,12	0,10	0,58	1,23	0,22
ХСН	-0,113	0,112	-0,039	0,039	-0,10	-0,08	0,56	-1,01	0,32
ФП	0,375	0,102	0,169	0,046	0,34	0,31	0,68	3,67	0,00038
АГ	0,224	0,089	0,104	0,041	0,24	0,21	0,89	2,52	0,013
ИБС	-0,135	0,110	-0,051	0,042	-0,12	-0,10	0,58	-1,23	0,22
ЧСС <sub>ср.</sub>	0,217	0,095	0,225	0,099	0,22	0,19	0,78	2,29	0,024
Нсу	0,215	0,087	0,129	0,052	0,23	0,21	0,93	2,48	0,015

Примечание:  $\beta$  – стандартизованные регрессионные коэффициенты,  $\beta$  – регрессионные коэффициенты,  $m$  – стандартная ошибка, частные корреляции – корреляциями между соответствующей независимой переменной и зависимой переменной, скорректированными относительно других переменных, получастная корреляция – корреляциями между соответствующей независимой переменной, скорректированной относительно других переменных, и исходной (нескорректированной) зависимой переменной, толерантность – мера избыточности переменных в модели (чем ниже, тем более избыточна при заданных значениях другой переменной),  $t$  – значение  $t$ -критерия,  $p$ -вероятность ошибки первого рода.

Как видно, получена значимая положительная связь между СРПВ и наличием ФП, АГ, среднесуточным значением ЧСС, уровнем общего Нсу. Причем наибольший относительный вклад в предсказание СРПВ вносит наличие анамнеза

ФП; наличие АГ, среднесуточная ЧСС и уровень гомоцистеинемии примерно в одинаковой степени влияют на СРПВ.

С целью предупреждения ошибочной интерпретации уравнения регрессии (значения коэффициентов, уровень значимости) было проверено выполнение условий Гаусса-Маркова: отсутствие скоррелированности остатков (предсказанные значения минус наблюдаемые) между собой (серийная корреляция 0,06, статистика Дарбина-Уотсона 1,83); постоянство дисперсий случайных переменных во все моменты времени (гомоскедастичность модели (рисунок 3.10)); отсутствие мультиколлинеарности переменных (таблица 3.5); распределение остатков подчиняется закону нормального распределения (рисунок 3.11).



**Рисунок 3.10 – Распределение остатков относительно предсказанных значений**

**Таблица 3.5 – Корреляции переменных в уравнении**

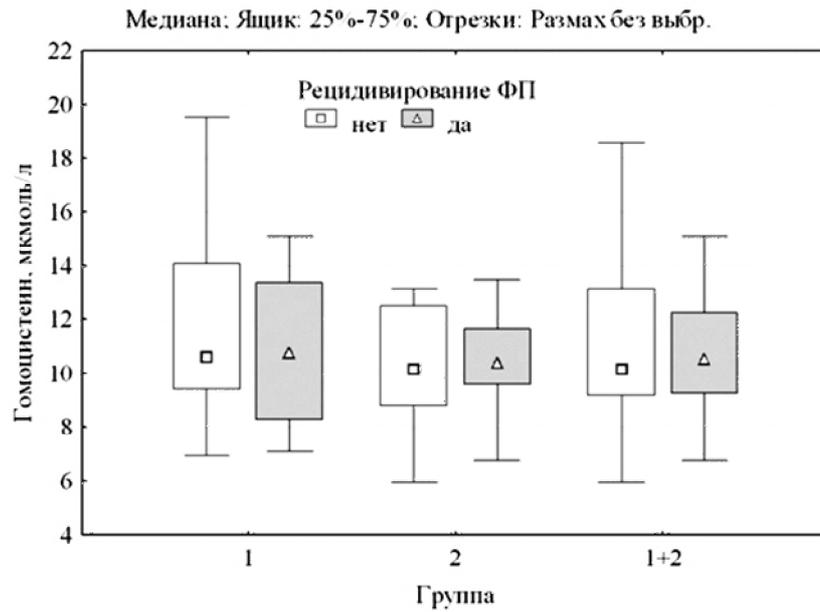
Параметры	Пол	Возраст	ХСН	ФП	АГ	ИБС	ЧСС	Нсу
Пол		0,134	0,082	-0,017	0,127	-0,318	-0,175	-0,193
Возраст	0,134		-0,348	0,011	-0,063	-0,401	0,194	-0,047
ХСН	0,082	-0,348		-0,399	-0,126	-0,118	-0,377	-0,006
ФП	-0,017	0,011	-0,399		0,258	-0,174	0,109	-0,097
АГ	0,127	-0,063	-0,126	0,258		-0,053	-0,027	-0,134
ИБС	-0,318	-0,401	-0,118	-0,174	-0,053		0,221	0,039
ЧСС	-0,175	0,194	-0,377	0,109	-0,027	0,221		0,057
Нсу	-0,193	-0,047	-0,006	-0,097	-0,134	0,039	0,057	



**Рисунок 3.11 – Нормальный вероятностный график остатков**

Рецидивирование ФП имело место в 10 случаях в группе 1 (27,0%) и 12 случаях в группе 2 (42,9%), из них в постоянную форму ФП перешла у двух пациентов (по одному в каждой группе – 2,7% и 7,1%, соответственно).

У пациентов с пароксизмальной ФП без рецидива ФП общий Нсу был на уровне 10,6 (9,4-14,1) мкмоль/л, у больных с рецидивом 10,8 (8,3-13,4) мкмоль/л ( $p>0,05$ ). В группе 2, соответственно, 10,2 (8,8-12,6) мкмоль/л и 10,4 (9,6-11,6) мкмоль/л ( $p>0,05$ ). При объединении указанных двух групп значения гомоцистеинемии также не различались – 10,2 (9,2-13,2) мкмоль/л и 10,5 (9,3-12,3) мкмоль/л (рисунок 3.12). Пациенты с рецидивом ФП, у которых удалось восстановить синусовый ритм, характеризовались несколько более низким уровнем общего Нсу – 10,2 (9,3-12,9) мкмоль/л, тогда как у больных, у которых ФП трансформировалась в постоянную форму – 11,5 (11,0-12,1) мкмоль/л, однако данные различия были незначимы (рисунок 3.13).



**Рисунок 3.12 – Уровень общего Нсу у пациентов с пароксизмальной (1), персистирующей (2) и в двух вместе взятых группах (1+2) ФП с рецидивом аритмии и без такового за изучаемый промежуток времени**



**Рисунок 3.13 – Уровень общего Нсу у пациентов, у которых синусовый ритм был восстановлен (0), либо ФП перешла в постоянную форму (1)**

Таким образом, течение ФП не зависело от исходного уровня Нсу (таблица 3.6).

Таблица 3.6 – Отношения шансов (ОШ) рецидивирования ФП в группах и перехода в постоянную форму в зависимости от уровня общего Нсу

Группа	Результаты однофакторного анализа				Результаты после согласования по половозрастному составу и нозологической структуре			
	ОШ	-95% ДИ	+95% ДИ	р	ОШ	-95% ДИ	+95% ДИ	Р
1	0,91	0,73	1,14	0,39	1,09	0,86	1,39	0,45
2	0,91	0,70	1,19	0,48	1,17	0,85	1,61	0,33
1+2	0,91	0,77	1,07	0,23	1,1	0,93	1,30	0,25
Постоянная ФП	1,0	0,75	1,32	0,98	1,02	0,77	1,36	0,89

Прогрессирование ХСН за исследуемый период времени имело место у 13 (9,3%) пациентов: 2 (5,4%) в группе больных с пароксизмальной ФП и 11 (23,9%) больных в группе с постоянной ФП. У больных с прогрессированием ХСН уровень общего НСУ был незначимо выше (11,9 (8,6-13,3) мкмоль/л), чем таковой у пациентов со стабильным течением (10,2 (8,8-12,6) мкмоль/л) (рисунок 3.14). ОШ прогрессирования ХСН составило 0,97, 95% ДИ 0,86-1,09 (р=0,58), после согласования связь между гомоцистеинемией и обострением ХСН также отсутствовала.

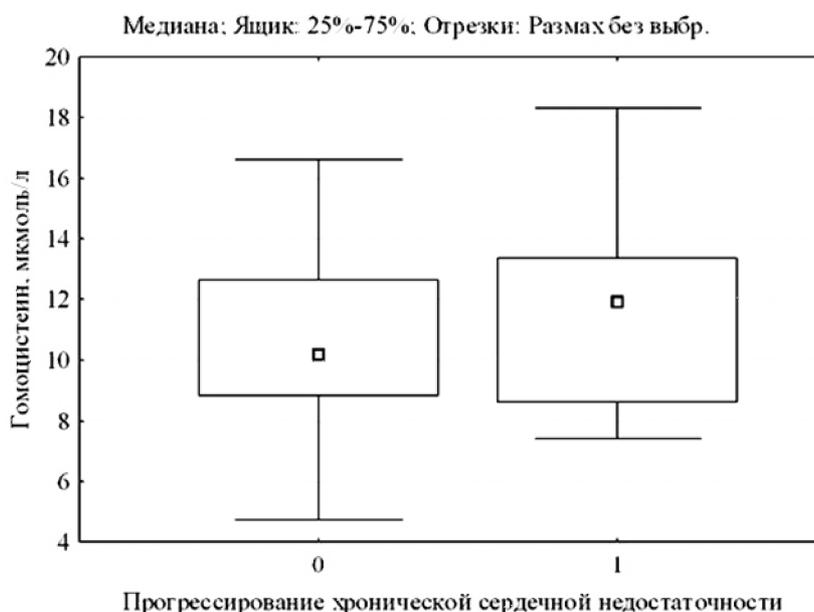
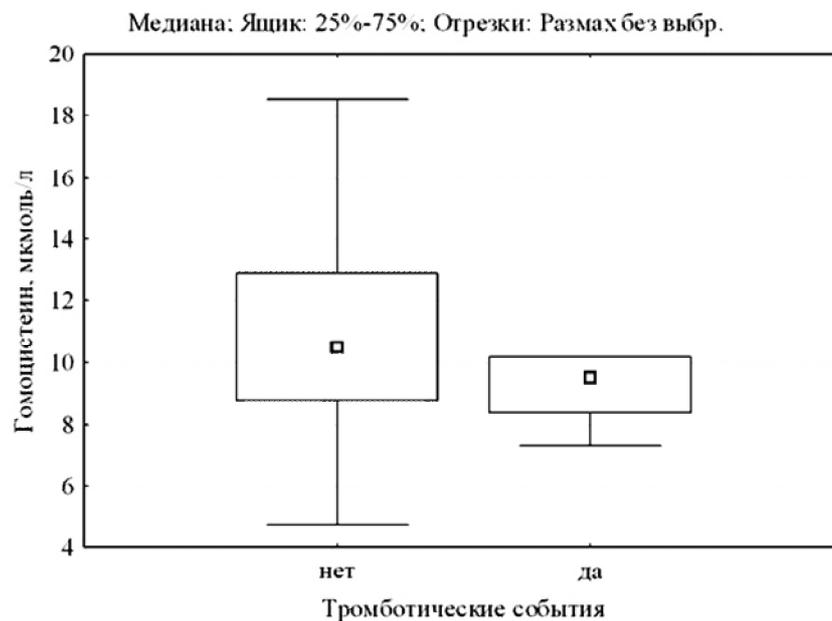


Рисунок 3.14 – Уровень общего Нсу у пациентов со стабильным течением (0) и прогрессированием / развитием (1) ХСН

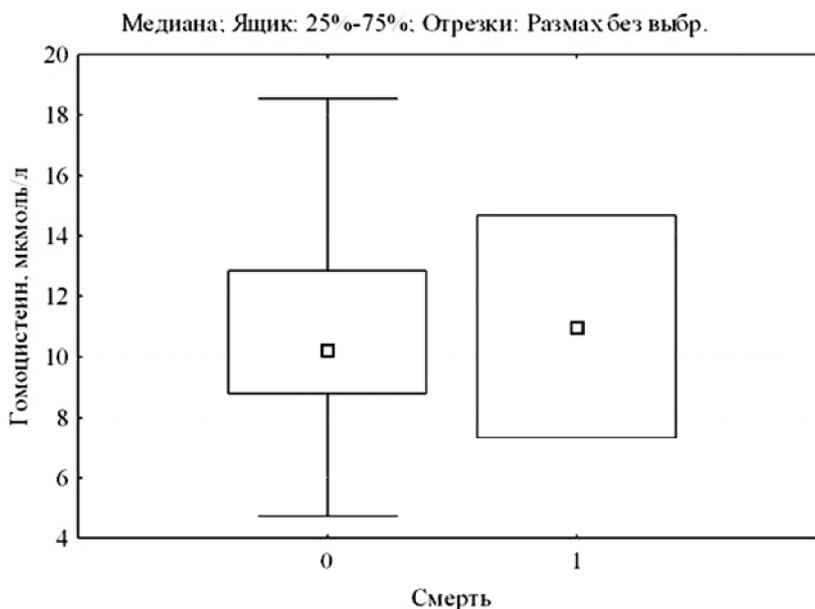
Тромботические осложнения развились у 6 (4,3%) больных: у 2 (5,4%) в группе 1 и 4 (8,7%) в группе 3; из них ТЭЛА у 1 (2,2%) в группе 3, ИМ у 1 (2,7%) в группе 1 и 1 (2,2%) в группе 3, инсульт у 1 (2,7%) в группе 1 и 2 (4,3%) в группе 3.

Уровень общего Нсу у пациентов с тромботическими осложнениями был незначимо ниже (9,5 (8,3-10,2) мкмоль/л), чем у больных без них (10,5 (8,8-12,9) мкмоль/л). Шансы развития тромботических осложнений не зависели от гомоцистеинемии – ОШ 0,89, 95% ДИ 0,66-1,20 ( $p=0,43$ ), после согласования ОШ 0,87, 95% ДИ 0,64-1,20 ( $p=0,41$ ) (рисунок 3.15).



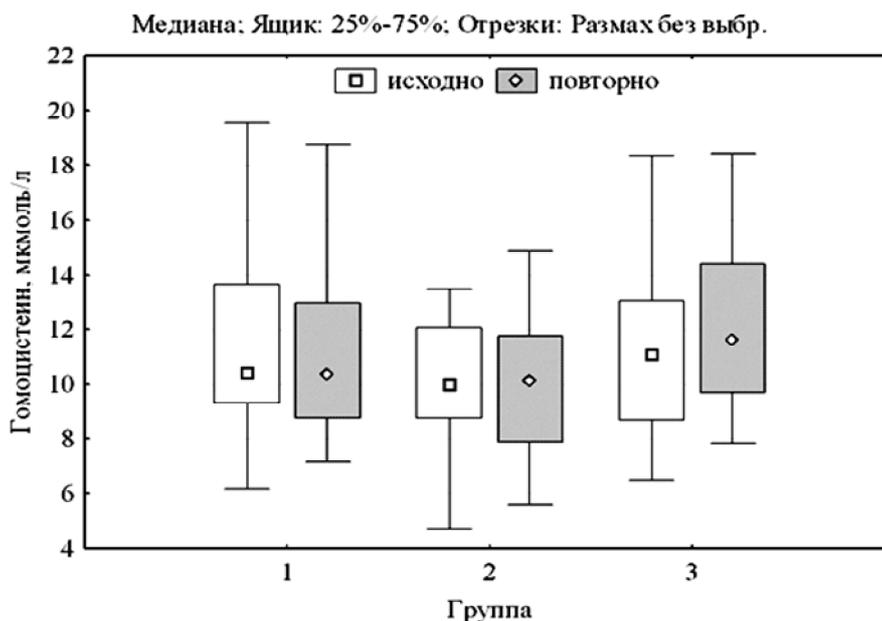
**Рисунок 3.15 – Уровень Нсу у пациентов с тромботическими осложнениями и без таковых**

Умерли всего 2 (1,4%) пациента, оба в группе 3: причиной смерти в одном случае был инсульт, во втором – прогрессирование ХСН. Общий Нсу у умерших пациентов не отличался от выживших: 11,0 (7,3-14,6) и 10,2 (8,8-12,8) мкмоль/л, соответственно (рисунок 3.16). Уровень общего Нсу не был ассоциирован со смертностью: ОШ составило 0,99, 95% ДИ 0,69-1,42 ( $p=0,94$ ), после согласования 0,94, 95% ДИ 0,6-1,49 ( $p=0,79$ ).



**Рисунок 3.16 – Уровень Нсу у умерших (1) и выживших (0) пациентов**

После курса стационарного лечения согласно общепринятым стратегиям уровень гомоцистеинемии не изменился ( $p > 0,05$ ): 10,3 (8,8-12,9) против исходных 10,4 (9,3-13,6) мкмоль/л в группе 1; 10,1 (7,9-11,7) против 10,0 (8,8-12,1) мкмоль/л в группе 2; 11,6 (9,7-14,4) против 11,1 (8,7-13,1) мкмоль/л в группе 3 (рисунок 3.17).



**Рисунок 3.17 – Динамика общего Нсу в группах**

### 3.4.4 Выводы

1. Уровень общего Нсу у пациентов с ФП, развившейся на фоне АГ, ИБС, постмиокардитического кардиосклероза значимо выше, чем у здоровых лиц.

2. Уровень общего Нсу у пациентов с ФП не отличается от такового у пациентов с аналогичной сердечно-сосудистой патологией, но без данной аритмии.

3. Уровень общего Нсу не различается при пароксизмальной, персистирующей и постоянной ФП.

4. У пациентов с сердечно-сосудистой патологией, как осложненной ФП, так и без нее, уровень серосодержащих аминокислот и их производных между группами не различается.

5. При ФП имеет место тенденция к нарушению транссульфурирования Нсу, что проявляется повышением соотношения Су<sub>с</sub>/Нсу у пациентов с постоянной ФП и может являться основой для развития у них гипергомоцистеинемии.

6. Уровень общего Нсу у пациентов с ФП ассоциирован с размером левого предсердия, фибриногеном и скоростью распространения пульсовой волны.

7. Связь между уровнем общего Нсу и СРПВ носит независимый характер от пола и возраста больных, среднесуточной ЧСС наличия у них АГ, ИБС, ХСН.

8. Исходный уровень Нсу не ассоциирован с развитием в течение года рецидивов ФП, переходом ФП в постоянную форму, тромботическими событиями, прогрессированием ХСН, смертностью.

9. Стандартная комбинированная терапия контроля ритма или ЧСС с включением ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента в течение 10 дней не оказывает влияния на уровень гомотеинемии.

### Литература

1. Epidemiology and natural history of atrial fibrillation: clinical implications / S.S. Chugh [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2001. – Vol. 37, № 2. – P. 371-378.

2. Guidelines for the management of atrial fibrillation. The Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Soci-

ety of Cardiology (ESC) / A. J. Camm [et al.] // Eur. Heart J. [Electronic resource]. – 2010. – Mode of Access: <http://eurheartj.oxfordjournals.org/content/early/2010/08/28/eurheartj.ehq278.full>. – Date of Access: 20.09.2010.

3. Prevalence, incidence, prognosis, and predisposing conditions for atrial fibrillation: population-based estimates / W.B. Kannel [et al.] // Am. J. Cardiol. – 1998. – Vol. 82, № 8A. – P. 2N-9N.

4. Current concepts in the pathogenesis of atrial fibrillation / A. Kourliouros [et al.] // Am. Heart J. – 2009. – Vol. 157, № 2. – P. 243-252.

5. Casaclang-Verzosa, G. Structural and functional remodeling of the left atrium / G. Casaclang-Verzosa, B.J. Gersh, T.S.M. Tsang // J. Am. Coll. Cardiol. – 2008. – Vol. 51, № 1. – P. 1-11.

6. Mechanisms of atrial fibrillation: lessons from animal models / S. Nattel [et al.] // Prog. Cardiovasc. Dis. – 2005. – Vol. 48, № 1. – P. 9-28.

7. Этиология, механизмы возникновения и фармакотерапия пациентов с фибрилляцией предсердий / А.Г. Мрочек [и др.] // Кардиология в Беларуси. – 2009. – № 1. – С. 32-45.

8. Van Wagoner, D.R. Is homocysteine a mediator of atrial dysfunction or just another marker of endothelial dysfunction? / D.R. Van Wagoner // Europace. – 2008. – Vol. 10. – P. 899–900.

9. Biochemistry of homocysteine in health and diseases / S. Ramakrishnan [et al.] // Indian J. Biochem. Biophys. – 2006. – Vol. 43. – P. 275-283.

10. The correlation of homocysteine-thiolactonase activity of the paraoxonase (PON1) protein with coronary heart disease status / T.B. Domagala [et al.] // Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand). – 2006. – Vol. 52. – P. 4–10.

11. Jacobsen, D.W. Hyperhomocysteinemia and oxidative stress: time for a reality check? / D.W. Jacobsen // Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol. – 2000. – Vol. 20. – P. 1182-1184.

12. Hussain, S.G. Endoplasmic reticulum: Stress, signalling and apoptosis / S.G. Hussain, K.V.A. Ramaiah // Curr. Sci. – 2007. – Vol. 93, № 12. – P. 1684-1696.

13. Hunt, M.J. Peroxisome proliferators compete and ameliorate Hcy-mediated endocardial endothelial cell activation / M.J. Hunt, S.C. Tyagi // Am. J. Physiol. Cell. – 2002. – Vol. 283. – P. 1073-1079.

14. Influence of homocysteine on matrix metalloproteinase-2: activation and activity / A. Bescond [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1999. – Vol. 263. – P. 498-503.

15. Altered expression of ADAMs (A Disintegrin And Metalloproteinase) in fibrillating human atria / M. Arndt [et al.] // *Circulation*. – 2002. – Vol. 105. – P. 720-725.
16. Homocysteine modulates sodium channel currents in human atrial myocytes / B. Cai [et al.] // *Toxicology*. – 2009. – Vol. 256, № 3. – P. 201-206.
17. Homocysteine inhibits potassium channels in human atrial myocytes / B.Z. Cai [et al.] // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2007. – Vol. 34, № 9. – P. 851-855.
18. Effects of elevated Homocysteine hormone on electrical activity in the human atrium: A simulation study / P. Law [et al.] // *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* – 2009. – Vol. 2009. – P. 3936-3939.
19. Hyperhomocysteinemia and sudden cardiac death: potential arrhythmogenic mechanisms / C. Maldonado [et al.] // *Curr. Vasc. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 8, № 1. – P. 64-74.
20. Van Wagoner, D.R. Oxidative stress and inflammation in atrial fibrillation: role in pathogenesis and potential as a therapeutic target / D.R. Van Wagoner // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 52, № 4. – P. 306-313.
21. Calcium-sensing receptors regulate cardiomyocyte Ca<sup>2+</sup> signaling via the sarcoplasmic reticulum-mitochondrion interface during hypoxia/reoxygenation / L. Fang-Hao [et al.] // *J. Biomed. Sci.* [Electronic resource]. – 2010. – Mode of access : <http://www.jbiomedsci.com/content/17/1/50>. – Date of access : 01.10.2010.
22. Gramley, F Atrial fibrillation is associated with cardiac hypoxia / F. Gramley // *Cardiovasc. Pathol.* – 2010. – Vol. 19, № 2. – P. 102-111.
23. Shoheit, R.V. Keeping the engine primed: HIF factors as key regulators of cardiac metabolism and angiogenesis during ischemia / R.V. Shoheit, J.A. Garcia // *J. Mol. Med.* – 2007. – Vol. 85, № 12. – P. 1309-1315.
24. Homocysteine, a risk factor for premature vascular disease and thrombosis, induces tissue factor activity in endothelial cells / R.H. Fryer [et al.] // *Arterioscler. Thromb.* – 1993. – Vol. 13. – P. 1327-1333.
25. Homocysteine inhibits inactivation of factor Va by activated protein C. / A. Undas [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 4389-4397.

26. Hayashi, T. An atherogenic stimulus homocysteine inhibits cofactor activity of thrombomodulin and enhances thrombomodulin expression in human umbilical vein endothelial cells / T. Hayashi, G. Honda, K. Suzuki // *Blood*. – 1992. – Vol. 79. – P. 2930-2936.

27. Homocysteine-induced modulation of tissue plasminogen activator binding to its endothelial cell membrane receptor / K.A. Hajjar [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1993. – Vol. 91. – P. 2873-2879.

28. Hyperhomocysteinemia is associated with the presence of left atrial thrombus in stroke patients with nonvalvular atrial fibrillation / H. Ay [et al.] // *Stroke*. – 2003. – Vol. 34, № 4. – P. 909-912.

29. Role of homocysteine for thromboembolic complication in patients with non-valvular atrial fibrillation / B.Y. Cingozbay [et al.] // *Blood Coagul. Fibrinolysis*. – 2002. – Vol. 13, № 7. – P. 609-613.

30. Culprit factors for the failure of well-conducted warfarin therapy to prevent ischemic events in patients with atrial fibrillation: the role of homocysteine / D. Poli [et al.] // *Stroke*. – 2005. – Vol. 36. – P. 2159-2163.

31. Nadar, S. Homocysteine and the risk of stroke and thromboembolism in atrial fibrillation: an uncertain role / S. Nadar, G.Y. Lip // *Stroke*. – 2003. – Vol. 34, № 9. – P. e143.

32. Nadar, S. Homocysteine is unlikely to be associated with the risk of thromboembolic complications in atrial fibrillation / S. Nadar, A. Blann, G.Y. Lip // *Blood Coagul. Fibrinolysis*. – 2003. – Vol. 14, № 5. – P. 513-514.

33. Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population / T. Willum-Hansen [et al.] // *Circulation*. – 2006. – Vol. 113, № 5. – P. 664-670.

34. Kingwell, B.A. Arterial stiffness and prediction of cardiovascular risk / B.A. Kingwell, C.D. Gatzka // *J. Hypertens.* – 2002. – Vol. 20, № 12. – P. 2337-2340.

35. Augmentation index is associated with cardiovascular risk / J. Nürnberger [et al.] // *J. Hypertens.* – 2002. – Vol. 20, № 12. – P. 2407-2414.

36. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients / S. Laurent [et al.] // *Hypertension*. – 2001. – Vol. 37. – P. 1236-1241.

37. Cross-sectional correlates of increased aortic stiffness in the community: the Framingham Heart Study. / G.F. Mitchell [et al.] // *Circulation*. – 2007. – Vol. 115. – P. 2628-2636.

38. Cross-sectional relations of peripheral microvascular function, cardiovascular disease risk factors, and aortic stiffness: the Fram-

ingham Heart Study / G.F. Mitchell [et al.] // *Circulation*. – 2005. – Vol. 112. – P. 3722–3728.

39. A multi-marker approach to evaluate correlates of vascular stiffness: The Framingham Heart Study / W. Lieb [et al.] // *Circulation*. – 2009. – Vol. 119, № 1. – P. 37–43.

40. Plasma homocysteine, aortic stiffness, and renal function in hypertensive patients / L. Bortolotto [et al.] // *Hypertension*. – 1999. – Vol. 34. – P. 837–842.

41. Small artery mechanics in hyperhomocysteinemic mice: effects of angiotensin II / M.F. Neves [et al.] // *J. Hypertens.* – 2004. – Vol. 22. – P. 959–966.

42. Associations between plasma homocysteine levels, aortic stiffness and wave reflection in patients with arterial hypertension, isolated office hypertension and normotensive controls / G. Vyssoulis [et al.] // *JHH*. – 2010. – Vol. 24. – P. 183–189.

43. Carotid and femoral artery wall thickness and stiffness in patients at risk for cardiovascular disease, with special emphasis on hyperhomocysteinemia / T.J. Smilde [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2001. – Vol. 18. – P. 1958–1963.

44. Lambert, J. Familial hyperhomocysteinemia and endothelium-dependent vasodilation and arterial distensibility of large arteries / J. Lambert // *Cardiovasc. Res.* – 2001. – Vol. 42. – P. 743–751.

45. Long-term homocysteine-lowering treatment with folic acid plus pyridoxine is associated with decreased blood pressure but not with improved brachial artery endothelium-dependent vasodilation or carotid artery stiffness / R. van Dijk [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2001. – Vol. 21. – P. 2072–2079.

46. Carotid artery stiffness in patients with end-stage renal disease: no effect of long-term homocysteine-lowering therapy / C. van Guldener [et al.] // *Clin. Nephrol.* – 2000. – Vol. 53. – P. 33–41.

47. Folic acid supplementation for 3 weeks reduces pulse pressure and large artery stiffness independent of MTHFR genotype / C. Williams [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2005. – Vol. 82. – P. 26–31.

48. Homocysteine is not associated with arterial thickness and stiffness in healthy middle-aged French volunteers / A. De Bree [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2006. – Vol. 113. – P. 332–340.

49. Hyperhomocysteinemia increases arterial permeability and stiffness in mice / A.E. Mullick [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2006. – Vol. 291. – P. R1349–R1354.

50. Resistance artery mechanics, structure, and extracellular components in spontaneously hypertensive rats. Effects of angiotensin

receptor antagonism and converting enzyme inhibition / H.D. Intengan [et al.] // *Circulation*. – 1999. – Vol. 100. – P. 2267–2275.

51. Majors, A. Homocysteine as a risk factor for vascular disease: enhanced collagen production and accumulation by smooth muscle cells / A. Majors, A. Ehrhart, E.H. Pezacka // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1997. – Vol. 17. – P. 2074–2081.

52. Small artery mechanics in hyperhomocysteinemic mice: effects of angiotensin II / M.F. Neves [et al.] // *J. Hypertens.* – 2004. – Vol. 22. – P. 959–966.

53. Mujumdar, V.S. Induction of oxidative stress by homocyst(e)ine impairs endothelial function / V.S. Mujumdar, G.M. Aru, S.C. Tyagi // *J. Cell. Biochem.* – 2001. – Vol. 82. – P. 491–500.

54. Functional consequences of the collagen/elastin switch in vascular remodeling in hyperhomocysteinemic wild type, eNOS<sup>-/-</sup> and iNOS<sup>-/-</sup> mice / M.M. Steed [et al.] // *J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* [Electronic resource]. – 2010. – Mode of Access : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20581102>. – Date of Access : 10.08.2010.

55. Relations of biomarkers of distinct pathophysiological pathways and atrial fibrillation incidence in the community / R.B. Schnabel [et al.] // *Circulation*. – 2010. – Vol. 121, № 2. – P. 200–207.

56. Development of a risk score for atrial fibrillation (Framingham Heart Study): a community-based cohort / R.B. Schnabel [et al.] // *Lancet*. – 2009. – Vol. 373. – P. 739–745.

57. Friedman, H.S. Serum homocysteine and stroke in atrial fibrillation / H.S. Friedman // *Ann. Intern. Med.* – 2001. – Vol. 134. – P. 253–254.

58. Circulating homocysteine levels in patients with radiofrequency catheter ablation for atrial fibrillation / M. Shimano [et al.] // *Europace*. – 2008. – Vol. 10. – P. 961–966.

59. High homocysteine levels predict the recurrence of atrial fibrillation after successful electrical cardioversion / F. Naji [et al.] // *Int. Heart J.* – 2010. – Vol. 51, № 1. – P. 30–33.

60. Hyperhomocysteinemia and vitamin B6 deficiency: new risk markers for nonvalvular atrial fibrillation? / R. Marcucci [et al.] // *Am. Heart J.* – 2004. – Vol. 148. – P. 456–461.

61. Role of C677T and A1298C MTHFR, A2756G MTR and -786 C/T eNOS gene polymorphisms in atrial fibrillation susceptibility / B. Giusti [et al.] // *PLoS ONE*. – 2007. – Vol. 2, № 6. – P. e495.

62. Selhub, J. Homocysteine metabolism / J. Selhub // *Annu. Rev. Nutr.* – 1999. – Vol. 19. – P. 217–246.

63. Hortin, G.L. Relationships among Plasma Homocysteine, Cysteine, and Albumin Concentrations: Potential Utility of Assessing the Cysteine/Homocysteine Ratio / G.L. Hortin, P. Sullivan, G. Csako // *Clin. Chem.* – 2001. – Vol. 47, № 6. – P. 1121-1124.

64. El-Khairi, L. Lifestyle and cardiovascular disease risk factors as determinants of total cysteine in plasma: the Hordaland Homocysteine Study / *Am. J. Clin. Nutr.* – 1999. – Vol. 70. – P. 1016–1024.

65. Reaction mechanism and regulation of cystathionine beta-synthase / R. Banerjee [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2003. – Vol. 1647, № 1-2. – P. 30-35.

66. Heme regulation of human cystathionine beta-synthase activity: insights from fluorescence and Raman spectroscopy / C.L. Weeks [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 2009. – Vol. 131, № 35. – P. 12809-12816.

67. Modulation of the heme electronic structure and cystathionine beta-synthase activity by second coordination sphere ligands: The role of heme ligand switching in redox regulation / S. Singh [et al.] // *J. Inorg. Biochem.* – 2009. – Vol. 103, № 5. – P. 689-697.

68. Pfeiffer, C.M. Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homocysteine and cysteine in a clinical laboratory setting / C.M. Pfeiffer, D.L. Huff, E.W. Gunter // *Clin. Chem.* – 1999. – Vol. 45. – P. 290–292.

69. Nolin, T.D. Simultaneous determination of total homocysteine, cysteine, cysteinylglycine, and glutathione in human plasma by high-performance liquid chromatography: Application to studies of oxidative stress / T.D. Nolin, M.E. McMenamin, J. Himmelfarbac // *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* [Electronic resource]. – 2010. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1959569/>. – Date of access: 20.11.2010.

70. Пицко, Д.В. Коррекция дисфункции эндотелия у больных подагрой комбинацией аллопуринола и функционально связанных витаминов / Д.В. Пицко, В.М. Пырочкин // *Лечебное дело.* – 2010. – №4. – С.35-39.

71. Влияние комплексной терапии на пуриновый, аминокислотный обмен и функциональное состояние эндотелия у больных ИБС в сочетании с подагрой / В.М. Пырочкин [и др.] // *Кардиология в Беларуси.* – 2010. – № 4. – С. 99-107.

## Глава 4

# МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ФОЛАТ-ГОМОЦИСТЕИНОВОГО ОБМЕНА И ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

### 4.1 Введение и краткий литературный обзор

Заболевания сердечно-сосудистой системы остаются одной из актуальных проблем современной медицины. Главенствующую позицию среди причин летальных исходов (до 51%) занимает ИБС, которая этиопатогенетически преимущественно обусловлена атеросклеротическим поражением артерий коронарного бассейна [3].

По данным статистики, ИБС у женщин до наступления менопаузы встречается значительно реже, чем у мужчин того же возраста. Пик заболеваемости у женщин приходится на возрастной период 65-75 лет, но в последние годы отмечено увеличение заболеваемости ИБС и у молодых женщин с сохраненной менструальной функцией, что не укладывается в традиционные представления об ангиопротективных эффектах эстрогенов [3].

В борьбе с атеросклерозом и в профилактике связанных с ним сердечно-сосудистых заболеваний ключевая роль принадлежит устранению факторов риска, одним из которых является гипергомоцистеинемия [5].

Риск сердечно-сосудистых заболеваний увеличивается с возрастом почти линейно. У пожилых больных после перенесенного инфаркта миокарда более высокий последующий риск смерти, чем у молодых, и влияние возраста преобладает над всеми другими факторами риска. У мужчин этот риск больше, чем у женщин, почти вплоть до 75-летнего возраста, когда частота сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) выравнивается [4].

В 2003 году в исследовании, проведенном группой ученых в Бразилии, установлено, что гипергомоцистеинемия

значительно чаще определяется в старших возрастных группах [6].

В течение жизни концентрация гомоцистеина в крови увеличивается на 3-5 мкмоль/л. В возрасте 40-42 года различие в ней между мужчинами и женщинами составляет приблизительно 2 мкмоль/л, со средней концентрацией приблизительно 11 и 9 мкмоль/л, соответственно. После менопаузы связанные с полом различия в концентрации гомоцистеина уменьшаются. Повышение концентрации гомоцистеина у значительного числа пациентов в пожилом возрасте может быть следствием общего замедления метаболизма, недостаточного поступления фолата и витаминов В<sub>12</sub>, В<sub>6</sub> с пищей, вследствие атрофии слизистой оболочки желудка, снижении почечной функции и др. [6].

Исследования подтверждают сведения о том, что выраженность гипергомоцистеинемии сопряжена с возрастом больных коронарной болезнью сердца, достоверно такая тенденция начинает прослеживаться в группе пациентов старше 60 лет [6].

Мультицентровое исследование случай-контроль European Concerted Action Project, включавшее 750 пациентов с заболеваниями сосудов, 800 лиц контрольной группы, подтвердило, что уровень фолатов в эритроцитах ниже 10-го и витамина В<sub>6</sub> ниже 20-го перцентиля в контрольной группе оказались независимыми факторами риска ССЗ, а концентрация гомоцистеина – градуируемый фактор риска ИБС, сопоставимый с курением и наличием АГ и дополнительным к гиперхолестеринемии [24].

Результаты проспективных когортных исследований NHS NSH II показали, что у пожилых участниц, потреблявших не менее 800 мкг фолиевой кислоты ежедневно, риск развития АГ оказался на 13% ниже, чем у женщин, потреблявших менее 200 мкг фолиевой кислоты в сутки. В более молодой возрастной группе этот риск снижался на 29%. После поправки на дополнительные факторы у молодых женщин, потреблявших не менее 1000 мкг в сутки, риск развития АГ оказался на 46% ниже, чем у тех, кто потреблял менее 200 мкг [20]. Результаты двойного-слепого плацебо контроли-

руемого исследования выявили, что 3-недельный прием фолиевой кислоты по сравнению с плацебо, привел к снижению пульсового давления плечевой артерии и улучшению ее эластичности без изменений среднего АД. Эти результаты были независимы от концентраций гомоцистеина, фолатов крови и выявленного генотипа [21].

Мета-анализ данных 12 рандомизированных контролируемых исследований (1114 обследованных) о влиянии добавления фолиевой кислоты к рациону на базальный уровень гомоцистеина (ГЦ) показал, что снижение гомоцистеина под действием фолиевой кислоты был тем больше, чем выше был уровень ГЦ и ниже уровень фолатов (ФТ) до лечения. При уровне ГЦ не выше 12 мкмоль/л и ФТ не менее 12 нмоль/л (средние величины для западных популяций), добавление в диету ФК (0,5-5 мг в день) вызывало снижение ГЦ примерно на 25%; добавление к терапии витамина В<sub>12</sub> (0,5 мг в день) привело к дополнительному снижению ГЦ на 7%, а прием витамина В<sub>6</sub> (16,5 мг в сутки) не давало существенного эффекта [23].

Более чем в 10 различных исследованиях была подтверждена прямая зависимость между повышением артериальной жесткости и частотой ИБС. E.Simpson и соавт. выявили увеличение аортальной СПВ у пациентов с ИБС во всех возрастных группах, средние значения СПВ у пациентов с ИБС отличались от таковых у пациентов без ИБС на 1,68 м/с. J. Blacher и соавт. выявили прямую корреляционную связь между СПВ на каротидно-фemorальном сегменте и уровнем гомоцистеина в плазме. Эта связь сохранялась после поправок на уровень САД и возраст пациентов с АГ. Риск общей смертности возрастал в 5,4 раза при СПВ > 12 м/с в сравнении с СПВ, равной 9,4 м/с (95% доверительный интервал от 2,4 до 11,9) и от сердечно-сосудистых причин в 5,9 раза (95% доверительный интервал от 2,3 до 15,5). В каждом случае увеличение СПВ на 1 м/с сопровождалось увеличением риска смертности от общих причин на 1,39 (95% доверительный интервал от 1,19 до 1,62). Таким образом, СПВ на аорте является независимым предиктором смертности от любых причин и главным образом сердечно-сосудистых [11].

Современные представления об эндотелии не ограничиваются рамками барьерных функций. Он рассматривается как ключевой фактор, обеспечивающий оптимальное функционирование сердца и сосудов. Монооксид азота (NO) является экстенсивным эндогенным продуктом в большинстве тканей, в том числе и эндотелии. Признана роль NO как мощного эндогенного вазодилататора, а также доказано, что многие другие вазодилататоры действуют через активацию его синтеза. Именно поэтому нитрооксипродуцирующая функция эндотелия при патологии кровообращения является предметом пристального внимания многих исследователей [9].

Начальным проявлением дисфункции эндотелия, предшествующим его органическому повреждению, является нарушение его местной вазорегулирующей функции. Эндотелий обладает способностью реагировать на изменение давления, скорости и объема кровотока продукцией ряда факторов релаксации и констрикторных агентов. Наиболее важным из них является свободный радикал оксида азота. Именно это соединение регулирует активность и последовательность «запуска» всех остальных биологически активных веществ, продуцируемых эндотелием [10].

Признана роль оксида азота как мощного эндогенного вазодилататора, а также доказано, что он блокирует пролиферацию гладкомышечных клеток, препятствует адгезии клеток крови и обладает антиагрегантными свойствами. Таким образом, оксид азота является базовым фактором антиатерогенеза. К сожалению, именно нитроксидпродуцирующая функция эндотелия оказывается наиболее ранимой вследствие высокой нестабильности данной молекулы [10].

Одна из популярных в настоящее время гипотез старения основана на положении о накоплении клеточных повреждений, вызванных воздействием свободных радикалов, что косвенно подтверждается угасанием активности антиоксидантной системы организма с возрастом. Как показали клинико-экспериментальные исследования, проведенные за последние 10 лет в этой области, коррекция прооксидантных нарушений в проантиоксидантной системе при атеросклерозе, различных формах ишемической болезни сердца, артери-

альной гипертонии значительно улучшает клиническое течение ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, уменьшает прогрессирование атеросклероза. Основной группой препаратов, способных противостоять оксидативному стрессу, являются антиоксидантные средства, инактивирующие свободные радикалы и препятствующие их образованию, участвующие в восстановлении антиоксидантов [2].

К одним из наиболее важных антиоксидантных микроэлементов относится селен, дефицит которого зачастую приводит к патологическим состояниям в организме человека, включая преждевременное старение организма. Результаты литературных данных свидетельствуют, что недостаточная концентрация селена в организме человека способствует усилению перекисного окисления липидов с развитием дефектов мембран клеток, ранним развитием патологии пожилого и старческого возраста, преждевременным старением. Имеются исследования, которые свидетельствуют, что при коррекции уровня селена в организме происходит снижение уровня токсических веществ, образующихся при перекисном окислении липидов, таких как малонового ацетальдегида, гидроперекисей и повышение факторов антиоксидантной защиты организма, уменьшение уровня холестерина, общих липидов, повышение в крови уровня лецитина. Избыточное образование свободных радикалов на фоне снижения антиоксидантной защиты – опасный процесс для организма, ведущий к преждевременному старению клеток и организма в целом. К факторам, защищающим органы и ткани от избыточного перекисления относятся антиоксиданты [16].

Согласно рекомендациям ВОЗ, среднесуточная потребность человека в селене варьирует от 70 до 100 мкг. Селен повышает выработку эндогенных антиоксидантов белковой и липидной природы, влияет на некоторые стороны метаболизма и синтеза в организме млекопитающих, он также способствует активации глутатионпероксидазы [16]. Дефицит селена в организме вызывает дегенеративные изменения в миокарде. Активация селеном активности глутатионпероксидазы обладает протективным эффектом на экспериментальный инфаркт, снижая все показатели повреждения и не вы-

зывая изменений на электрокардиограмме. В противоположность активация продукции активных форм кислорода вызывает резкую дисфункцию сердца: уменьшение в шесть раз сердечного индекса, ЭКГ-регистрируемую ишемию миокарда [26].

В данном разделе приводятся собственные результаты по исследованию уровня гомоцистеина и фолатов плазмы крови, функциональному состоянию эндотелия, эластических свойств сосудов, а также уровню общих нитритов и селена в плазме крови у пациентов, страдающих стабильной стенокардией напряжения в сочетании с артериальной гипертензией в пожилом возрасте. Кроме того, обсуждаются некоторые возможности коррекции имеющихся функционально-биохимических нарушений у лиц пожилого возраста.

### **Результаты собственных исследований**

Цель – повышение эффективности комплексной патогенетической терапии больных, страдающих стабильной стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией 2-й степени, риском 4, в пожилом возрасте.

#### **4.2 Материал и методы исследования**

Для выполнения поставленных задач организовано проспективное контролируемое рандомизированное клиническое исследование открытым методом. Для решения поставленной цели нами были обследованы амбулаторные пациенты с сердечно-сосудистой патологией – 90 человек и 30 относительно здоровых обследуемых, которые были разделены на группы:

- Группа 1. Пациенты пожилого возраста с ИБС (30 человек).
- Группа 2. Пожилые пациенты с ИБС (32 человека).
- Группа 3. Пациенты среднего возраста с ИБС (28 человек).
- Группа 4. Практически здоровые обследуемые (30 человек).

Всем пациентам диагноз был выставлен или подтвержден на основании результатов клинического, лабораторного

и инструментального обследования, включавших анализ жалоб, сбор анамнеза, физикальное обследование, регистрацию электрокардиограммы (ЭКГ), эхо-кардиографию, велоэргометрию, у части пациентов коронароангиографию, общий анализ крови, мочи, биохимическое исследование крови.

Критериями включения в группу 1 явились: возраст пациентов 70,4 [67,0;71,6] года, стабильная стенокардия напряжения ФК 2, в сочетании с артериальной гипертензией (АГ) 2-й степени, риском 4 (по классификации ВОЗ), недостаточностью кровообращения ФК 1-2 степени (NYHA). Всем пациентам назначена комплексная терапия: ингибитор АПФ Периндоприл-МИК (Минскинтеркапс) в средней суточной дозе 6 мг, селенобел 0,4 мг в сутки, аскорбиновая кислота – 100 мг в сутки, аспирин – 75 мг, аторвастатин – 10 мг на протяжении 3-х месяцев. Далее на протяжении 1 месяца к проводимой терапии добавлена фолиевая кислота 500 мкг в сутки.

Критериями включения в группу 2 явились: возраст пациентов 64,3 [62,1;69,4] года, стабильная стенокардия напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией (АГ) 2-й степени, риском 4 (по классификации ВОЗ), недостаточностью кровообращения ФК 1-2 степени (NYHA). Всем пациентам назначена комплексная терапия: ингибитор АПФ Периндоприл-МИК (Минскинтеркапс), в средней суточной дозе 6 мг, селенобел 0,4 мг в сутки, аскорбиновая кислота – 100 мг в сутки, аспирин – 75 мг, аторвастатин – 10 мг, а также бета-блокатор бисопролол в средней суточной дозе 7,5 мг на протяжении 3-х месяцев. Далее к проводимой терапии добавлена фолиевая кислота в суточной дозе 500 мкг в течение 1 месяца.

Критериями включения в группу 3 явились: пациенты среднего возраста – 54,3 [50,4;56,2] года, стабильная стенокардия напряжения ФК 2, в сочетании с артериальной гипертензией (АГ) 2-й степени, риском 4 (по классификации ВОЗ), недостаточностью кровообращения ФК 1-2 степени (NYHA). Всем пациентам назначена комплексная терапия: ингибитор АПФ Периндоприл-МИК (Минскинтеркапс) в средней суточной дозе 6 мг, селенобел – 0,4 мг в сутки, аскорбиновая кислота – 100 мг в сутки, аспирин – 75 мг, аторвастатин – 10

мг, а также бета-блокатор бисопролол в средней суточной дозе 7,5 мг на протяжении 4-х месяцев.

Группу контроля (группа 4) составили относительно здоровые обследуемые с отсутствием объективных, инструментальных и лабораторных данных за хроническую и острую патологию на момент обследования, проходившие очередной профилактический осмотр, в возрасте 50,1 [49,7;52,6] года.

Критериями исключения явились: АГ III степени, согласно критериям ESH/ESC, 2007 год, наличие нарушений ритма, хронической сердечной недостаточности III-IV класса по NYHA, сахарного диабета, ХОБЛ тяжелой степени тяжести, онкологического заболевания, патологии щитовидной железы, тяжелой общесоматической патологии, эпизоды злоупотребления алкоголем.

Всем пациентам за 5 дней до исследования отменялись все препараты. В этот период лекарства принимались по требованию, исключительно короткого действия (каптоприл, нифедипин, нитроглицерин).

#### 4.2.1 Методы исследования

Для анализа количества фолатина использовали коммерческие наборы радиоиммунного исследования SimulTRAC-SNB (MP Biomedicals, Orangeburg, USA). Фолат производные плазмы крови анализировались после обработки образцов радиоактивным лигандом (I125) и дитиотрейотолом и последующим экстрагированием в щелочной среде. В качестве стандарта использовали птероилглутаминовую кислоту в инкубационной среде при pH 9,5. Разницу в уровне радиоактивности контрольной и опытной проб измеряли автоматическим гамма-счетчиком Wallac 1470 Wizard (Швеция). Для исследования гомоцистеина использовали плазму стабилизированную ЭДТА. В процессе пробоподготовки осуществляли дериватизирование содержащегося в плазме гомоцистеина с помощью реагента SBD-F(ammonium7-fluorobenzo-2-оха-1,3-diazole-4-sulphonate), тиолспецифичного флуорогенного соединения. Хроматографический выход (изократическая высокоэффективная жидкостная хромато-

графия ВЭЖХ) SBD-гомоцистеина с мобильной фазой при pH 5,1 оказался стабильным с временем удерживания 6 мин. [28].

Для определения гомоцистеина в плазме крови использовали высокоэффективный жидкостный хроматограф (HPLC Agilent 1100, HP), содержащий 4-канальный градиентный насос, термостат колонок, автосамплер и детектор флуоресценции. Разделение осуществляли на колонке Диасорб 130 C16T, 3x250 мм, 7 мкм. Подвижная фаза: 0,1 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 17 мМ  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , pH 3,65, 40 мг/л ЭДТА, 3% ацетонитрила. Скорость потока 0,6 мл/мин, температура колонки 30°C. Детектирование осуществлялось по флуоресценции (379/510 нм). Аминотиолы плазмы крови восстанавливали с помощью трис-(2-карбоксиэтил)-фосфина (ТСЕР) с последующей дериватизацией 7-флюоробензо-2-оксо-1,3-диазол-4-сульфонатом аммония (SBD-F). В качестве внутреннего стандарта использовали N-ацетил цистеин (NAC). Регистрация хроматограмм и их количественная обработка осуществлялись с помощью Agilent ChemStation A10.01 (HP, US).

Количество нитрит/нитратов в плазме крови определялось на спектрофотометре «Solar», предварительно восстанавливая нитраты в нитриты, и далее, добавляя реактив Грисса, Концентрацию общих нитритов рассчитывали по калибровочному графику, построенному с известными количествами  $\text{NaNO}_2$  [19]. Результаты выражали в мкмоль/л.

Уровень селена в плазме крови определялся на атомно-адсорбционном спектрометре «Analyst600» фирмы Perkin-Elmer (Германия) [22].

Состояние функции эндотелия оценивали методом реоимпедансографии с помощью аппаратно-программного комплекса «Импекард-М» (г. Минск, Интекард). Нарушение эластических свойств сосудов расценивали при увеличении показателя скорости пульсовой волны более 10,2 мм/с [14]. Исследование эндотелий-зависимой вазодилатации определяли путем реакции плечевой артерии в ответ на пробу с реактивной гиперемией (РГ). В качестве информативной реографической величины, позволяющей определить функциональное состояние эндотелия, оценивалось изменение максимальной

скорости кровотока ( $\Delta dz/dt$ ),%. Диагностические значения пробы с РГ при использовании импедансной технологии:  $\Delta dz/dt > +12\%$  – вазомоторная функция (ВФ) эндотелия не нарушена;  $+12\% - -2\%$  – умеренное нарушение дисфункции эндотелия (ДЭ);  $-2\% - -15\%$  – выраженное нарушение ВФ эндотелия;  $< -15\%$  – резко выраженная ДЭ [13, 14]. Пациенты обследовались дважды до лечения через 3 месяца и пожилые пациенты дополнительно еще через 1 месяц.

#### **4.2.2 Статистическая обработка данных**

Статистический анализ выполняли с помощью статистического пакета Statistica 6.0 (StatSoft, US), Microsoft Excel 2010 (Microsoft, US). Количественные данные отображены в виде медианы и интерквартильного размаха, качественные – абсолютной и относительной частот. Межгрупповые различия определяли посредством теста Крускала-Уоллиса и Манна-Уитни. Выполнен корреляционный анализ по Спирмену. Для сравнительной характеристики независимых групп данных по количественному признаку использовался U-критерий Манна–Уитни, зависимых – критерий Вилкоксона. Для сравнительной характеристики двух независимых групп по качественному признаку использовался точный критерий Фишера. Различия считались статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$  [15].

### **4.3 Результаты исследования**

#### **4.3.1 Фолат-гомоцистеиновый обмен у пациентов с ИБС в пожилом и среднем возрасте**

При анализе показателей, представленных в таблице 4.1, выявлено, что уровень гомоцистеина в контрольной группе практически здоровых лиц составил 9,5 [7,8;9,77] мкмоль/л, что согласуется с данными других авторов [28]. У обследованных пациентов группы 1 исходный уровень гомоцистеина был в 1,7 раза выше, чем у здоровых, и составил 16,8 [12,1;19,8] мкмоль/л, в группе 2 – 14,75 [10,89;21,1] мкмоль/л (в 1,5 раза выше), у пациентов среднего возраста (группа 3) –

15,37 [12,4;19,0] (в 1,6 раза выше, чем в контрольной группе) ( $p < 0,05$ ). Полученные данные согласуются с результатами других авторов [18, 25]. Исходных различий между пациентами групп 1, 2, 3 по уровню гомоцистеина нами не найдено ( $p > 0,05$ ). Таким образом, пациенты, страдающие стабильной стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией 2 степени, риском 4, имеют умеренную степень гипергомоцистеинемии.

Таблица 4.1 – Уровень гомоцистеина, фолатов плазмы крови у пациентов, страдающих стабильной стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией 2-й степени, риском 4, до проведения комплексной терапии

Показатель / Группа	Группа 1, n=30	Группа 2, n=32	Группа 3, n=28	Группа 4, n=30
Гомоцистеин, мкмоль/л	16,8* [12,1;19,8]	14,75* [10,89;21,1]	15,37* [12,4;19,0]	9,5 [7,8;9,77]
Фолаты, нмоль/л	6,9* [4,8;11,6]	7,9* [4,5;9,2]	7,7* [5,5;10,5]	12,5 [9,9;13,4]

Примечания:

1. \* – статистически значимые различия показателей с группой 4 с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$ ;
2. p – вероятность ошибки для критерия Манна-Уитни;
3. Me [25-й;75-й процентиль] – медиана и интерквартильный интервал.

Результаты определения уровня фолиевой кислоты до проведения комплексного лечения представлены в таблице 4.1. В группе практически здоровых лиц уровень фолатов составил 12,5 [9,9;13,4] нмоль/л, что согласуется с данными других авторов [25]. У пациентов группы 1 отмечается достоверное снижение данного показателя в 1,8 раза по сравнению со здоровыми лицами – 6,9 [4,8;11,6] нмоль/л, в группе 2 – 7,9 [4,5;9,2] нмоль/л (снижение в 1,6 раза), в группе 3 – 7,7 [5,5;10,5] нмоль/л (снижение в 1,6 раза) ( $p < 0,05$ ). Межгрупповых различий среди пациентов групп 1, 2, 3 нами не найдено ( $p > 0,05$ ). У лиц, страдающих стабильной стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией 2-й степени, риском 4, существует отрицательная корреляция слабой силы между возрастом пациентов и уровнем фолиевой кислоты в плазме крови ( $R = -0,22$ ,  $p = 0,04$ ). Это подтверждается данными других авторов о том, что с возрастом уро-

вень фолиевой кислоты в плазме крови снижается и может быть объяснено атрофией слизистой оболочки кишечника, замедлением процесса пищеварения, а также снижением употребления овощей и фруктов у лиц пожилого возраста [6].

#### 4.3.2 Обмен нитритов и селена в плазме крови у пациентов с ИБС в пожилом и среднем возрасте

Исходный уровень общих нитритов в плазме крови, приведенный в таблице 4.2, у практически здоровых лиц контрольной (группа 4) составляет – 19,4 [18,0;21,0] мкмоль/л, в то время как у пациентов со стабильной стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией 2-й степени, риском 4, этот показатель был достоверно ниже.

Таблица 4.2 – Исходный уровень общих нитритов, селена плазмы крови у пациентов, страдающих стабильной стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией 2-й степени, риском 4

Показатель / Группа	Группа 1, n=30	Группа 2, n=32	Группа 3, n=28	Группа 4, n=30
Общие нитриты, мкмоль/л	7,73* [6,1;13,7]	8,12* [6,47;9,89]	7,34* [6,85;9,3]	19,4 [18,0;21,0]
Селен, мкг/л	56,4 [44,8;71,5]	63,0 [50,6;68,4]	64,3 [58,3;69,5]	60,70 [54,3;74,6]

Примечания:

1. \*– статистически значимые различия показателей с группой 4 с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$ ;
2.  $p$  – вероятность ошибки для критерия Манна-Уитни;
3. Me [25-й;75-й перцентиль] – медиана и интерквартильный интервал.

В группе 1 уровень общих нитритов составил 7,73 [6,1;13,7] мкмоль/л (меньше в 2,5 раза), у лиц группы 2 – 8,12 [6,47;9,89] мкмоль/л (в 2,4 раза меньше), у лиц группы 3 – 7,34 [6,85;9,3] мкмоль/л (в 2,6 раза меньше, чем у здоровых лиц) ( $p < 0,001$ ). Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов и свидетельствуют об имеющемся дефиците оксида азота у пациентов с ИБС в сочетании с артериальной гипертензией [9, 12]. Клиническим проявлением снижения уровня общих нитритов плазмы крови у наблю-

даемых пациентов пожилого и среднего возраста, является дисфункция эндотелия различной степени выраженности [7, 9, 12]. Нами выявлена положительная корреляция сильной степени между уровнем фолатов плазмы крови и общими нитритами ( $R=0,31$ ,  $p=0,007$ ), что позволяет сделать вывод о том, что чем меньше уровень фолатов плазмы крови, тем ниже концентрация общих нитритов в плазме крови. Согласно литературным данным других авторов о том, что дефицит фолиевой кислоты метаболически связан с избытком гомоцистеина, который, в свою очередь, исключительно быстро реагирует с оксидом азота, воздействуя на биосинтез NO-синтазой и глутатионпероксидазы, в результате чего эндотелиальные клетки накапливают S-нитрозогомоцистеин, и как следствие, развивается оксидативный стресс, усугубляющий дисфункцию эндотелия [17]. Выявленная отрицательная корреляция слабой степени между уровнем общих нитритов и возрастом ( $R=-0,23$ ,  $p=0,04$ ) подтверждает литературные данные, согласно которым прогрессирующее с возрастом нарушение эластических свойств сосудов, а также дисфункция эндотелия сопровождаются снижением выработки эндогенного вазодилататора оксида азота [7, 9, 12].

Оценивая содержание микроэлемента селена в плазме крови, установлено, что у пациентов всех групп исходно имеется выраженная гипоселенемия, о чем свидетельствуют следующие показатели: в контрольной группе практически здоровых лиц этот показатель составил 60,70 [54,3;74,6] мкг/л. У пациентов группы 1 – 56,4 [44,8;71,5] мкг/л, у пациентов группы 2 – 63,0 [50,6;68,4] мкг/л, у пациентов группы 3 – 64,3 [58,3;69,5] мкг/л. Референтная величина данного показателя составляет 90-120 мкг/л [1]. Очевидное и значительное нарушение селенового статуса у обследованных пациентов, а также практически здоровых лиц является отражением недостаточного потребления микроэлемента в регионе (таблица 4.2). Нами выявлена отрицательная корреляция слабой степени между уровнем селена в плазме крови и уровнем гомоцистеина ( $R=-0,25$ ,  $p=0,031$ ), что свидетельствует о снижении уровня гомоцистеина при увеличении уровня селена в плазме крови. Можно полагать, что ликвидация гипоселенемии спо-

способствует уменьшению уровня гомоцистеинемии, который, по всей вероятности, сохраняет свою роль как фактор риска осложнений ИБС в условиях недостаточной обеспеченности организма селеном. Результаты нашего исследования согласуются с мнением других авторов о том, что селенопротеины осуществляют защиту эндотелиальных клеток от оксидативного повреждения путем непосредственного воздействия и стимуляции экспрессии и активации глутатионпероксидазы в эндотелии [30]. Повышенные и даже нормальные уровни гомоцистеина могут индуцировать «эффекторный селенодефицит», вызывая супрессию глутатионпероксидазы в эндотелиальных клетках [27]. Кроме того, выявленная нами отрицательная корреляция слабой степени между возрастом пациентов и уровнем селена в плазме крови ( $R=-0,24$ ,  $p=0,04$ ) свидетельствует о том, что с возрастом у пожилых пациентов степень гипоселенемии увеличивается.

#### **4.3.3 Функциональное состояние эндотелия и эластические свойства сосудов у пациентов с ИБС в пожилом и среднем возрасте**

Анализируя данные, представленные в таблице 4.3, видно, что показатель, характеризующий эластические свойства сосудов, – скорость распространения пульсовой волны (СРПВ) – исходно в контрольной группе практически здоровых лиц составляет 7,1 [4,3;7,5] мм/с и достоверно ниже, чем во всех обследуемых группах (1, 2, 3) – 13,2 [10,2;18,5] мм/с, 12,0 [9,0;14,4] мм/с, 11,3 [7,6;12,8] мм/с, соответственно ( $p<0,05$ ).

Подобные изменения скорости распространения пульсовой волны свидетельствуют о нарушении эластических свойств сосудов, т.е. об увеличении сосудистой жесткости у всех пациентов, страдающих стабильной стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией 2-й степени у лиц пожилого и среднего возраста. Нами выявлена положительная корреляция слабой степени между возрастом пациентов и скоростью распространения пульсовой волны ( $R=0,25$ ,  $p=0,03$ ), что подтверждает данные других авторов о том, что с увеличением возраста эластические свойства сосу-

Таблица 4.3 – Исходный уровень скорости распространения пульсовой волны у пациентов, страдающих стабильной стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией 2-й степени, риском 4

Показатель / Группа	Группа 1, n=30	Группа 2, n=32	Группа 3, n=28	Группа 4, n=30
СРПВ, мм/с	13,2* [10,2;18,5]	12,0* [9,0;14,4]	11,3* [7,6;12,8]	7,1 [4,3;7,5]

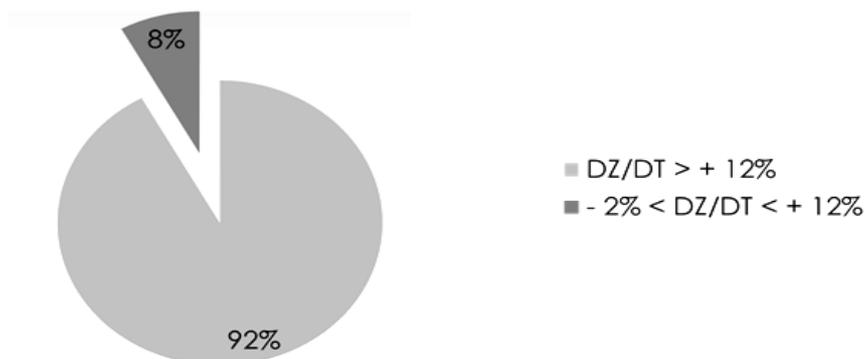
Примечания:

1. \*– статистически значимые различия показателей с группой 4 с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$
2.  $p$  – вероятность ошибки для критерия Манна-Уитни
3. Me [25-й;75-й процентиль] – медиана и интерквартильный интервал

дов ухудшаются [11]. Кроме того, между уровнем гомоцистеина и скоростью распространения пульсовой волны существует положительная корреляция сильной степени ( $R=0,3$ ,  $p=0,009$ ). Это свидетельствует о том, что чем больше уровень гомоцистеина в плазме крови, тем больше скорость распространения пульсовой волны, следовательно, тем сильнее нарушены эластические свойства сосудов и, соответственно, увеличена сосудистая жесткость. Таким образом, избыточное содержание гомоцистеина в плазме крови оказывает негативное воздействие на эластичность сосудистой стенки вследствие способности стимулировать пролиферацию гладкомышечных клеток, развитию системного воспаления сосудистой стенки и, соответственно, прогрессированию атеросклероза с развитием всех возможных осложнений [17].

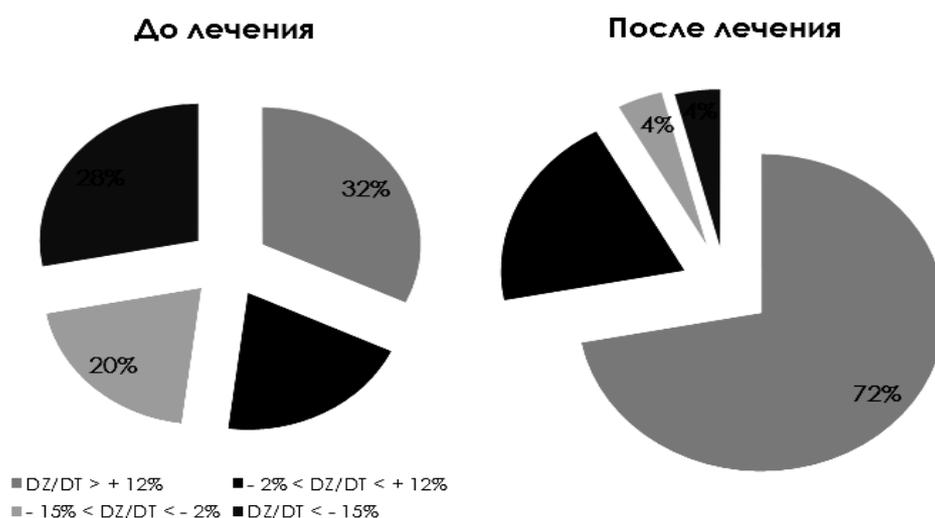
Определив функциональное состояние плечевой артерии у практически здоровых лиц выявлено, что у 92% (28) пациентов была сохранена функция эндотелия, и у 8% (2) человек наблюдалось умеренное нарушение функционального состояния эндотелия (рисунок 4.1).

Все обследуемые группы пациентов по числу лиц, имевших дисфункцию эндотелия, исходно отличались от группы практически здоровых лиц ( $p$  для критерия Фишера  $< 0,05$ ) и не отличались между собой в группах 1, 2, 3 ( $p$  для точного критерия Фишера  $> 0,05$ ).



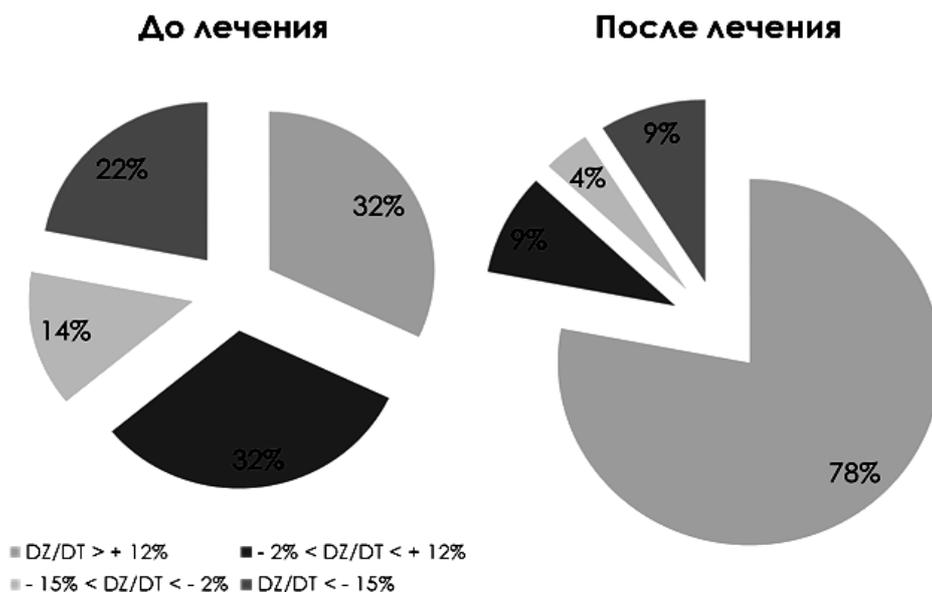
**Рисунок 4.1 – Функциональное состояние эндотелия плечевой артерии у практически здоровых лиц (группа 4)**

Анализируя данные, полученные при определении функционального состояния эндотелия плечевой артерии, приведенные на рисунке 4.2, установлено, что исходно среди пациентов группы 1 отсутствие дисфункции наблюдалось у 32% (10 человек) пациентов. Нарушение функции эндотелия наблюдалось у 68% пациентов (20 человек): из них у 20% (6 человек) имелась умеренная дисфункция эндотелия, у 20% (6 человек) – выраженная степень нарушения функции эндотелия, у 28% (8 человек) – резко выраженная дисфункция эндотелия.



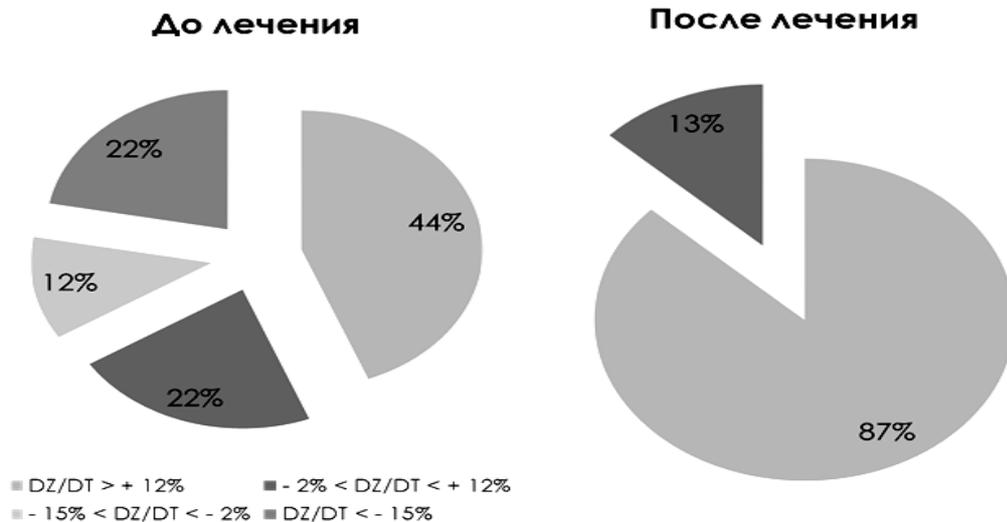
**Рисунок 4.2 – Функциональное состояние эндотелия плечевой артерии у лиц пожилого возраста (группа 1) до и после проведенного комплексного лечения**

На представленном рисунке 4.3, видно, что в группе 2 68% (22 чел.) пациентов также имели нарушение функции эндотелия, при этом у 32% (10 чел.) выявлена умеренная дисфункция эндотелия, у 14% (5 чел.) определилось выраженное нарушение функции эндотелия, и у 22% (7 чел.) – резко выраженная дисфункция эндотелия.



**Рисунок 4.3 – Функциональное состояние эндотелия плечевой артерии у лиц пожилого возраста (группа 2) до и после проведенного комплексного лечения в течение 3-х месяцев**

Результаты исследования функционального состояния эндотелия плечевой артерии в группе 3 приведены на рисунке 4.4. Среди пациентов группы 3, исходно в 56% (17 чел.) случаев имелось нарушение функционального состояния эндотелия: у 22% (6 чел.) выявлена умеренная дисфункция эндотелия, у 12% (4 чел.) – выраженная дисфункция эндотелия, у 22% (6 чел.) – резко выраженная дисфункция эндотелия.



**Рисунок 4.4 – Функциональное состояние эндотелия плечевой артерии у лиц пожилого возраста (группа 3) до и после проведенного комплексного лечения в течение 3-х месяцев**

#### **4.3.4 Влияние комплексной патогенетической терапии с включением фолиевой кислоты в дозе 500 мкг в сутки на динамику биохимических показателей, функциональное состояние эндотелия и эластические свойства сосудов**

В результате проводимой комплексной терапии, включающей Периндоприл-МИК (Минскинтеркапс), селенобел, аскорбиновую кислоту и аторвастатин, в исследуемых группах 1, 2, 3, в течение 3 месяцев произошло достоверное снижение уровня гомоцистеина в плазме крови во всех группах. В группе 1 снижение произошло на 3% и уровень гомоцистеина уменьшился до 16,29 [11,07;17,36] мкмоль/л. В группе 2 уровень гомоцистеина снизился на 22% от исходного уровня и составил 11,51 [8,6;13,84] мкмоль/л. В группе 3 произошло снижение концентрации гомоцистеина на 23% и составило 11,81 [9,2;13,83] мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) (таблица 4.4).

Однако у пациентов с ИБС уровень гомоцистеина плазмы крови оставался выше, чем у практически здоровых лиц ( $p > 0,05$ ). Необходимо отметить, что проведенная комплексная терапия оказалась наиболее эффективной у лиц среднего возраста (группа 3) в отличие от пожилых пациентов ( $p < 0,05$ ). Добавление к комплексной терапии 500 мкг фолиевой кислоты в течение 1 месяца пожилым лицам в группах 1

Таблица 4.4 – Уровень гомоцистеина плазмы крови у пациентов, страдающих стабильной стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией 2-й степени, риском 4, после проведения комплексной терапии в течение 3-х месяцев

Показатель / Группа	Группа 1, n=30	Группа 2, n=32	Группа 3, n=28	Группа 4, n=30
Гомоцистеин, мкмоль/л	16,29* [11,07;17,36]	11,51* [9,4;13,84]	11,81* [9,2;13,83]	9,5 [7,8;9,77]

Примечания:

1. \*– статистически значимые различия показателей с группой 4 с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$ ;
2.  $p$  – вероятность ошибки для критерия Манна-Уитни;
3. Me [25-й;75-й процентиль] – медиана и интерквартильный интервал.

и 2 привело к значительному снижению уровня гомоцистеина. В группе 1 уровень гомоцистеина снизился на 35% и составил 10,57 [7,93;13,35] мкмоль/л, в группе 2 – 8,56 [8,13;10,4] мкмоль/л (снижение на 26%), при этом исследуемый показатель статистически не отличался от группы практически здоровых лиц ( $p > 0,05$ ) (таблица 4.5).

После проведенной комплексной терапии с применением фолиевой кислоты в течение 1 месяца повторное определение уровня фолатов (результаты отражены в таблице 4.5), выявило достоверное увеличение его в плазме крови.

Таблица 4.5 – Уровень гомоцистеина, фолатов плазмы крови у пациентов, страдающих стабильной стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией 2-й степени, риском 4, после проведения комплексной терапии в течение 3-х месяцев и добавления пожилым лицам в течение 1 месяца фолиевой кислоты 500 мкг в сутки

Показатель / Группа	Группа 1, n=30	Группа 2, n=32	Группа 4, n=30
Гомоцистеин, мкмоль/л	10,57* [7,93;13,35]	8,56* [8,13;10,4]	9,5* [7,8;9,77]
Фолаты, нмоль/л	12,5* [9,8;13,4]	13,6* [8,5;15,7]	12,5* [9,9;13,4]

Примечание: Me [25-й;75-й процентиль] – медиана и интерквартильный интервал.

Так, в группе 1 уровень фолатов плазмы крови увеличился до 12,5 [9,8;13,4] нмоль/л (в 1,8 раза), в группе 2 – до 13,6 [8,5;15,7] нмоль/л (в 1,7 раза) ( $p < 0,05$ ). Межгрупповые различия между группами 1 и 2 нами не найдены. В группе 1 и 2 выявлена отрицательная корреляция сильной степени между возрастом пациентов и уровнем фолиевой кислоты ( $R = -0,43$ ,  $p = 0,04$ ). Это свидетельствует о том, что с возрастом у пациентов, страдающих ССН ФК 2, в сочетании с АГ 2 степени, риском 4 снижается уровень фолатов плазмы крови, что подтверждает данные других авторов [6,17]. Это можно объяснить замедлением процессов пищеварения, атрофией слизистой желудочно-кишечного тракта, а также снижением употребления овощей и фруктов пожилыми лицами [6]. Выявленная нами отрицательная корреляционная связь сильной степени между уровнем гомоцистеина и уровнем фолатов плазмы крови на фоне лечения у пожилых лиц группы 1 и 2 ( $R = -0,54$ ,  $p = 0,03$ ), свидетельствует о том, что с увеличением уровня фолатов в плазме крови уровень гомоцистеина в плазме уменьшается. Таким образом, мы подтверждаем данные литературы о том, что дефицит витаминов, в частности фолиевой кислоты, приводит к замедлению метаболизма гомоцистеина, и как следствие, избыточному накоплению его в организме человека с последующим негативным эффектом из-за гипергомоцистеинемии [8].

Из таблицы 4.6 видно, что уровень общих нитритов плазмы крови увеличился достоверно во всех исследуемых группах по отношению к исходным данным. В группе 1 он увеличился в 2,7 раза и составил 21,4 [13,12;28,7] мкмоль/л ( $p = 0,012$ ), в группе 2 – 14,93 [10,11;28,36] мкмоль/л (в 1,8 раза), в группе 3 – 19,5 [16,8;25,5] мкмоль/л (в 2,7 раза) ( $p = 0,0005$ ) и достоверно не отличается от уровня общих нитритов практически здоровых лиц контрольной группы, величина  $p > 0,05$ .

Исходя из полученных данных – низкого уровня селена во всех исходно обследованных группах, – комплексная терапия была дополнена препаратом селенобел 0,4 мкг в сутки. Результаты эффективности комплексной терапии, проведенной у пациентов в течение 3 месяцев, представленные в таб-

лице 4.6, показывают, что на фоне стабильного состояния обследованных больных у пациентов пожилого и среднего возраста наблюдалась почти полная нормализация селенемии. В группе 1 уровень селена в плазме крови увеличился до 78,1 [65,2;87,2] мкг/л ( $p=0,003$ ), в группе 2 до 74,8 [70,0;90,1] мкг/л, в группе 3 до 98,4 [81,3;106,2] мкг/л ( $p=0,0004$ ) по отношению к исходным величинам и к группе практически здоровых лиц. При анализе исследуемых групп выявлено, что уровень селена в плазме крови достиг референтных величин у пациентов среднего возраста (группа 3) со стабильной стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией 2-й степени и достоверно выше, чем у лиц пожилого возраста (группа 1 ( $p=0,05$ ) и группа 2 ( $p=0,02$ )) (таблица 4.6). Следовательно, длительность приема селен-содержащего препарата селенобел в суточной дозе 0,4 мкг в сочетании со 100 мг аскорбиновой кислоты на протяжении 3-х месяцев оптимален для нормализации уровня селена в плазме крови у пациентов, страдающих стабильной стенокардией напряжения в сочетании с артериальной гипертензией 2-й степени, в среднем возрасте. Пациентам пожилого возраста для достижения оптимального уровня селена плазмы крови необходим более продолжительный период приема препарата селенобел в суточной дозе 0,4 мкг в сочетании со 100 мг аскорбиновой кислоты.

Таблица 4.6 – Показатели общих нитритов и селена плазмы крови после проведенной комплексной терапии в течение 3-х месяцев

Показатель / группа	группа 1, n=30	группа 2, n=32	группа 3, n=28	группа 4, n=30
Общие нитриты, мкмоль/л	21,4* [13,12;28,7]	14,93* [10,11;28,36]	19,5* [16,8;25,5]	19,4* [18,0;21,0]
Селен, мкг/л	78,1* [65,2;87,2]	74,8* [70,0;90,1]	98,4* [81,3;106,2]	60,70 [54,3;74,6]

Примечания:

1. \* – статистически значимые различия показателей с группой 4 с вероятностью ошибки,  $p < 0,05$ ;
2.  $p$  – вероятность ошибки для критерия Манна-Уитни;
3. Me [25-й;75-й перцентиль] – медиана и интерквартильный интервал.

После проведенной комплексной терапии, спустя 3 месяца, повторное обследование пациентов выявило улучшение эластических свойств сосудов (таблица 4.7).

Таблица 4.7 – Показатель скорости распространения пульсовой волны после проведенной комплексной терапии в течение 3-х месяцев

Показатель / группа	Группа 1, n=30	Группа 2, n=32	Группа 3, n=28	Группа 4, n=30
СРПВ, мм/с	7,6* [5,1;11,2]	7,7* [6,4;9,3]	8,7* [8,0;10,2]	7,1 [4,3;7,5]

Примечание: Ме [25-й;75-й процентиль] – медиана и интерквартильный интервал.

В каждой из обследованных групп отмечается достоверное снижение показателя, характеризующего скорость распространения пульсовой волны в группе 1 до 7,6 [5,1;11,2] мм/с ( $p=0,001$ ), в группе 2 до 7,7 [6,4;9,3] мм/с ( $p=0,0004$ ), в группе 3 этот показатель составил 8,7 [8,0;10,2] мм/с ( $p=0,006$ ) по отношению к исходным данным и достоверно не отличался от показателя группы 4, практически здоровых лиц ( $p>0,05$ ).

Улучшение функционального состояния эндотелия плечевой артерии на фоне проведенного лечения наблюдалось во всех исследуемых группах. В группе 1 отмечено достоверное увеличение числа лиц с восстановленным функциональным состоянием эндотелия плечевой артерии по отношению к исходным данным ( $\chi^2=0,02$ ). Число лиц с отсутствием дисфункции эндотелия увеличилось с 32% до 72% пациентов (22 чел.), но в 28% пациентов (8 чел.) сохранялось нарушение функции эндотелия. При этом у 20% (6 чел.) имелась умеренная дисфункция эндотелия и по 4% (1 чел.) выявлена выраженная и резко выраженная дисфункция эндотелия (рисунок 4.2).

Назначенная комплексная терапия привела к достоверному увеличению лиц в группе 2 с отсутствием дисфункции эндотелия по сравнению с исходными данными ( $\chi^2=0,04$ ). Отмечено увеличение лиц с отсутствием нарушения функции эндотелия с 32% до 78% случаев (25 чел.). Дисфункция эндотелия продолжала сохраняться в 22 % случаев (7 чел.), при

этом 9% (3 чел.) имели умеренную дисфункцию эндотелия, 4% (1 чел.) – выраженную дисфункцию эндотелия и 9% (3 чел.) – резко выраженное нарушение функции эндотелия (рисунок 4.3).

В группе 3, у пациентов среднего возраста, в 87% случаев (25 чел.) отсутствовало нарушение функции эндотелия и в 13% (3 чел.) отмечалось умеренное нарушение функции эндотелия. Таким образом, во всех исследуемых группах наблюдалось увеличение лиц с отсутствием дисфункции эндотелия по сравнению с лицами, не имевшими дисфункции эндотелия исходно ( $\chi^2=0,04$ ). Сравнивая обследуемые группы после проведенного лечения, выявлено, что по количеству лиц, не имеющих дисфункции эндотелия, исследуемые группы статистически не отличаются от группы 4 практически здоровых лиц ( $p$  для критерия Фишера  $> 0,05$ ). Необходимо отметить, что лица среднего возраста более эффективно отреагировали на проводимую терапию, поскольку число с восстановленной функцией эндотелия было на 8-15% больше, чем среди пожилых пациентов. Выявлена положительная корреляция сильной степени между уровнем фолатов плазмы крови и числом лиц с отсутствием дисфункции эндотелия ( $R=0,57$ ,  $p=0,005$ ) на фоне проведенной терапии. Количество пожилых пациентов групп 1 и 2, при увеличении уровня фолатов в плазме крови с отсутствием дисфункции эндотелия увеличивается (рисунок 4.4).

Дополнительное назначение фолиевой кислоты в суточной дозе 500 мкг в течение 1 месяца у пожилых пациентов групп 1 и 2 привело к еще более значительному улучшению функционального состояния эндотелия. В группе 1 у 90% (27) пациентов функция эндотелия восстановилась и сохранилась лишь у 10% (3 чел.): 7% (2) выявлена умеренная дисфункция эндотелия и 3% (1) – резкая дисфункция эндотелия. У пациентов группы 2 функциональное состояние эндотелия пришло в норму у 94% (30) и только 6% (2) имели умеренную дисфункцию эндотелия.

Сопоставление данных биохимических и функциональных исследований свидетельствует, что избранная схема комплексной терапии способствует оптимизации фолатного, селенового статуса, увеличению уровня нитритов в плазме

крови, что, судя по данным функциональных исследований, безусловно, повышает эффективность патогенетической терапии у пациентов как пожилого, так и среднего возраста.

Таким образом, у пожилых пациентов и пациентов среднего возраста с ИБС в сочетании с АГ имеет место сочетание выраженной гипоселенемии и умеренной гипергомоцистеинемии, а также снижение уровня фолатов по сравнению с практически здоровыми лицами. Низкий селеновый статус больных отражает недостаточное потребление микроэлемента жителями региона. Включение в состав комплексной терапии фолиевой кислоты и препарата селенобел повышает уровень фолатов и селена в плазме крови, обеспечивает снижение гомоцистеина и улучшение показателей функционального состояния эндотелия плечевой артерии и эластических свойств сосудов. Подобное сочетание средств метаболической терапии и продолжительности лечения у больных с ИБС пожилого возраста позволяет сделать заключение об эффективности избранной тактики ведения пациентов в достижении положительной динамики функциональных свойств сосудов.

#### 4.4 Заключение

1. Пациенты в пожилом и среднем возрасте, страдающие стабильной стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией II степени, риском IV, и недостаточностью кровообращения ФК 1-2 степени (NYHA), имеют сниженный уровень нитритов и фолатов плазмы крови независимо от возраста, по сравнению со здоровыми лицами, умеренную гипергомоцистеинемию (уровень гомоцистеина у пациентов пожилого и среднего возраста был в 1,5-1,7 раза выше, чем у здоровых лиц, и выраженную гипоселенемию во всех группах.

2. У пациентов пожилого и среднего возраста скорость распространения пульсовой волны значительно больше, чем у практически здоровых лиц, что указывает на нарушение эластических свойств сосудов.

3. У обследованных пациентов пожилого и среднего возраста по сравнению с контрольной группой выявлено на-

рушение функционального состояния эндотелия плечевой артерии. У пожилых пациентов групп 1 и 2 по 78%, а у лиц среднего возраста (группа 3) у 56% пациентов отмечалась дисфункция эндотелия плечевой артерии различной степени выраженности. Среди пациентов, страдающих стабильной стенокардией напряжения в сочетании с артериальной гипертензией 2 степени, риском 4, пациенты пожилого возраста имели более выраженную дисфункцию эндотелия, чем лица среднего возраста.

4. Комплексная терапия с применением периндоприл-МИК в средней суточной дозе 6 мг, аспирина 75 мг, аторвастатина 10 мг, препарата селенобел 0,4 мг в сутки и аскорбиновой кислоты 100 мг в сутки в течение 3-х месяцев у пациентов пожилого возраста со стенокардией напряжения ФК 2 в сочетании с артериальной гипертензией II степени, риском IV, и недостаточностью кровообращения ФК 1-2 степени (NYHA) приводит к достоверному снижению гомоцистеина, увеличению нитритов в плазме крови. Увеличение селена отмечалось в группах 1, 2, 3, но у пожилых лиц группы 1 и 2 не достигало референтной величины. Проведенная терапия улучшила эластические свойства сосудов как у лиц пожилого, так и среднего возраста, и привела к улучшению функционального состояния эндотелия плечевой артерии преимущественно у лиц среднего возраста. Дополнительное назначение фолиевой кислоты в суточной дозе 500 мкг в течение месяца пожилым лицам способствовало нормализации фолатного статуса в группах 1 и 2, более выраженному снижению гомоцистеина у пожилых лиц.

#### Литература

1. Гигиенические основы оценки селенового статуса населения Республики Беларусь / В.А. Зайцев и [др.] // Вести нац. академ. наук. Бел. – 2006. – №2. – С.73-75.
2. Голиков, А.П. Свободнорадикальное окисление и сердечно-сосудистая патология: коррекция антиоксидантами / А.П. Голиков [и др.] // Леч. врач. – 2003. – №4. – С. 70-74.
3. Дворецкий, Л.И. Ишемическая болезнь сердца у женщин / Л.И Дворецкий, Н.Т Гибрадзе, Н.А Черкасова // Рос. мед. журн. – 2011. – Том 19. – №2. – С. 79-84.

4. Кисляк, О.А. Факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний в развитии болезней, связанных с атеросклерозом / О.А. Кисляк, Н.В. Алышева, Н.Н. Чиркова // Клин. геронтол. – 2008. – №3. – С.3-12.

5. Костюченко, Г.И. Гипергомоцистеинемия и коронарная болезнь сердца как проблема пожилого возраста / Г.И. Костюченко, З.С. Баркаган // Клин. геронтол. – 2003. – Том 9. – №5. – С. 9-12.

6. Костюченко, Г.И. Гипергомоцистеинемия: клиническое значение, возрастные особенности, диагностика и коррекция / Г.И. Костюченко // Клин. геронтол. – 2007. – №4. – С. 32-41.

7. Манухина, Е.В. Роль свободного и депонированного оксида азота в адаптации к гипоксии сердечно-сосудистой системы / Е.В. Манухина [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2004. – №3. – С. 4-11.

8. Мараховский, Ю.Х. Гомоцистеин, фолиевая кислота и профилактика сердечно-сосудистых заболеваний / Ю.Х. Мараховский // Медицина. – 2000. – №3. – С. 21-24.

9. Невзорова, В.А. Клинико-патогенетические особенности ишемической болезни сердца у лиц разных возрастных групп / В.А. Невзорова [и др.] // Тихоокеанский мед. журнал. – 2003. – №2. – С. 30-36.

10. Невзорова, В.А. Состояние функции сосудистого эндотелия при остром коронарном синдроме / В.А. Невзорова [и др.] // Тихоокеанский мед. журнал. – 2004. – №3. – С. 61-63.

11. Недогода, С.В. Сосудистая жесткость и скорость распространения пульсовой волны: новые факторы риска сердечно – сосудистых осложнений и мишени для фармакотерапии / С.В. Недогода, Т.А. Чаляби // Артериальная гипертензия. – 2006. – Том 01. – №4. – С. 35-45.

12. Парахонский, А.П. Значение оксида азота в развитии патологии / А.П. Парахонский // Фундаментальные исследования. – 2007. – № 5 – С. 88-89.

13. Полонецкий, Л. З. Способ оценки вазомоторной функции эндотелия плечевой артерии реовазографическим методом – инструкция по применению / Л.З. Полонецкий [и др.] // Современные методы диагностики, лечения и профилактики заболеваний [Электронный ресурс]. – 2005. – Режим доступа: <http://www.med.by/methods/pdf/137-1204.pdf> – Дата доступа: 26.06.2011.

14. Полонецкий, Л. З. Способ оценки параметров распространения пульсовой волны реографическим методом : инструкция по применению / Л.З. Полонецкий [и др.] // Современные методы диагностики, лечения и профилактики заболеваний [Электронный ресурс]. – 2005. – Режим доступа: <http://www.med.by/methods/pdf/134-1005.pdf> – Дата доступа: 26.06.2011.

15. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных / О.Ю. Реброва – Москва: Меди Сфера, 2006. – 305 с.

16. Савченко, Р.П. Селен ЕС – антиоксидант XXI века / Р.П. Савченко, О.П. Виноградова, А.Ф. Блинохватов, В.П. Чижов // Мед. панорама. –2002. – №5. – С.45-46.

17. Сидоренко, Г.И. Роль гомоцистеина в тромбо- и атерогенезе. Возможности и перспективы витаминной коррекции / Г.И. Сидоренко, А.Г. Мойсеенок, М.Г. Колядко, С.Ф. Золотухина // Кардиология. – 2001. – №3. – С. 56-61.

18. Чаава, М.М. Связь показателей гомоцистеина с течением постинфарктного периода у пациентов различного возраста / М.М. Чаава, Т.Ш. Букия, Н.А. Гогохия // Клиническая лабораторная диагностика. – М, 2006. – №2. – С. 21-22.

19. Bryan, N.S. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples / N.S. Bryan, M.B. Grisham // Free Radic. Biol. Med. – 2007. – Vol. 43. – №5. – P. 645-657.

20. Folic acid reverts dysfunction of endothelial nitric oxide synthase / E.S. Stroes [et al] // Circ. Res. –2000. – Vol.86. – №11. – P. 1129 – 1134.

21. Folic acid supplementation for 3 weeks reduces pulse pressure and large artery stiffness independent of MTHFR phenotype / C. Williams [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2005. – Vol. 82. – P. 26-31.

22. Gardiner P. H. E. Direct determination of selenium in human blood serum and plasma by electrothermal atomic absorption spectrometry / P. H. E Gardiner, D Littlejohn, D. J Halls, F G. Sell // J. Trace Elements Med. Biol. – 1995. – Vol. 9. – P. 74-81.

23. Lowering blood homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction and death. The Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) Randomized Controlled Trial / J.F. Toole [et al.] // JAMA. – 2005. – Vol. 5. – P. 565-575.

24. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: the European Concerted Action Project / I. Graham [et al.] // JAMA. – 1997. –Vol. 277. – P. 1775-1781.

25. Relation of serum homocysteine and lipoprotein (a) concentrations to atherosclerotic disease in a prospective Finnish population based study / G. Alfthan [et al.] // *Atherosclerosis*. – 1994. – Vol. 106. – P.9-19.

26. Selenium levels and glutathione peroxidase activities in patients with acute myocardial infarction / M.V. Bor [et al.] // *Acta Cardiol.* – 1999. – Vol. 54 – №5. – P. 271-276.

27. Selenoprotein P protect endothelial cells from oxidative damage by stimulation of glutathione peroxidase expression and activity / H. Steinbrenner [et al.] // *Angiology*. – 2006. – Vol.57. – №2. – P. 187-192.

28. Ubbink, J.B. Rapid high-performance liquid chromatographic assay for total homocysteine levels in human serum / J.B. Ubbink, W.J. Vermaak, S.Bissbort // *J. of Chromatography*. – 1991. – Vol. 565. – P. 4.

## Глава 5

# РОЛЬ ГОМОЦИСТЕИНА В РАЗВИТИИ КАРДИОВАСКУЛЯРНОЙ ПАТОЛОГИИ У ПАЦИЕНТОВ С ПОДАГРОЙ

### Введение и краткий литературный обзор

Для больных подагрой характерны высокие значения суммарного коронарного риска развития кардиоваскулярных катастроф, связанных с атеросклеротическим поражением сосудов [1]. В Фремингемском исследовании среди лиц, страдающих подагрой, было выявлено 60% случаев коронарной болезни сердца [17]. Исследование Gutmann A.V., которое является чуть ли не единственным, изучавшим исходы подагры за 20-летний период, показало, что не более четверти больных подагрой погибают от хронической почечной недостаточности, основная же причина смерти – это сердечно-сосудистые катастрофы [23]. Распространенность ишемической болезни сердца (ИБС) при подагре, а также риск кардиоваскулярных событий при подобных сочетаниях выше, чем в популяции в целом [3].

Krishnan E. и др. в исследовании MRFIT (Multiple Risk Factor Intervention Trial) показали, что среди больных подагрическим артритом без наличия коронарной болезни сердца в анамнезе имеется значительная положительная корреляция с последующим острым инфарктом миокарда (ОИМ) [29]. Choi H.K. et al. в проспективном исследовании изучали взаимосвязь между подагрой, риском смерти и инфарктом миокарда. В сравнении с лицами без подагры и кардиоваскулярной болезни мультивариантный относительный риск среди больных с подагрой был 1,28 для общей смертности, 1,38 для кардиоваскулярной смертности и 1,55 для фатальной коронарной болезни сердца. Для сравнения относительный риск среди лиц с предсуществующим кардиоваскулярным заболеванием был 1,25, 1,26 и 1,24, соответственно. Кроме того, у больных подагрой наблюдался более высокий риск нефатального инфаркта миокарда (относительный риск 1,59), чем

у лиц без подагры [14]. В последнее время все больше внимания уделяется изучению «новых» факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний у больных подагрой.

По данным экспериментальных исследований, одним из важнейших путей реализации патогенетической связи подагры и ИБС является эндотелиальная дисфункция [2]. Одним из ключевых звеньев патогенеза развития эндотелиальной дисфункции является повышение уровня гомоцистеина и реализация его неблагоприятных биологических эффектов [10,40]. На сегодняшний день обмен гомоцистеина у пациентов с подагрой недостаточно изучен. В некоторых исследованиях была выявлена положительная корреляция между повышенным уровнем мочевой кислоты и уровнем гомоцистеина [16, 30, 31]. Неизвестно, имеется ли такая корреляция у больных подагрой, однако сам факт гипергомоцистеинемии у данной категории пациентов был выявлен в некоторых исследованиях. Так, Tsutsumi Z, Moriwaki Y. установили, что у японцев, страдающих подагрой, уровень гомоцистеина не был повышен [37]. С другой стороны, исследования, проведенные Istok R., Kovalancik M. в Европе, Cheng T.T., Lai H.M. в Тайване показали, что у больных подагрой был повышен уровень гомоцистеина [13, 27]. Cheng и соавторы показали, что у больных подагрой уровень гомоцистеина в плазме крови значительно больше ( $12,0 \pm 3,19$  мкмоль/л), чем в контрольной группе ( $9,96 \pm 4,68$  мкмоль/л). Не было достоверных различий в группах до лечения аллопуринолом ( $12,54 \pm 3,31$ ) и после лечения аллопуринолом ( $11,90 \pm 4,68$ ) [13].

Кроме сосудистых эффектов повышение уровня гомоцистеина может способствовать повышению уровня мочевой кислоты, что реализуется через увеличение концентрации ниацина. Возможно, увеличение концентрации мочевой кислоты у больных подагрой кроме дефектов пуринового метаболизма, происходит также вследствие уменьшения образования S-аденозилметионина (SAM) из-за снижения реметилирования гомоцистеина, что приводит к увеличению концентрации ниацина, который входит в состав никотинамиддениндинуклеотида (НАД). Скорость распада НАД, в свою очередь, зависит от метилирования SAM. При гипергомоци-

стеинемии происходит увеличение концентрации ниацина и уменьшение экскреции мочевой кислоты, повышение ее уровня и утяжеление симптомов подагры [19, 33]. Ниацин (витамин РР) конкурирует с мочевой кислотой за экскрецию, и применение его в составе препаратов (в частности, ксантинола никотината) у больных подагрой нежелательно.

Таким образом, при подагре, кроме гиперурикемии, связанной с патогенезом данного заболевания, при нарушении обмена серосодержащих аминокислот, в частности, при нарушении катаболизма гомоцистеина, могут возникать дополнительные механизмы, приводящие к повышению концентрации мочевой кислоты у этих больных. С другой стороны, нарушение пуринового обмена также может приводить к нарушению обмена серосодержащих аминокислот. Установлено, что в присутствии аденозина гомоцистеин активно конвертируется в SAH, потенциальный ингибитор метилтрансфераз [25]. Основной механизм неблагоприятных действий гомоцистеина – это гипометилирование через накопление SAH [25, 35]. Учитывая, что у больных подагрой происходит нарушение метаболизма компонентов пуринового обмена и их накопление, можно предположить, что повышенный уровень аденозина у таких больных будет приводить к сдвигу реакций в сторону образования SAH. Кроме того, недавно было выявлено, что гомоцистеин в присутствии аденозина ингибирует рост эндотелиальных клеток путем снижения карбоксиметилирования p21<sup>ras</sup> [39]. Внеклеточный аденозин вместе с гомоцистеином вызывал апоптоз культивируемых эндотелиальных клеток легочной артерии вследствие увеличения концентрации SAH, который ингибирует изопренилцистеин карбоксиметилтрансферазу, в итоге приводя к активации сигнальных молекул, запускающих апоптоз [28]. Исходя из этого, можно предположить более выраженное неблагоприятное действие гомоцистеина у больных подагрой на состояние эндотелия сосудов и на параметры эндотелийзависимой вазодилатации.

**Целью** нашего исследования было: разработка патогенетически обоснованных рекомендаций по коррекции дисфункции эндотелия и профилактике риска развития кардио-

васкулярной патологии у пациентов с подагрой с учетом нарушения метаболизма серосодержащих аминокислот и фолатного статуса.

В данной главе представлены данные комплексного обследования пациентов с подагрой как без кардиоваскулярной патологии, так и в сочетании с ИБС и АГ, а также здоровых лиц единой возрастной группы, дана характеристика функционального состояния эндотелия плечевой артерии, определены показатели метаболизма серосодержащих аминокислот, уровень фолатов и параметры артериальной жесткости. С помощью корреляционного анализа определена роль нарушения метаболизма серосодержащих аминокислот и дефицита фолиевой кислоты в развитии дисфункции эндотелия, дано обоснование технологии метаболической коррекции в составе комплексной патогенетической терапии и проведена оценка ее эффективности.

## **5.1 Материал и методы исследования**

Исследования проводились на базе кафедры госпитальной терапии и УО «Гродненского государственного медицинского университета», ревматологического отделения гродненской областной клинической больницы и ревматологических кабинетов городских поликлиник г. Гродно.

### **5.1.1 Клиническая характеристика обследованных больных**

Нами было обследовано 99 пациентов с подагрой без кардиоваскулярной патологии, 30 пациентов с подагрой в сочетании с ИБС и АГ и 40 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту, с нормальным артериальным давлением, без отягощенной наследственности по сердечно-сосудистой патологии. Для обследования отбирались амбулаторные больные, состоящие на диспансерном учете по поводу подагры у ревматологов в городских поликлиниках г. Гродно, а также больные, находившиеся на стационарном лечении в ревматологическом отделении Гродненской областной клинической больницы. Противопоказаниями к вклю-

чению в группу пациентов без кардиоваскулярной патологии являлись: клинические проявления ИБС и признаки коронарной недостаточности при велоэргометрии, признаки гипертрофии левого желудочка по данным ЭКГ, артериальная гипертензия, сахарный диабет и другая эндокринная патология, синдромы почечной и печеночной недостаточности, геморрагический синдром, анемия, заболевания бронхолегочной системы. Средний возраст больных составил  $47,34 \pm 7,55$  лет, все больные – лица мужского пола. Длительность заболевания составила от 0,5 до 15 лет (в среднем  $6,9 \pm 2,3$  года) [4, 7, 9].

В группу пациентов с подагрой в сочетании с ИБС и АГ были включены лица с верифицированным диагнозом стабильной стенокардии напряжения 2-го функционального класса и артериальной гипертензией не выше 2-й степени по данным офисного измерения АД и холтеровского мониторинга.

Диагноз подагры устанавливали согласно критериям Американской ревматологической ассоциации:

А. Наличие характерных монокристаллических уратных кристаллов в синовиальной жидкости<sup>1</sup>.

В. Подтвержденный тофус (химическим анализом или поляризационной микроскопией)<sup>1</sup>.

С. Наличие 6 из 12 клинических, лабораторных и рентгенологических признаков:

1. Максимальное воспаление сустава в первый день.
2. Наличие более чем одной атаки артрита.
3. Моноартрит.
4. Покраснение суставов.
5. Боль и воспаление ПФС первого пальца.
6. Асимметричное воспаление ПФС.
7. Одностороннее поражение тарзальных суставов.
8. Подозрение на тофусы.
9. Гиперурикемия.
10. Асимметричное воспаление суставов.
11. Субкортикальные кисты без эрозий при рентгенологическом исследовании.

---

<sup>1</sup> Критерии А и В (выявление кристаллов) – являются самостоятельными.

12. Отсутствие микроорганизмов в культуре синовиальной жидкости.

Всем пациентам и здоровым в процессе диагностики проводилось обследование, включавшее общий осмотр, измерение артериального давления, лабораторные исследования: общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови – общий белок, мочевины, креатинин, мочевая кислота, глюкоза, общий билирубин, общий холестерин, общие липиды, аспаратаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, С-реактивный белок, ревматоидный фактор. Регистрировалась ЭКГ в 12 общепринятых отведениях, проводилась велоэргометрия для исключения скрытой коронарной недостаточности. Также в плазме крови определялись концентрации общего фолата, аминокислот, в том числе серосодержащих, метаболиты пуринового обмена, показатели эндотелийзависимой и эндотелийнезависимой вазодилатации. Обследование больных проводилось вне обострения подагрического артрита, при отсутствии острофазовых показателей крови и с отменой любых препаратов (в том числе аллопуринола) за 5-7 дней до обследования, после которого больные были разбиты на 2 группы. Первую группу составили 50 человек, которые принимали аллопуринол в дозе 100 мг три раза в день (суммарная доза 300 мг). Вторую группу составили 49 человек, которые принимали комплексное лечение – аллопуринол 300 мг, фолиевую кислоту 0,3 мг, витамин В<sub>6</sub> – 5мг в сутки. Пациенты с подагрой в сочетании с ИБС и АГ получали аллопуринол 300 мг в сутки, фолиевую кислоту 0,5 мг, вит. В<sub>6</sub> -5мг, лозартан 100 мг, метопролол 100 мг в сутки. Лечение проводилось в течение месяца, после чего проводилось повторное определение функциональных и биохимических показателей.

### **5.1.2 Исследования функционального состояния эндотелия**

Для изучения вазодилататорной активности эндотелия сосудов у больных подагрой нами использована функциональная окклюзионная проба с объективным контролем степени вазодилатации реографическим методом. Скорость постишемического кровотока после пережатия артерии в не-

сколько раз превышает исходную и в течение 1-2 минут снижается к доокклюзионному уровню. Окклюзия артериального кровотока вызывает снижение рО<sub>2</sub> и резкое увеличение напряжения сдвига на эндотелий (в момент реокклюзии), что приводит к повышению активности его механорецепторов, обуславливая повышение NO-синтазной активности эндотелия, высвобождение NO и развитие дилатации сосудов – постокклюзионной реактивной гиперемии [12,32].

Исследование эндотелийзависимой реакции плечевой артерии (ПА) в ответ на пробу с реактивной гиперемией (РГ) осуществляли методом реовазографии с помощью аппаратно-программного комплекса “Импекард”. В качестве информативной реографической величины оценивалось изменение максимальной скорости кровотока ( $\Delta dz/dt$ ),% – показатель вазомоторной функции эндотелия (ВФ), вызванное реактивной гиперемией [8].

За 30-40 минут до исследования больной принимает 25 мг ортофена для блокады простаглицлин-зависимой активности эндотелия. Измеряется уровень артериального давления. Вводится и автоматически анализируется реовазографический сигнал исходного состояния. Затем в компрессионную манжетку нагнетается воздух до уровня, превышающего систолическое артериальное давление на 50 мм рт. ст. Продолжительность компрессии составляет 5 мин. Через 1 минуту после декомпрессии повторно вводится и анализируется реовазографический сигнал. Вычисляется относительное изменение максимальной объемной скорости кровенаполнения  $\Delta dz/dt$  по формуле:

$$\Delta dz/dt = ((dz/dt_1' - dz/dt_{исх.}) / dz/dt_{исх.}) \times 100\% ,$$

где  $dz/dt_{исх.}$ ,  $dz/dt_1'$  – максимальная объемная скорость кровенаполнения в состоянии покоя и через минуту после декомпрессии, соответственно.

Диагностические заключения строятся следующим образом:

- при  $\Delta(dz/dt) > 12\%$  – ВФ эндотелия не нарушена;
- при  $\Delta(dz/dt) = (-2-12)\%$  – умеренно выраженное нарушение ВФ эндотелия;

- при  $\Delta(dz/dt) < (-2 - -15)\%$  – выраженное нарушение ВФ эндотелия;
- $\Delta(dz/dt) < -15\%$  – резко выраженное нарушение ВФ эндотелия.

Изучение эндотелийнезависимой вазодилатации проводилось методом нитроглицериновой пробы. Экзогенно введенный NO активирует растворимую гуанилатциклазу. В результате повышается уровень ц-ГМФ в миоцитах, что приводит к их релаксации и расширению сосудов. Индуцированная нитроглицерином релаксация проявляется на 5-й минуте максимальным приростом пульсового кровотока периферических сосудов. Анализ степени прироста пульсового кровотока в ответ на прием нитроглицерина дает возможность судить о сохранности гуанилатциклазного, независимого от эндотелия, механизма вазодилатации.

### **5.1.3 Методика определения скорости распространения пульсовой волны**

При исследовании СРПВ используется четыре концентрических электрода. Для регистрации реограммы с центральной – сонной – артерии первая пара электродов накладывается в области шеи: один – на переднешейной борозде на уровне верхнего края щитовидного хряща, другой на этом же уровне со смещением на 2 см кзади. Вторая пара электродов накладывается в зоне максимальной пульсации лучевой артерии в районе запястья. Для оценки временного параметра распространения пульсовой волны вычисляется разность между временем начала комплекса реограммы сонной артерии и временем начала соответствующего комплекса реограммы лучевой артерии. Вычисленные разности усредняются по числу синхронно размеченных комплексов и результирующее значение принимается за время распространения пульсовой волны у данного пациента. Для оценки СРПВ измеряются расстояния от яремной ямки до реоэлектрода на запястье и от яремной ямки до реоэлектрода на сонной артерии. В качестве длины пути при распространении пульсовой волны принимается разность измеренных расстояний. Скорость пульсо-

вой волны рассчитывается как отношение вычисленного расстояния ко времени запаздывания пульсовой волны. Реовазографический порог критерия СРПВ определен как  $C=10,2$  м/с. Превышение данного уровня характерно для состояния сосудов верхних конечностей больных сердечно-сосудистой патологией. Величины СРПВ ниже 10,2 м/с соответствуют диапазону нормальных значений.

#### **5.1.4 Определение концентраций серосодержащих аминокислот в плазме крови**

Количественная и качественная идентификация свободных аминокислот и их дериватов проводилась обращенно-фазной хроматографией с предколоночной дериватизацией 0,4% о-фталевым альдегидом и 0,3% 3-меркаптопропионовой кислотой в 0,4М Na-боратном буфере, рН 9,4. Детектирование по флуоресценции (231/445 нм, начиная с времени выхода пиков пролина и оксипролина и до конца хроматограммы –260/313 нм). Идентификация и количественная оценка полученных значений производилась программой Agilent ChemStation A10.01 путем сравнения результатов анализа исследуемых биологических объектов со стандартной калибровочной кривой искусственной смеси аминокислот. Последняя содержала равные количества определяемых соединений по 250 нмоль/мл каждого и обрабатывалась так же, как соответствующие пробы (плазмы или ткани). Использовался концентрат стандартной смеси физиологических аминокислот фирмы "Calbiochem" (США). Использовалась колонка Zorbax XDB  $C_8$ , 3,5 мкм, 3x150 мм. Подвижная фаза А: 0,1 М Na-ацетатный буфер, рН 6,85, содержащий 20 мг/л ЭДТА; подвижная фаза В: ацетонитрил/вода 6/4 (об./об.). Разделение проводили с градиентным элюированием от 5 до 100% В за 78 мин.; температура колонки 37°C. Для определений использовали хроматограф Agilent 1100. Тридистиллированную воду для подвижных фаз пропускали через патрон «Norganic» (Millipore, США), подвижные фазы фильтровали через мембранный фильтр 0,22 мкм.

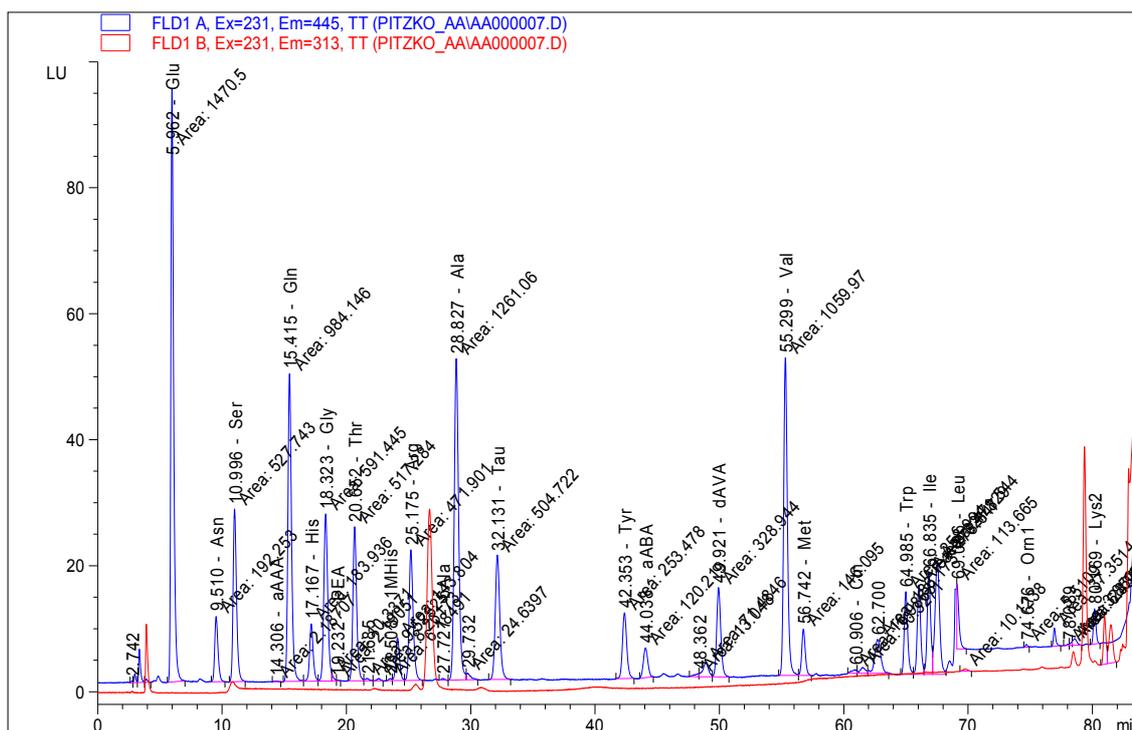


Рисунок 5.1 – Хроматограмма аминокислот плазмы крови

В описанной системе последовательно элюировались и определены следующие соединения: таурин, цистеин, метионин, цистатионин, цистеинил-глицин.

Содержание общего гомоцистеина в плазме крови определяли после предколоночной дериватизации тиолов с аммоний-7-фторбензол-2-оксо-1,3-диазола-4-сульфонатом (SBD-F) [26] методом обращенно-фазной ВЭЖХ с изократическим элюированием, представляющим собой модификацию метода, предложенного Ubbink et al. [44]. Для восстановления тиолов из дисульфидов и высвобождения связанных с белками тиолов использовался трис-(карбоксиэтил)фосфин гидрохлорид (ТСЕР), при этом использовалась модификация процедуры, описанной Gilfix et al. [21].

К плазме крови добавляли N-ацетилцистеин до конечной концентрации 100 мкМ (внутренний стандарт). Разделение осуществляли на колонке Диасорб 130 C<sub>16</sub>T, 3x250 мм, 7 мкм. Подвижная фаза: 0,1 М NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 17 мМ CH<sub>3</sub>COOH, pH 3,65, 40 мг/л ЭДТА, 3% ацетонитрила. Скорость потока 0,6 мл/мин, температура колонки 30°C. Пробы плазмы крови (50 мкл) смешивали с 5 мкл раствора ТСЕР (100 мг/мл), после

чего оставляли при комнатной температуре на 30 мин. Затем осаждали белки добавлением 50 мкл 10% раствора ТХУ и центрифугировали при 4°C 15 мин. при 16000 g. В микропробирку на 200 мкл, содержащую 2 мкл 1,55 М NaOH, 12,5 мкл 0,125 М Na-боратного буфера, содержащего 200 мг/л ЭДТА, pH 9,5, и 5 мкл раствора SBD-F (1 мг/мл) в таком же буфере, вносили 10 мкл супернатанта и инкубировали 1 час при 60°C. В хроматографическую систему вводили 10 мкл реакционной смеси. Детектирование по флуоресценции, 379/510 нм.

Определения проводили на хроматографической системе Agilent 1100, содержащей 4-канальный градиентный насос, термостат колонок, автосамплер и детектор флуоресценции. Регистрация хроматограмм и их количественная обработка осуществлялись с помощью Agilent ChemStation A10.01.

### 5.1.5 Исследование липидного обмена

Исследование параметров липидного обмена проводилось в сыворотке, полученной сразу же после взятия крови из вены на фотометре, автоматизированном ЗФ 2660 ЗАО «Солар».

Общий холестерин, триацилглицерины определялись прямым ферментативным ПАП методом (p-аминоптерин) с образованием хинонеиминового остатка красного цвета. Интенсивность окраски производного хинонеимина прямо пропорциональна концентрации общего холестерина, триацилглицеринов в пробе. Уровень холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) определялся фотометрическим ферментативным методом с осаждением липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), липопротеинов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП) и их «ремнантов» с помощью фосфорно-вольфрамовой кислоты и хлорида магния. В надосадочной жидкости определялся ХС ЛПВП. В ходе реакции образуется хинонеиминового остатка красного цвета. Интенсивность окраски производного хинонеимина прямо пропорциональна концентрации ХС ЛПВП.

Концентрация ХС ЛПНП рассчитывалась в соответствии с уравнением Friedewald et al.

$$\text{ХСЛПВП} = \text{ХС} - (\text{ХС ЛПВП}) - \text{ТГ}/2,2,$$

где  $\text{ТГ}/2,2 = \text{ХС ЛОПНП}$

Расчет атерогенности проводился по формуле:

$$\text{КА} = (\text{ХС} - \text{ХС ЛПВП}) / \text{ХС ЛПВП}$$

### **5.1.6 Определение фолатов в плазме крови**

Для анализа количества фолацина использовали коммерческие наборы радиоиммунного исследования SimulTRAC-SNB (MP Biomedicals, Orangeburg, USA). Фолатпроизводные плазмы крови анализировались после обработки образцов радиоактивным лигандом ( $^{125}\text{I}$ ) и дитиотрейотолом, и последующим экстрагированием в щелочной среде. В качестве стандарта использовали птероилглутаминовую кислоту в инкубационной среде при  $\text{pH } 9,5$ . Разницу в уровне радиоактивности контрольной и опытной проб измеряли автоматическим гамма-счетчиком Wallac 1470 Wizard (Швеция).

### **5.1.7 Методика нагрузочного теста с метионином**

Утром натощак у обследуемого производился забор крови, которую собирали в пластиковые пробирки, содержащие 10% раствор  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , и центрифугировали 15 мин. при 3000 g. Затем пациент принимал L-метионин в дозе 50 мг/кг массы тела в виде порошка, растворенного во фруктовом соке. В течение проведения нагрузочной пробы больному разрешался низкокалорийный и с ограничением белка завтрак. Через 4 часа у больного повторно проводился забор крови. Методом ВЭЖХ определялись уровни метионина и его метаболитов до и через 4 часа после нагрузки. Также определялась концентрация метаболитов пуринового обмена до и после нагрузки [5, 6].

### **5.1.8 Статистическая обработка результатов исследования**

Статистическая обработка проводилась с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010 и STATISTICA 6.0. Была использована простая описательная статисти-

ка. Ее результаты представлены в виде средних значений ( $M$ ) и средних квадратических отклонений ( $SD$ ) для количественных признаков, имеющих нормальное распределение, медианы ( $Me$ ) и интерквартильного интервала [25%; 75%] для неправильно распределенных анализируемых признаков. Качественные признаки описывались абсолютными и относительными частотами. Анализ взаимосвязи двух признаков проводился с использованием непараметрического корреляционного анализа по методу Спирмена. Результаты этого анализа представлены коэффициентом корреляции –  $r$  – и значением  $p$ . Для сравнения двух независимых групп мы использовали непараметрический критерий Манна-Уитни ( $U$ -тест). Для сравнения частот качественных признаков в несвязанных группах применялись точный критерий Фишера, в зависимых группах критерий  $\chi^2$ .

## **5.2 Функциональное состояние эндотелия плечевой артерии, скорость распространения пульсовой волны, обмен серосодержащих аминокислот и уровень фолиевой кислоты у пациентов с подагрой без кардиоваскулярной патологии и в сочетании с ИБС и АГ**

В данном разделе приведены результаты собственных исследований группы больных с подагрой без кардиоваскулярной патологии (99 человек), а также в сочетании с ишемической болезнью сердца и артериальной гипертензией (30 человек) и практически здоровых лиц ( $n=40$ ), некурящих мужчин без отягощенной наследственности по ИБС.

### **5.2.1 Уровни серосодержащих аминокислот, фолата в плазме крови, функциональное состояние эндотелия плечевой артерии и скорость распространения пульсовой волны у практически здоровых лиц**

Контрольную группу составили 40 практически здоровых, некурящих мужчин, с нормальным артериальным давлением, без отягощенной наследственности по ИБС, с отсутствием указаний на заболевания респираторной, сердечно-сосудистой систем, желудочно-кишечного тракта и эндок-

ринной системы. Средний возраст обследуемых составил  $43,62 \pm 7,4$  лет. Лица этой группы жалоб на состояние здоровья в момент обследования не предъявляли.

Результаты определения концентраций серосодержащих аминокислот у практически здоровых лиц представлены в таблице 5.1.

Таблица 5.1 – Концентрация серосодержащих аминокислот у практически здоровых лиц

Аминокислоты	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль
Гомоцистеин, мкмоль/л	7,18	6,12	8,25
Цистеин, мкмоль/л	139,35	80,70	178,59
Цистеинил-глицин, мкмоль/л	34,49	27,85	45,94
Глутатион, мкмоль/л	3,39	2,16	4,71
Таурин, мкмоль/л	142,63	123,59	180,68
Метионин, мкмоль/л	21,13	18,66	22,80
Цистатионин, мкмоль/л	7,31	5,73	11,18

Содержание гомоцистеина в плазме крови у практически здоровых лиц составило 7,18 (6,12-8,25) мкмоль/л. Отмечалась положительная корреляция между уровнями гомоцистеина и цистеина ( $R=0,52$ ,  $p=0,0012$ ), так как гомоцистеин через образование цистатионина превращается в цистеин, и отрицательная между концентрациями гомоцистеина и таурина ( $R= -0,41$ ,  $p=0,025$ ), что, возможно, свидетельствует о преимуществе реутилизации гомоцистеина путем реметилирования, а не транссульфурирования. У здоровых не было взаимосвязей между уровнем гомоцистеина и пуриновыми метаболитами. Цистеин у здоровых лиц положительно коррелировал с цистеинилглицином ( $r=0,45$ ,  $p=0,006$ ) и не было достоверных корреляций с метаболитами пуринового обмена. Уровень глутатиона в контрольной группе составил 3,39 (2,16-4,71) мкмоль/л и положительно коррелировал с уровнем аденозина ( $r=0,52$ ,  $p=0,003$ ). Не было выявлено корреляций

цистеинилглицина, метионина и цистатионина с пуриновыми метаболитами [4, 9].

Результаты исследования функционального состояния эндотелия плечевой артерии, скорости распространения пульсовой волны и концентрации фолатов в плазме крови у практически здоровых лиц представлены в таблице 5.2.

Таблица 5.2 – Показатели функционального состояния эндотелия плечевой артерии, скорости распространения пульсовой волны и концентрации фолатов в плазме крови у здоровых лиц

Показатели	Медиана (n=40)	Нижний квартиль	Верхний квартиль
Фолаты, мкмоль/л	12,0	10	14,5
ЭЗВД, %	36,25	23,85	49,15
ЭНВД, %	45,4	31,5	52,1
СРПВ, м/с	9,7	6,8	10,1

Как видно из таблицы, показатель эндотелийзависимой вазодилатации составил 36,25% (23,85-49,15), а эндотелийнезависимой – 45,4% (31,5-52,1). В контрольной группе не наблюдалось корреляций между ЭЗВД и метаболитами пуринового обмена, в том числе мочевой кислотой. Также в контрольной группе не было выявлено корреляций между содержанием серосодержащих аминокислот и показателями эндотелийзависимого ответа. Скорость распространения пульсовой волны у здоровых лиц колебалась от 6,8 до 10,1 м/с и в среднем составила 9,7 м/с. Уровень фолатов в плазме крови практически здоровых лиц колебался от 10 до 14,5 мкмоль/л [4, 7, 9].

### **5.2.2 Показатели метаболизма серосодержащих аминокислот, уровень фолатов, функциональное состояние эндотелия плечевой артерии и скорость распространения пульсовой волны у пациентов с подагрой без кардиоваскулярной патологии**

У больных подагрой были определены концентрации серосодержащих аминокислот. Данные представлены в таблице 5.3.

Таблица 5.3 – Концентрации серосодержащих аминокислот у пациентов с подагрой без сердечно-сосудистой патологии (медиана (нижний квартиль – верхний квартиль))

Аминокислоты	Практически здоровые лица (n=40)	Пациенты с подагрой без КВП (n=99)
Гомоцистеин, мкмоль/л	7,18 (6,127-8,25)	12,15 (9,25-16,06)***
Цистеин, мкмоль/л	139,35 (80,704-178,59)	255,57 (176,94-322,8)***
Цистеинилглицин, мкмоль/л	34,49 (27,854-45,94)	39,40 (34,48-51,89)*
Глутатион, мкмоль/л	3,39 (2,16-4,71)	3,12 (1,88-4,50)
Таурин, мкмоль/л	142,63 (123,59-180,68)	110,81 (86,8-132,97)*
Метионин, мкмоль/л	21.13 (18.66-22.80)	21.33 (17,58-24,30)
Цистатионин, мкмоль/л	7.31 (5.73-11.18)	6.76 (5,33-7,78)

Примечание – \* P<0,05 \*\* P<0,01 \*\*\* P<0,001 – по отношению к контрольной группе.

У больных подагрой отмечается значительное повышение концентрации гомоцистеина в сравнении с практически здоровыми лицами, а также цистеина и цистеинилглицина. В то же время, снижены концентрации таурина и цистатионина. Наблюдаемая у практически здоровых лиц отрицательная корреляция гомоцистеина и таурина ( $R=-0,41$ ,  $p=0,025$ ) у больных отсутствует ( $r=0,16$ ,  $p=0,31$ ). Если в контрольной группе не было выявлено корреляций между серосодержащими аминокислотами и пуриновыми метаболитами, то у пациентов с подагрой таковые имелись. Так, уровень цистеина обратно коррелировал с уровнем гипоксантина ( $R= -0,29$ ,  $p=0,013$ ) и ксантина ( $R= -0,42$ ,  $p=0,0002$ ) [5, 6, 7, 9]. Показатели функционального состояния эндотелия плечевой артерии, скорость распространения пульсовой волны и концентрация фолатов в плазме крови у больных подагрой представлены в таблице 5.4.

Как видно из представленных данных, кроме метаболических нарушений, у пациентов с подагрой выявлено нарушение вазомоторной функции эндотелия, которое проявляется

Таблица 5.4 – Показатели функционального эндотелия плечевой артерии, скорость распространения пульсовой волны и концентрация фолатов в плазме крови у больных подагрой (медиана (нижний квартиль – верхний квартиль))

Показатели	Практически здоровые лица (n=40)	Пациенты с подагрой без КВП (n=99)
Фолаты, мкмоль/л	12,0 (10 – 14,5)	5,90 (5,30 – 6,60)***
Общий холестерин, ммоль/л	4,75(4,4-5,64)	5,5(4,8-6,1)
ЭЗВД, %	36,25 (23,85 – 49,15)	8,50 (-5,90 – 25,00)***
ЭНВД, %	45,4 (31,5 – 52,1)	42,2 (21,7 – 50,6)
СРПВ, м/с	9,7(6,8-10,1)	11,2(9,2-13)

Примечание – P<0,05 \*\* P<0,01 \*\*\* P<0,001- по отношению к контрольной группе.

ся уменьшением эндотелийзависимой вазодилатации. У пациентов с подагрой в сравнении со здоровыми лицами значительно снижен эндотелийзависимый ответ (8,50 (-5,90-25,00) vs. 36,25% (23,85-49,15)), в то же время показатели эндотелийнезависимого ответа практически не отличались (таблица 5.4).

По показателям ЭЗВД у пациентов была выявлена следующая градация:

- 33 человека (33,3%) – ВФ эндотелия не нарушена;  $\Delta(dz/dt) > 12\%$
- 38 человек (38,4%) – умеренно выраженное нарушение ВФ эндотелия;  $\Delta(dz/dt) = (-2-12)\%$
- 17 человек (17,2%) – выраженное нарушение ВФ эндотелия;  $\Delta(dz/dt) < (-2 - -15)\%$
- 11 человек (11,1%) – резко выраженное нарушение ВФ эндотелия;  $\Delta(dz/dt) < -15\%$

Таким образом, у 66,7% пациентов с подагрой имеется нарушение ЭЗВД. Корреляционный анализ показал, что у них ЭЗВД обратно коррелировала с уровнем гомоцистеина ( $R = -0,49$ ,  $P = 0,000001$ ), в то время как у здоровых лиц между ЭЗВД и уровнем гомоцистеина достоверной корреляции не было. У больных ЭЗВД также обратно коррелировала с уров-

нем цистеина ( $R = -0,22$ ,  $p = 0,03$ ), мочевой кислоты ( $R = -0,25$ ,  $p = 0,038$ ) [4, 7] и СРПВ ( $R = -0,24$ ,  $p = 0,04$ ). По содержанию фолатов в группе больных подагрой отмечалось снижение уровня фолатов (5,90 (5,30-6,60) мкмоль/л у больных и 12,0 (10-14,5) мкмоль у здоровых). Выявлена также корреляция между ЭЗВД и уровнем фолатов ( $r = 0,29$ ,  $p = 0,003$ ) в плазме крови пациентов, что свидетельствует о важной роли фолатов в регуляции функционального состояния эндотелия. Кроме того, выявлена отрицательная корреляция между уровнем фолатов и гомоцистеина ( $R = -0,40$ ;  $p = 0,00152$ ). Таким образом, чем выше у больных концентрации гомоцистеина, цистеина и мочевой кислоты, больше СРПВ и ниже концентрация фолата, тем хуже эндотелийзависимый ответ. Однако между уровнем гомоцистеина и ЭЗВД более сильная корреляция, чем между уровнем мочевой кислоты и ЭЗВД, что может свидетельствовать о большей роли уровня гомоцистеина в развитии ДЭ, чем уровня мочевой кислоты. Особое внимание на себя обращает отрицательная корреляция между ЭЗВД и цистеином, которая свидетельствует в пользу того, что цистеин у больных подагрой может быть фактором риска сердечно-сосудистой патологии. Отрицательная корреляция между ЭЗВД и СРПВ объясняется тем, что СРПВ увеличивается при уплотнении сосудистой стенки, что наблюдается при атеросклеротическом процессе, в то же время эндотелийзависимый ответ ухудшается. Кроме того, поскольку фолиевая кислота является изостерическим ингибитором ксантиноксидазы, пониженный уровень фолатов в плазме крови пациентов с подагрой может способствовать повышенной активности последней и тем самым увеличению уровня мочевой кислоты [4, 7].

У здоровых лиц не выявлено достоверной корреляции ЭЗВД ни с одним показателем, в том числе гомоцистеином, цистеином, таурином, общим холестерином, что свидетельствует о том, что при нормальных концентрациях последних эндотелий интактен.

Как видно из полученных данных, при отсутствии клинических проявлений сердечно-сосудистых заболеваний у обследуемых пациентов, при нормальных показателях ЭЗВД

и СРПВ, имеется нарушение эндотелийзависимой вазодилатации и гипофолатемия, что является предиктором к развитию заболеваний сердечно-сосудистой системы.

### **5.2.3 Сравнительная оценка показателей серосодержащих аминокислот, вазомоторной функции эндотелия плечевой артерии, скорости распространения пульсовой волны и уровня фолатов у пациентов с подагрой с дисфункцией и без дисфункции эндотелия**

Для более детального выяснения роли каждого фактора в развитии дисфункции эндотелия мы рассмотрели также показатели метаболизма серосодержащих аминокислот отдельно у пациентов с подагрой с дисфункцией эндотелия и без дисфункции эндотелия, что позволило выявить важные различия, представленные в нижерасположенных таблицах.

Как видно из данных, представленных в таблице 5.5, у пациентов без дисфункции эндотелия уровень гомоцистеина выше, чем в контрольной группе, но существенно ниже, чем в группе с ДЭ, при этом отмечалась также большая разница в показателях ЭЗВД, уровня фолатов, что отображено в таблице 5.6. Так, повышение уровня гомоцистеина на 4,2 мкмоль/л у пациентов с подагрой в сочетании с дисфункцией эндотелия сопровождалось десятикратным уменьшением показателей эндотелийзависимой вазодилатации от 29,4% до 2,4% на фоне гипофолатемии (5,0 мкмоль/л). Это подтверждается отрицательной корреляцией между ЭЗВД и концентрацией гомоцистеина ( $R = -0,37$ ;  $p = 0,002$ ). Несмотря на то, что уровень мочевой кислоты в обеих группах был одинаков, различие по показателям ЭЗВД было зарегистрировано десятикратное. Из чего можно заключить, что нарушение эндотелийзависимой вазодилатации у пациентов с подагрой в большей степени зависит от уровня гомоцистеина и фолиевой кислоты в плазме крови. Это показывает положительная корреляция между фолиевой кислотой и ЭЗВД ( $R = 0,47$ ;  $p = 0,04$ ) в группе пациентов с ДЭ. Ранее проведенные исследования показывали наличие у больных подагрой повышенного уровня гомоцистеина и наличие эндотелиальной дисфункции, однако не связывали одно с другим [1].

Таблица 5.5 – Концентрации серосодержащих аминокислот у пациентов с ДЭ и без дисфункции эндотелия (медиана (нижний квартиль – верхний квартиль))

Аминокислоты	Практически здоровые лица (n=40)	Пациенты с подагрой без ДЭ (n=33)	Пациенты с подагрой с ДЭ (n=66)
Гомоцистеин, мкмоль/л	7,18 (6,127-8,25)	11,2 (8,9-13,7)***	15,4 (9,5-16,8)+++
Цистеин,	139,35 (80,704-178,59)	247,80 (187,47-291,2)***	263,1 (218,1-339,3)+
Цистеинил-глицин, мкмоль/л	34,49 (27,854-45,94)	38,1 (33,1-52,86)*	40,5 (37,0- 50,4)
Глутатион, мкмоль/л	3,39 (2,16-4,71)	3,3 (1,9-4,4)	2,96 (2,1-4,2)
Таурин, мкмоль/л	142,63 (123,59-180,68)	110,81 (86,8-132,97)*	102,5 (85,4-117,26)
Метионин, мкмоль/л	21,13 (18,66-22,80)	20,4 (8,69-24,3)	21,1 (16,26-23,86)
Цистатионин, мкмоль/л	7,31 (5,73-11,18)	7,78 (6,7-17,23)	6,9 (5,33-7,6)

Примечания:

1. \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001- по отношению к контрольной группе;
2. + P<0,05; ++ P<0,01; +++ P<0,001- по отношению к группе без ДЭ.

Таблица 5.6 – Показатели состояния функции эндотелия плечевой артерии, скорость распространения пульсовой волны и концентрация фолатов в плазме крови у пациентов с подагрой без КВП с ДЭ и без ДЭ (медиана (нижний квартиль – верхний квартиль))

Показатели	Практически здоровые лица (n=40)	Пациенты с подагрой без ДЭ (n=33)	Пациенты с подагрой с ДЭ (n=66)
Фолаты, мкмоль/л	12,0 (10-14,5)	7,30 (6,20-9,4)***	5,0 (4,3-6,4)++
Общий холестерин ммоль/л	4,75 (4,4-5,64)	5,2 (4,8-6,1)	6,5 (4,9-6,0)+
ЭЗВД, %	36,25 (23,85-49,15)	29,4 (25,0-39,8,0)***	2,4 (-10,3-8,8)+++
ЭНВД, %	45,4 (31,5-52,1)	44,2 (29,7-52,4)	40,2 (28,7-47,9)
СРПВ, м/с	9,7 (6,8-10,1)	10,1 (7,2-11,7)	11,7 (9,2-13,4)+

Примечания:

1. \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001- по отношению к контрольной группе;
2. + P<0,05; ++ P<0,01; +++ P<0,001- по отношению к группе без ДЭ.

Считалось, что эндотелиальная дисфункция у больных подагрой была вызвана в основном гиперурикемией и другими сопутствующими факторами. Однако на сегодняшний день единого мнения насчет этого нет. И, более того, как следует из наших данных, существенный вклад в развитие эндотелиальной дисфункции вносит нарушение обмена серосодержащих аминокислот, которое возникает как вследствие дефицита фолиевой кислоты, так и нарушения пуринового обмена, взаимосвязь между которыми была нами доказана в ходе выполнения нагрузки метионином. Кроме того, в группе пациентов с ДЭ выявлена отрицательная корреляция между уровнем холестерина и ЭЗВД ( $R = -0,40$ ;  $p = 0,0014$ ). В группе пациентов без ДЭ такой корреляции не было выявлено. Таким образом, в развитии дисфункции эндотелия у пациентов с подагрой участвует комплекс неблагоприятных факторов, а не только уровень мочевой кислоты.

Если проанализировать концентрации таурина и цистеина в группе здоровых лиц и группах пациентов с дисфункцией и без дисфункции эндотелия, то видно, что концентрация таурина прогрессивно снижается, а цистеина – повышается с максимальным значением в группе с ДЭ. Поскольку таурин синтезируется из цистеина, то повышение уровня цистеина у пациентов, при одновременном снижении концентрации таурина, свидетельствует об уменьшении синтеза таурина, что, возможно, связано с нарушением активности ферментов цистеиндиоксигеназы и декарбоксилазы цистеинсульфиновой кислоты.

В группе пациентов с дисфункцией эндотелия была выявлена отрицательная корреляция между ЭЗВД и уровнем аденозина ( $R = -0,32$ ;  $p = 0,03$ ), что может указывать на то, что хроническое воздействие высоких концентраций аденозина может вызывать эндотелиальную дисфункцию [4, 7].

При более детальном рассмотрении показателей в зависимости от степени эндотелиальной дисфункции видно, что самый высокий уровень гипергомоцистеинемии (18,84 (16,8-20,5) мкмоль/л) наблюдается в группе с резко выраженной дисфункцией эндотелия. Из данных, представленных в табл. 5.7 и 5.8, видно, что с увеличением уровня гомоцистеина

происходит прогрессирующее ухудшение показателей эндотелийзависимой вазодилатации. В группе с резко выраженной ДЭ концентрация гомоцистеина более чем в полтора раза превышает уровень гомоцистеина в группе пациентов без ДЭ и более чем в 2,5 раза уровень гомоцистеина контрольной группы. Параллельно нарастанию уровня гомоцистеина на блюдается увеличение концентрации цистеина с его максимальным значением в группе пациентов с резко выраженной ДЭ.

Таблица 5.7 – Концентрации серосодержащих аминокислот у пациентов с подагрой с различной степенью дисфункции эндотелия (медиана (нижний квартиль – верхний квартиль)) и без нее

Аминокислоты	Контрольная группа (n=37)	Пациенты с подагрой без ДЭ (n=33)	Пациенты с подагрой с умеренной ДЭ (n=38)	Пациенты с подагрой с выраженной ДЭ (n=17)	Пациенты с подагрой с резко выраженной ДЭ (n=11)
Гомоцистеин, мкмоль/л	7,18 (6,127-8,25)	11,2 (8,9-13,7)***	12,95 (9,96-13,8)***+	15,15 (11,3 – 16,7)***++ ...	18,84 (16,8-20,5)***+++ ...●
Цистеин, мкмоль/л	139,4 (80,704-178,59)	247,80 (187,47-291,2)***	254,02 (151,47-309,3)	267,07 (210,7-319,6)****+	287,0 (208,18-357,01)***+++ ...●●
Цистеинил глицин, мкмоль/л	34,49 (27,854-45,94)	38,1 (33,1-52,86)	44,50 (33,51-51,9)*	38,35 (37,8-43,8)	44,71 (38,06-54,08)*
Глутатион, мкмоль/л	3,39 (2,16-4,71)	3,3 (1,9-4,4)	2,96 (1,89-4,26)	3,46 (2,2 – 6,21)	2,27 (2,12-3,45)
Таурин, мкмоль/л	142,63 (123,59-180,68)	110,81 (86,8-132,97)*	102,19 (77,18-117,06)**	104,05 (96,9-117,26)**	100,7(89,4-114,6)**
Метионин, мкмоль/л	21.13 (18.66-22.80)	20,4 (8,69-24,3)	21,41 (18,15-23,86)	22,87 (16,2-27,7)	22,87 (16,2-27,7)
Цистатионин, мкмоль/л	7.31 (5.73-11.18)	7.78 (6,7-17,23)	6,87 (5,57-8,58)	6,01 (4,06-6,96)	6,3 (4,36-7,2)

Примечания:

1. \*P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001 – по отношению к контрольной группе;
2. + P<0,05; ++P<0,01; +++P<0,001 – по отношению к группе без ДЭ;
3. ▀P<0,05; ▄ P<0,01; ▄▄ P<0,001 – по отношению к группе с умеренной ДЭ;
4. ●P<0,05; ●● P<0,01; ●●● P<0,001 - по отношению к группе с выраженной ДЭ.

Таблица 5.8 – Показатели состояния функции эндотелия плечевой артерии, скорость распространения пульсовой волны и концентрация фолатов в плазме крови у пациентов с подагрой с различной степенью дисфункции эндотелия (медиана (нижний квартиль – верхний квартиль)) и без нее

Показатели	Контрольная группа	Пациенты с подагрой без ДЭ (n=33)	Пациенты с подагрой с умеренной ДЭ (n=38)	Пациенты с подагрой с выраженной ДЭ (n=17)	Пациенты с подагрой с резко выраженной ДЭ (n=11)
Фолаты, мкмоль/л	12,0 (10-14,5)	7,30 (6,20-9,4) ***	6,2 (5,8-7,0) ***+	5,2 (4,2-6,0) ***+ + + .	5,3 (4,6-6,2) ***+ + + .
Общий холестерин ммоль/л	4,75 (4,4-5,64)	5,2 (4,8-6,1)	5,27 (4,8-5,7)	5,4 (4,8-5,8)	6,4 (6,0-6,7) **+ .●
ЭЗВД, %	36,25 (23,85-49,15)	29,4 (25,0-39,8) ***	6,25 (2,9-9,7) ***+ + +	-9,3 (-12,2– -6,0) ***+ + + ..	-19,0 (-21,2– -16,5) ***+ + + ...●●
ЭНВД, %	45,4 (31,5-52,1)	44,2 (29,7-52,4)	40,1 (24,6-49,4)	39,3 (22,7-42,2)	38,9 (27,9-40,1)
СРПВ, м/с	9,7(6,8-10,1)	10,1(7,2-11,7)	11,2 (9,3-13,2) *+.	12,0 (9,2-13,4) **+ .	14,7 (10,8-16,7) ***+ + + ...●●

Примечания:

1. \*P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001 – по отношению к контрольной группе;
2. + P<0,05; ++P<0,01; +++P<0,001 – по отношению к группе без ДЭ;
3. .P<0,05; .. P<0,01; ... P<0,001 – по отношению к группе с умеренной ДЭ;
4. ●P<0,05; ●● P<0,01; ●●● P<0,001- по отношению к группе с выраженной ДЭ.

Необходимо отметить, что с возникновением эндотелиальной дисфункции наблюдается увеличение скорости распространения пульсовой волны, которое характеризует жесткость сосудистой стенки. Если в группе пациентов СРПВ была в пределах нормы, то с ухудшением параметров ЭЗВД она нарастает, что свидетельствует об увеличении жесткости сосудистой стенки.

#### **5.2.4 Показатели метаболизма серосодержащих аминокислот, вазомоторной функции эндотелия плечевой артерии, скорости распространения пульсовой волны и уровень фолатов у пациентов с подагрой в сочетании с ишемической болезнью сердца и артериальной гипертензией**

Ранее мы проводили анализ показателей у пациентов с подагрой без кардиоваскулярной патологии. С целью выяснения негативных факторов, которые доминируют у пациентов с подагрой в сочетании с ИБС, мы провели обследование данной группы пациентов. В исследование было включено 30 пациентов с подагрой в сочетании с ИБС: ССН ФК 2 и артериальной гипертензией 2-й степени, риск 4. Диагноз верифицировался с помощью холтеровского мониторирования или нагрузочной велоэргометрии (ВЭМ).

В таблице 5.9 отражены показатели обмена серосодержащих аминокислот у пациентов с подагрой в сочетании с ИБС. Как видно из представленных данных, концентрации гомоцистеина и цистеина в группе с ИБС более чем в два раза превышают концентрации данных аминокислот в контрольной группе и достоверно выше, чем в группе без ИБС. Концентрация таурина по сравнению с контрольной группой снижена и почти такая же, как и в группе без ИБС.

Из данных, представленных в табл. 5.10, видно, что у пациентов с подагрой в сочетании с ИБС отмечается более выраженное нарушение ЭЗВД плечевой артерии в сравнении с группой пациентов без КВП, при отсутствии достоверных различий между этими двумя группами по показателям СРПВ, ЭНВД, уровней фолатов и холестерина. Вместе с тем, в сравнении с контрольной группой имеется ухудшение показателей СРПВ и сниженное содержание фолатов в плазме крови в группе пациентов с подагрой с ИБС. СРПВ характеризует жесткость артериальной стенки, ее повышение свидетельствует о процессах склерозирования стенки сосуда. Показатели ЭЗВД положительно коррелировали с уровнем фолатов ( $R=0,37$ ;  $p=0,003$ ) и обратно с уровнем гомоцистеина ( $R= -0,33$ ;  $p=0,021$ ) и мочевой кислоты ( $R= -0,19$ ;  $p=0,03$ ) [9].

Таблица 5.9 – Концентрации серосодержащих аминокислот у пациентов с подагрой в сочетании с ИБС и АГ (Медиана (нижний квартиль-верхний квартиль))

Показатель	Контрольная группа (n=37)	Пациенты с подагрой без КВП (n=99)	Пациенты с подагрой с ИБС (n=30)
Гомоцистеин, мкмоль/л	7,18 (6,127-8,25)	12,15 (9,25-16,06)***	15,66 (10,70-18,72)+*
Цистеин, мкмоль/л	139,3 (80,7-178,5)	255,57 (176,9-322,8)***	297,73 (237,2-352,9)**+
Цистеинил глицин,	34,49 (27,85-45,9)	39,40 (34,48-51,89)*	40,57 (36,14-44,50)
Глутатион, мкмоль/л	3,39 (2,16-4,71)	3,12 (1,88-4,50)	3,23 (1,45-4,60)
Таурин, мкмоль/л	142,6 (123,6-180,7)	110,81 (86,8-132,97)*	107,61 (93,6-141,38)*
Метионин, мкмоль/л	21.13 (18.6 – 22.8)	21.33 (17,58-24,30)	16,45 (13,23-17,97)
Цистатионин, мкмоль/л	7.31 (5.73–11.18)	6.76 (5,33-7,78)	5,36 (2,97-7,6)*

Примечания:

1. \* –  $P < 0,05$  по отношению к контрольной группе;
2. + –  $P < 0,05$  по отношению к группе без ИБС.

Как видно из значений коэффициентов корреляций, уровни гомоцистеина и фолиевой кислоты оказывают более существенное влияние на функцию эндотелия, чем концентрация мочевой кислоты. Также выявлена значимая обратная корреляция ЭЗВД с концентрацией аденозина ( $R=-0,41$ ;  $p=0,0017$ ) [9].

Таблица 5.10 – Показатели состояния функции эндотелия плечевой артерии, скорость распространения пульсовой волны и концентрация фолатов в плазме крови у больных подагрой с ИБС и АГ (медиана (нижний квартиль – верхний квартиль))

Показатель	Контрольная группа	Пациенты с подагрой без КВП (n=99)	Пациенты с подагрой с ИБС (n=30)
СРПВ, м/с	9,7 (6,8-10,1)	11,2 (9,2-13)	13,4 (12,8-14,2)*+
ЭЗВД %	36,25 (23,9 – 49,2)	8,50 (-5,90 – 25,00)***	-7,2 (-16- -0,5)**+
ЭНЗВД, %	45,4 (31,5 – 52,1)	42,2 (21,7 – 50,6)	36 (27,9-39,7)
Фолаты, мкмоль/л	12,0 (10 – 14,5)	5,90 (5,30 – 6,60)***	5,1 (4,6-6,3)*
Общ. холестерин, ммоль/л	4,75 (4,4-5,64)	5,5 (4,8-6,1)	5,3 (4,6-6,8)

Примечания:

1. \* –  $P < 0,05$  по отношению к контрольной группе;
2. + –  $P < 0,05$  по отношению к группе без КВП.

Таким образом, у пациентов с подагрой в сочетании с ИБС и АГ отмечаются более высокие показатели гомоцистеина, цистеина и более выраженное нарушение ЭЗВД плечевой артерии и СРПВ на фоне гипофолатемии

### **5.3 Роль нагрузочного теста с метионином. Динамика изменения концентраций серосодержащих аминокислот у практически здоровых лиц и пациентов с подагрой без кардиоваскулярной патологии после нагрузочного теста с метионином**

Увеличение уровня гомоцистеина вследствие нагрузки метионином позволяет выявлять индивидуумов с повышенным риском сосудистых заболеваний [18]. Известно, что нагрузочный тест с метионином (НТМ) позволяет диагностировать нарушение реутилизации гомоцистеина, которое не выявляется стандартными методами клинического исследования. Это особенно важно, учитывая возможность алиментарной регуляции уровня гомоцистеина у лиц, имеющих обычно нормальные значения концентрации гомоцистеина плазмы

крови, и у которых нагрузка метионином позволяет выявить нарушение процессов его утилизации (так называемая постнагрузочная гипергомоцистеинемия).

Нагрузка метионином вызывает значительное повышение концентрации S-аденозилметионина [34], который снижает реметилирование гомоцистеина путем ингибирования метилентетрагидрофолатредуктазы и бетаин-гомоцистеин метилтрансферазы [20]. При низкой клеточной концентрации SAM снижается активность цистатионин-β-синтазы и, следовательно, снижается активность реакций *транс*-сульфурирования. И, наоборот, при высокой клеточной концентрации SAM происходит ингибирование синтеза 5-метилтетрагидрофолата и активация синтеза цистатионина и далее цистеина. Таким образом, нагрузка метионином может выявить дефект пути *транс*-сульфурирования гомоцистеина.

На важность данной диагностической процедуры указывает то, что в одном исследовании из 429 обследованных человек у 15% была выявлена гипергомоцистеинемия натощак и еще у 18% после НТМ. Таким образом, в 55% из всех случаев гипергомоцистеинемии она была диагностирована только после НТМ [38]. В исследовании The NHLBI Family Heart Study было обследовано 274 человека и в 43% случаев гипергомоцистеинемия выявлена после нагрузки метионином [11]. Важность НТМ подтверждается также в данных, полученных в исследовании COMAC (European Concerted Action Project) [22]. Изучение уровня гомоцистеина после нагрузки метионином в группе людей с ранним атеросклерозом выявило гипергомоцистеинемия у 42% с цереброваскулярной болезнью, у 28% с облитерирующим эндартериитом, у 30% больных ИБС. Риск ИБС был в 24 раза выше, чем в группе контроля [15].

Для выявления скрытого нарушения обмена серосодержащих аминокислот и изучения особенностей их метаболизма у больных подагрой были проведены нагрузочные тесты с метионином у 40 пациентов с подагрой и у 20 практически здоровых лиц. Для выяснения механизмов нарушения серосодержащих аминокислот у больных подагрой и выявления взаимосвязи пуринового метаболизма и метаболизма серосо-

державших аминокислот нами был выполнен нагрузочный тест с метионином, который позволяет диагностировать нарушение катаболизма гомоцистеина, не выявляемое стандартными методами клинического исследования. Также эта проба была выполнена для выявления взаимосвязи пуринового метаболизма и метаболизма серосодержащих аминокислот. Данные о содержании аминокислот представлены в таблицах 5.11 и 5.12.

Таблица 5.11 – Концентрация серосодержащих аминокислот до нагрузки метионином у здоровых лиц и пациентов с подагрой без КВП (Медиана (нижний квартиль-верхний квартиль))

Показатели	До пробы с метионином	
	Практически здоровые лица (n=20)	Пациенты с подагрой без КВП (n=40)
Цистеин, мкмоль/л	243,0 (200,1-304,4)	300,9 (281,4-316,3)
Гомоцистеин, мкмоль/л	9,4 (7,6-11,6)	12,4 (9,8-15,5)*
Цистеинил-глицин, мкмоль/л	30,7 (29,9-40,7)	41,2 (33,4-43,2)
Глутатион, мкмоль/л	4,5 (3,3-4,9)	5,9 (3,3-7,9)
Таурин, мкмоль/л	145,6 (90,3-167,6)	114,4 (169,1-240,6)*
Метионин, мкмоль/л	27,8 (24,5-37,2)	22,1(21,2-27,4)
Цистатионин, мкмоль/л	9,1(7,1-12,6)	8,5 (5,9-11,4)

Примечание – \* P<0,05 – по отношению к контрольной группе.

Таблица 5.12 – Концентрация серосодержащих аминокислот после нагрузки метионином у здоровых лиц и пациентов с подагрой без КВП (Медиана (нижний квартиль-верхний квартиль) мкмоль/л))

Показатели	После пробы с метионином	
	Практически здоровые лица (n=20)	Пациенты с подагрой (n=40)
Цистеин, мкмоль/л	182,8 (155,1-213,3)+	291,2 (252,4-308,0)*
Гомоцистеин, мкмоль/л	14,6 (9,9-16,0)+	18,2 (14,7-21,0)*+
Цистеинил-глицин, мкмоль/л	23,8 (22,4-28,4)+	32,9(28,9-37,3)+
Глутатион, мкмоль/л	4,3 (2,9-6,2)	7,3 (4,5-10,8)
Таурин, мкмоль/л	69,9 (55,9-85,2)+	127,7 (187,6-245,8)*
Метионин, мкмоль/л	188,8 (159,4-215,6)+	222,6 (194,4-243,9)*+
Цистатионин, мкмоль/л	9,4 (5,7-11,7)	8,7 (7,0-11,7)

Примечание – \* P<0,05 – по отношению к контрольной группе; + – P<0,05 – по отношению к соответствующей группе до нагрузки

Как видно из представленных таблиц, исходно, до проведения нагрузочной пробы отмечался повышенный уровень гомоцистеина у больных подагрой (12,4 (9,8-15,5) мкмоль/л) в сравнении с контрольной группой (9,4 (7,6-11,6) мкмоль/л) ( $p < 0,05$ ). До проведения НТМ уровень гомоцистеина у 35,7% больных подагрой не превышал донагрузочный уровень гомоцистеина контрольной группы (9,4 мкмоль/л). После проведения нагрузочного теста уровень гомоцистеина был выше у всех больных подагрой по сравнению с постнагрузочным уровнем гомоцистеина контрольной группы, что может свидетельствовать о скрытом нарушении катаболизма гомоцистеина, которое выявляется только после нагрузочного теста [5, 6].

Концентрация таурина плазмы крови у больных подагрой после НТМ более чем в два раза превышала показатели в контрольной группе. Если в контрольной группе после НТМ наблюдалось снижение концентрации таурина на 43%, то у пациентов с подагрой концентрация таурина достоверно не изменилась, что может свидетельствовать о нарушении синтеза таурина из цистеина.

Также после нагрузки было выявлено различие по концентрации цистеинил-глицина, которая после нагрузки была достоверно выше у больных подагрой (32,9 (28,9-37,3), у больных vs 23,8 (22,4-28,4) мкмоль/л в контрольной группе).

При нагрузке метионином в контрольной группе на фоне увеличения уровня гомоцистеина наблюдается существенное снижение уровня цистеина, что согласуется с данными, полученными в другом исследовании [35]. В то же время у больных подагрой на фоне повышения концентрации гомоцистеина не наблюдалось достоверного снижения уровня цистеина [5, 6].

Таким образом, можно констатировать различие в метаболизме серосодержащих аминокислот между здоровыми и больными подагрой. У здоровых лиц реутилизация гомоцистеина идет преимущественно по пути его реметилирования, о чем свидетельствует снижение концентраций цистеина и таурина, которые образуются в ходе реакций транссульфурирования. При дефиците фолата в плазме крови нарушается

реметилизацию гомоцистеина и он преимущественно реутилизируется по пути транссульфурирования, что и происходит у пациентов с подагрой. Если бы у пациентов сохранялась активность процессов реметилизации гомоцистеина, то после нагрузки метионином концентрация цистеина и таурина должна была бы снизиться, однако этого не произошло, концентрации цистеина и таурина практически не отличались до и после нагрузки. Если нарушено реметилизирование гомоцистеина, то после нагрузки ожидалось увеличение концентрации цистеина и таурина у пациентов, однако и этого не произошло, что свидетельствует о том, что путь транссульфурирования у них работает на пределе. У здоровых лиц эта нагрузочная проба показала большой функциональный резерв по реутилизации повышенной концентрации гомоцистеина, который отсутствует у пациентов с подагрой, что связано, возможно, с дефицитом фолиевой кислоты у них. Причина гипофолатемии у пациентов с подагрой связана, скорее всего, с увеличенным синтезом пуринов *de novo*, так как в структуру пуриновых оснований входят атомы углерода от 10-формил тетрагидрофолиевой кислоты. И вследствие усиления синтеза пуринов идет повышенный расход фолиевой кислоты, что, в свою очередь, приводит к нарушению обмена серосодержащих аминокислот. Таким образом, нарушение пуринового обмена у пациентов с подагрой приводит к нарушению обмена серосодержащих аминокислот.

#### **5.4 Эффективность комбинированного применения функционально-связанных витаминов, аллопуринола и лозартана для коррекции дисфункции эндотелия и обмена серосодержащих аминокислот у пациентов с подагрой без кардиоваскулярной патологии и в сочетании с ИБС и АГ**

В данном разделе приведены результаты собственных исследований эффективности коррекции эндотелиальной дисфункции путем применения монотерапии аллопуринолом, комплексной терапии с включением в схему лечения функционально связанных витаминов – В6 и фолиевой кислоты у следующих групп пациентов: пациентов с подагрой без КВП, пациентов с подагрой в сочетании с ИБС и АГ.

В соответствии с задачами исследования изучена эффективность патогенетической терапии аллопуринолом, а также с дополнением функционально связанных витаминов (фолиевой кислоты и пиридоксина) у следующих групп пациентов: больных с подагрой без кардиоваскулярной патологии и с подагрой в сочетании с ИБС и АГ. Согласно протоколу исследования, первая группа пациентов с подагрой без КВП получала аллопуринол 300 мг в сутки, вторая группа с подагрой без КВП получала комбинированное лечение: аллопуринол 300 мг, фолиевую кислоту 0,3 мг, вит. В<sub>6</sub> – 5 мг в сутки. Группа пациентов с подагрой в сочетании с ИБС и АГ получала аллопуринол 300 мг в сутки, фолиевую кислоту 0,5 мг, вит. В<sub>6</sub> – 5 мг, лозартан 100 мг, метопролол 100 мг в сутки. По требованию пациенты с ИБС принимали нитраты. Необходимость включения лозартана вызвана тем, что у пациентов с подагрой в сочетании с ИБС имелась и артериальная гипертензия. Кроме того, лозартан является единственным антигипертензивным препаратом, который обладает урикозурическим эффектом. В исследование были включены пациенты с ИБС: стабильная стенокардия напряжения, ФК II и артериальной гипертензией не выше 2-й степени. Лечение проводилось в течение 30 дней, после чего проводилось повторное определение функциональных и биохимических показателей.

#### **5.4.1 Влияние терапии аллопуринолом на функцию эндотелия и обмен серосодержащих аминокислот у пациентов с подагрой без кардиоваскулярной патологии**

Из данных, представленных в таблице 5.13, видно, что на фоне терапии аллопуринолом не наблюдалось положительных сдвигов в метаболизме серосодержащих аминокислот. Достоверного уменьшения концентрации гомоцистеина, цистеина и других аминокислот не наблюдалось.

Однако после лечения аллопуринолом наблюдалось улучшение эндотелийзависимого ответа, который не достиг показателей контрольной группы и составил 55% от значения последнего (таблица 5.14).

Таблица 5.13 – Концентрации серосодержащих аминокислот у пациентов с подагрой без КВП после лечения аллопуринолом (Медиана (нижний квартиль-верхний квартиль) мкмоль/л))

Аминокислоты	Практически здоровые лица (n=40)	Пациенты подагрой до лечения (n=50)	Пациенты с подагрой после лечения (n=50)
Гомоцистеин, мкмоль/л	7,18 (6,127-8,25)	12,88 (10,20-14,7)***	12,35 (9,78-14,6)**
Цистеин, мкмоль/л	139,3 (80,7-178,5)	259,3 (174,9-325,6)**	237,4 (158,5-317,6)**
Цистеинил-глицин, мкмоль/л	34,49 (27,85-45,9)	39,17 (33,35-51,4)*	43,56 (30,25-54,3)*
Глутатион, мкмоль/л	3,39 (2,16-4,71)	2,93 (1,88-3,9)	2,78 (2,25-4,1)
Таурин, мкмоль/л	142,6 (123,6-180,7)	103,4 (85,4-117,2)*	102,5 (82,5-161,1)*
Метионин, мкмоль/л	21,13 (18,6 – 22,8)	21,68 (17,48-25,6)	20,18 (18,42-22,37)
Цистатионин, мкмоль/л	7,31 (5,73–11,18)	6,96 (5,33-7,4)	8,16 (5,17-9,77)

Примечание – \* P<0,05 \*\* P<0,01 \*\*\* P<0,001- по отношению к контрольной группе; + P < 0,05 ++ P<0,01 +++ P<0,001 по отношению к группе до лечения.

Таблица 5.14 – Показатели состояния функции эндотелия плечевой артерии, скорости распространения пульсовой волны и концентрация фолатов в плазме крови у больных подагрой без КВП после лечения аллопуринолом (медиана (нижний квартиль – верхний квартиль))

Показатель	Практически здоровые лица (n=40)	Пациенты с подагрой до лечения (n=50)	Пациенты с подагрой после лечения (n=50)
СРПВ, м/с	9,7 (7,9-10,2)	10,55 (9,05-12,6)	10,1 (8,9-11,3)
ЭЗВД, %	36,25 (23,9 – 49,2)	7,75 (-3,40-20,4)***	20,10 (14,0-32,2)***+
ЭНЗВД, %	45,4 (31,5 – 52,1)	43,4 (32,7-49,8)	46,3 (33,1-52,5)
Фолаты, мкмоль/л	12,0 (10 – 14,5)	6,0 (4,8-6,6)**	5,95 (5,4-6,65)**
Общ. холестерин, ммоль/л	4,75 (4,4-5,64)	5,45 (5,0-6,1)	5,44 (5,05-6,15)

Примечание – \* P<0,05 \*\* P<0,01 \*\*\* P<0,001 – по отношению к контрольной группе; + P < 0,05 ++ P<0,01 +++ P<0,001 по отношению к группе до лечения.

Улучшение показателей ЭЗВД после лечения аллопуринолом связано с его способностью блокировать фермент ксантиноксидазу, при участии которой генерируются кислородные радикалы. Не отмечено изменений в СРПВ после проведенного лечения аллопуринолом. Значения ЭЗВД и общего холестерина у больных не отличались от параметров практически здоровых лиц ни до, ни после лечения (таблица 5.14). После лечения аллопуринолом не наблюдалось увеличения уровня фолиевой кислоты, также не отмечено и положительных сдвигов в метаболизме серосодержащих аминокислот, так как фолиевая кислота играет важную роль в реутилизации гомоцистеина [4].

#### **5.4.2 Влияние комплексной терапии аллопуринолом и функционально связанными витаминами на параметры вазомоторной функции эндотелия плечевой артерии функцию эндотелия и аминокислотный обмен у пациентов с подагрой без кардиоваскулярной патологии**

Из данных, представленных в таблице 5.15, видно, что на фоне увеличения уровня фолиевой кислоты наблюдается улучшение обмена серосодержащих аминокислот, что проявляется в снижении концентрации гомоцистеина, цистеина и цистеинилглицина, и более выраженное улучшение эндотелийзависимой вазодилатации (таблица 5.16) в сравнении с показателями первой группы [4].

Однако, несмотря на комплексную терапию в течение 30 дней, показатели ЭЗВД и концентрация гомоцистеина во второй группе не достигли значений практически здоровых лиц, что свидетельствует о необходимости более длительного назначения данной комбинации препаратов.

Таблица 5.15 – Концентрации серосодержащих аминокислот у пациентов с подагрой без КВП до и после лечения комплексной терапией (Медиана (нижний квартиль-верхний квартиль) мкмоль/л))

Параметры Группы	Практически здоровые лица (n=40)	Пациенты с подагрой без КВП (1 группа) (n=50)		Пациенты с подагрой без КВП (2 группа) (n=49)	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Гомоцистеин, мкмоль/л	7,18 (6,127- 8,25)	12,88 (10,20- 14,7)*	12,35 (9,78- 14,6)*	12,8 (8,96- 16,06)*	9,03 (7,10- 11,05)+#*
Цистеин, мкмоль/л	139,3 (80,7- 178,5)	259,3 (174,9- 325,6)*	237,4 (158,5- 317,6)*	249,3 (193,03- 39,3)*	149,2 (100,5- 208,2)+#
Цистеинил глицин, мкмоль/л	34,49 (27,85- 45,9)	39,17 (33,35- 51,4)*	43,56 (30,25- 54,3)*	43,33 (36,14- 49,20)*	35,48 (24,54- 44,65)+#
Глутатион, мкмоль/л	3,39 (2,16- 4,71)	2,93 (1,88-3,9)	2,78 (2,25-4,1)	4,09 (2,13-4,7)	3,19 (2,34-4,68)
Таурин, мкмоль/л	142,6 (123,6- 180,7)	103,4(85,4- 117,2)*	102,5 (82,5- 161,1)*	117,7 (89,46- 141,38)*	123,2 (75,26- 169,92)#*
Метионин, мкмоль/л	21.13 (18.6 – 22.8)	21,68 (17,48- 25,6)	20,18 (18,42- 22,37)	21,40 (17,59- 24,07)	21,87 (17,61- 24,83)
Цистатионин, мкмоль/л	7.31 (5.73– 11.18)	6,96 (5,33-7,4)	8,16 (5,17- 9,77)	6,70 (5,34-7,78)	7,46 (6,26-11,93)

Примечание – \* – P < 0,05 по отношению к контрольной группе; + – P < 0,05 по отношению к соответствующей группе до лечения; # – P < 0,05 по отношению к группе 1 после лечения.

Таблица 5.16 – Показатели состояния функции эндотелия и концентрация фолатов в плазме крови у больных подагрой до и после лечения комплексной терапией (медиана (нижний квартиль – верхний квартиль))

Параметры Группы	Практически здоровые лица (n=40)	Пациенты с подагрой без КВП (1 группа) (n=50)		Пациенты с подагрой без КВП (2 группа) (n=49)	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
СРПВ, м/с	9,7 (7,9-10,2)	10,55 (9,05-12,6)	10,1 (8,9-11,3)	12,15 (9,85-13,3)	11,9 (9,7-13,5)
ЭЗВД, %	36,25 (23,9-49,2)	7,75 (-3,40-20,4)*	20,10 (14,0-32,2)+*	8,8 (-6-25,7)*	27,06 (18,6-33,4)+#*
ЭНЗВД, %	45,4 (31,5-52,1)	43,4 (32,7-49,8)	46,3 (33,1-52,5)	41,2 (30,4-50,7)	43,4 (31,1-52)
Фолаты, мкмоль/л	12,0 (10-14,5)	6,0 (4,8-6,6)*	5,95 (5,4-6,65)*	6,35 (5,8-6,6)*	11,2 (7,4-12,3)+#
Общ. холестерин, ммоль/л	4,75 (4,4-5,64)	5,45 (5,0-6,1)	5,44 (5,05-6,15)	5,4 (4,8-5,9)	5,3 (4,5-5,7)

Примечание – \* –  $P < 0,05$  по отношению к контрольной группе; + –  $P < 0,05$  по отношению к соответствующей группе до лечения; # –  $P < 0,05$  по отношению к группе 1 после лечения.

#### 5.4.3 Влияние комплексной терапии аллопуринолом, функционально связанными витаминами и лозартаном на показатели метаболизма серосодержащих аминокислот, уровень фолатов, функциональное состояние эндотелия плечевой артерии и скорость распространения пульсовой волны у пациентов с подагрой в сочетании с ИБС и АГ

При анализе изменений, представленных в таблице 5.17 в концентрациях серосодержащих аминокислот после проведенного лечения видно, что различия в концентрациях гомоцистеина и цистеина сохранились. Они были выше, чем в контрольной и второй группе и ниже, чем в первой группе больных, которые принимали аллопуринол. Хотя после лечения уровень гомоцистеина и не достиг значений контрольной

и второй групп, однако в группе больных подагрой с ИБС и АГ наблюдалось более выраженное снижение его уровня – на 31%, в то время как во второй группе снизился на 26% и практически не изменился в первой группе. Это свидетельствует о более успешном корригирующем действии сочетанной терапии с учетом влияния на максимально возможное число патологических звеньев.

Таблица 5.17 – Концентрации серосодержащих аминокислот у больных подагрой в сочетании с ИБС и АГ (Медиана (нижний квартиль-верхний квартиль) мкмоль/л)) и без ИБС и АГ после лечения

Параметры Группы	Практически здоровые лица (n=40)	Пациенты с подагрой без КВП (1 группа) (n=50)		Пациенты с подагрой без КВП (2 группа) (n=49)		Пациенты с подагрой с ИБС и АГ (n=30)	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Гомоцистеин, мкмоль/л	7,18 (6,127-8,25)	12,88 (10,20-14,7)*	12,35 (9,78-14,6)*	12,8 (8,96-16,06)*	9,03 (7,10-11,05) <sup>++</sup>	15,66 (10,70-18,72)*	10,8 (8,6-13,5) <sup>++</sup>
Цистеин, мкмоль/л	139,3 (80,7-178,5)	259,3 (174,9-325,6)*	237,4 (158,5-317,6)*	249,3 (193,03-39,3)*	149,2 (100,5-208,2) <sup>++</sup>	297,73 (237,2-352,9)*	176,5 (143,7-220,1) <sup>++</sup>
Цистеинил глицин, мкмоль/л	34,49 (27,85-45,9)	39,17 (33,35-51,4)*	43,56 (30,25-54,3)*	43,33 (36,14-49,20)*	35,48 (24,54-44,65) <sup>++</sup>	40,57 (36,14-44,50)	39,4 (26,2-54,2)
Глутатион, мкмоль/л	3,39 (2,16-4,71)	2,93 (1,88-3,9)	2,78 (2,25-4,1)	4,09 (2,13-4,7)	3,19 (2,34-4,68)	3,23 (1,45-4,60)	4,1 (2,7-6,2)
Таурин, мкмоль/л	142,6 (123,6-180,7)	103,4 (85,4-117,2)*	102,49 (82,5-161,1)*	117,71 (89,46-141,38)*	123,26 (75,26-169,92)	107,61 (93,6-141,38)*	130,6 (110,5-154,7) <sup>++</sup>
Метионин, мкмоль/л	21,13 (18,6 – 22,8)	21,68 (17,48-25,6)	20,18 (18,42-22,37)	21,40 (17,59-24,07)	21,87 (17,61-24,83)	16,45 (13,23-17,97)*	19,2 (16,6 - 23,5)
Цистатионин, мкмоль/л	7,31 (5,73-11,18)	6,96 (5,33-7,4)	8,16 (5,17-9,77)	6,70 (5,34-7,78)	7,46 (6,26-11,93)	5,36 (2,97-7,6)	7,2 (5,9-10,7)

Примечание – \* – P < 0,05 по отношению к контрольной группе; + – P < 0,05 по отношению к соответствующей группе до лечения; # – P < 0,05 по отношению к группе 1 после лечения.

Как видно из данных, представленных в таблице 5.18, на фоне фармакотерапии наблюдалось более выраженное улучшение ЭЗВД в группе пациентов с подагрой в сочетании с ИБС и АГ – на 18,6%, в то время как прирост в первой группе составил 12,35%, а во второй 18,2 [9].

Таблица 5.18 – Показатели состояния функции эндотелия и концентрация фолатов в плазме крови у больных подагрой с ИБС (медиана (нижний квартиль – верхний квартиль)) после лечения

Параметры Группы	Практически здоровые лица (n=40)	Пациенты с подагрой без КВП (1 группа) (n=50)		Пациенты с подагрой без КВП (2 группа) (n=49)		Пациенты с подагрой с ИБС и АГ (n=30)	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
СРПВ, м/с	9,7 (7,9-10,2)	10,55 (9,05-12,6)	10,1 (8,9-11,3)	12,15 (9,85-13,3)	11,9 (9,7-13,5)	13 (12,8-13,2)*	10,3 (10,2-14,7) <sup>+</sup>
ЭЗВД, %	36,25 (23,9-49,2)	7,75 (-3,40-20,4)*	20,10 (14,0-32,2) <sup>+</sup> *	8,8 (-6-25,7)*	27,06 (18,6-33,4) <sup>++</sup> *	-7,2 (-16-0,5)*	11,4 (-4,3-13,9) <sup>++</sup> #
ЭНЗВД, %	45,4 (31,5-52,1)	43,4 (32,7-49,8)	46,3 (33,1-52,5)	41,2 (30,4-50,7)	43,4 (31,1-52)	36 (27,9-39,7)	38,7 (29,8-47,3)
Фолаты, мкмоль/л	12,0 (10-14,5)	6,0 (4,8-6,6)*	5,95 (5,4-6,65)*	6,35 (5,8-6,6)*	11,2 (7,4-12,3) <sup>+#</sup>	5,1 (4,6-6,3)*	10,6 (6,8-12,4) <sup>++</sup> #
Общ. холестерин, ммоль/л	4,75 (4,4-5,64)	5,45 (5,0-6,1)	5,44 (5,05-6,15)	5,4 (4,8-5,9)	5,3 (4,5-5,7)	5,3 (4,6-6,8)	5,5 (4,3-5,8)

Примечание: \* – P < 0,05 по отношению к контрольной группе; + – P < 0,05 по отношению к соответствующей группе до лечения; # – P < 0,05 по отношению к группе 1 после лечения.

Кроме того, на фоне комплексной терапии у 22 пациентов с подагрой в сочетании с ИБС и АГ удалось достичь целевого уровня АД. В целом на фоне лечения в группе пациентов с ИБС и АГ наблюдалась динамика к снижению артериального давления – 165/95 (145-176/90-97) мм рт. ст. до лечения и 140/85 (125-150/80-85) мм рт. ст. после лечения [9].

## 5.5 Заключение

1. У пациентов с подагрой без кардиоваскулярной патологии отмечено нарушение метаболизма серосодержащих аминокислот, которое в сравнении с контрольной группой характеризуется увеличением концентраций гомоцистеина (на 41%,  $p < 0,05$ ), цистеина (на 45,71%,  $p < 0,05$ ), цистеинилглицина ( $p < 0,05$ ), снижением уровня таурина (на 22,6%,  $p < 0,05$ ) и фолатов в плазме крови (на 50,84%,  $p < 0,05$ ).

У пациентов с подагрой в сочетании с ИБС стенокардией напряжения ФК II и АГ II ст., риск 4, по сравнению с пациентами без кардиоваскулярной патологии выявлено более выраженное нарушение обмена серосодержащих аминокислот, что проявляется увеличением уровней гомоцистеина (на 28,9%,  $p < 0,05$ ), цистеина (на 16,4%,  $p < 0,05$ ) и снижением фолатов в плазме крови.

2. У пациентов с подагрой без кардиоваскулярной патологии при нормальных показателях эндотелийнезависимой вазодилатации и скорости распространения пульсовой волны выявлено нарушение эндотелийзависимой вазодилатации плечевой артерии. У пациентов с подагрой в сочетании с ИБС стенокардией напряжения ФК II и АГ II ст., риск 4, определено более выраженное нарушение ЭЗВД плечевой артерии (на 15,7% ниже в сравнении с группой без кардиоваскулярной патологии и на 43,45% в сравнении с контрольной группой,  $p < 0,05$ ), а также увеличение ее жесткости (увеличение СРПВ на 36,7% в сравнении со здоровыми). Установлено, что повышение концентрации гомоцистеина, цистеина и снижение фолатов у пациентов с подагрой сопровождается нарушением эндотелийзависимой вазодилатации плечевой артерии, что подтверждается отрицательной корреляцией между ЭЗВД и уровнем гомоцистеина ( $R = -0,49$ ;  $p = 0,00001$ ), ЭЗВД и уровнем цистеина ( $R = -0,22$ ,  $p = 0,03$ ), (наличие отрицательной корреляции между уровнем цистеина и ЭЗВД у больных подагрой нами выявлено впервые).

3. Снижение концентрации фолиевой кислоты в плазме крови у пациентов с подагрой (5,90 (5,30 – 6,60) мкмоль/л у больных в сравнении с 12,0 (10 – 14,5) мкмоль у здоровых)

является ключевым звеном в изменении обмена серосодержащих аминокислот, что сопровождается нарушением процессов реметилирования гомоцистеина и повышением его концентрации. Это подтверждается отрицательной корреляцией между уровнем фолатов и гомоцистеина ( $R = -0,404$ ;  $p = 0,00152$ ). Данная корреляция у пациентов с подагрой выявлена впервые. Положительная корреляция между фолиевой кислотой и ЭЗВД ( $R = 0,47$ ;  $p = 0,04$ ) в группе пациентов с ДЭ свидетельствует о влиянии её на функцию сосудистого эндотелия. Следовательно, гипофолатемия может являться пусковым фактором развития нарушения обмена серосодержащих аминокислот и нарушения вазомоторной функции эндотелия у пациентов с подагрой.

4. Нагрузочная проба с метионином позволяет определить различие в метаболизме серосодержащих аминокислот у практически здоровых лиц и пациентов с подагрой, что обуславливает назначение фолиевой кислоты и пиридоксина у последних. Выявлено, что у практически здоровых лиц происходит реутилизация гомоцистеина главным образом путем реметилирования. У пациентов же с подагрой преобладают процессы транссульфурирования гомоцистеина вследствие дефицита фолиевой кислоты и снижения активности реакций реметилирования. Кроме того, нагрузочная проба с метионином позволяет у пациентов с подагрой выявить скрытое нарушение реутилизации гомоцистеина, которое имеется у 35% пациентов.

5. Применение аллопуринола в суточной дозе 300 мг в течение 30 дней в группе пациентов с подагрой без кардиоваскулярной патологии не влияет на метаболизм серосодержащих аминокислот (концентрации их остались практически без существенных изменений,  $p > 0,05$ ). Комплексная терапия, включающая аллопуринол 300 мг, фолиевую кислоту – 0,3 мг, пиридоксин 5 мг в группе пациентов с подагрой без кардиоваскулярной патологии приводит к уменьшению уровня гомоцистеина (на 29,46%,  $p < 0,05$ ), цистеина (40,16%,  $p < 0,05$ ), цистенилглицина ( $p < 0,05$ ) и увеличению фолатов в плазме крови (с 6,35 до 11,2 мкмоль/л,  $p < 0,05$ ). В обеих группах пациентов отмечено улучшение ЭЗВД плечевой артерии с бо-

лее выраженным улучшением в группе пациентов на фоне комплексной терапии (на 18,2% на фоне комплексной терапии и на 12,35% на фоне аллопуринола,  $p < 0,05$ ).

6. Комплексная терапия у пациентов с подагрой в сочетании с ИБС стенокардией напряжения ФК II и АГ 2-й степени, риском 4, включающая аллопуринол 300 мг в сутки, фолаты 0,5 мг, пиридоксин 5 мг, метопролол 100 мг и лозартан 100 мг в сутки в течение 30 дней, приводит к более выраженному снижению гомоцистеина (на 31,1%,  $p < 0,05$ ), цистеина (на 40,9%,  $p < 0,05$ ), увеличению таурина ( $p < 0,05$ ), увеличению ЭЗВД плечевой артерии (на 18,6%,  $p < 0,05$ ) и уменьшения скорости распространения пульсовой волны (с 13 до 10,3 м/с,  $p < 0,05$ ).

7. У пациентов с подагрой как без кардиоваскулярной патологии, так и в сочетании с ИБС и АГ, определены возможности дифференцированного назначения монотерапии аллопуринолом, комплексной терапии, включающей аллопуринол, фолаты, пиридоксин, а также метопролол и лозартан в зависимости от нарушения метаболизма серосодержащих аминокислот, уровня фолатов в плазме крови и функционального состояния эндотелия плечевой артерии. Установлено, что у больных подагрой без кардиоваскулярной патологии эффективной схемой лечения является комбинация: аллопуринол 300 мг, фолиевая кислота – 0,3 мг и пиридоксин 5 мг. У пациентов с подагрой в сочетании с ИБС и АГ эффективной схемой лечения является назначение аллопуринола 300 мг, фолиевой кислоты 0,5 мг, пиридоксина 5 мг, метопролола 100 мг и лозартана 100 мг.

### Литература

1. Ильиных, Е. В. Факторы риска развития кардиоваскулярных заболеваний у больных подагрой: автореф. дис... канд. мед. наук: 14.00.39 / Е. В. Ильиных; Рос. мед. ун-т. – М., 2006. – 21 с.
2. Лапкина, Н.А. Маркеры активации эндотелия сосудов при подагре. / Н. А. Лапкина [и др.] // Тер. Архив – 2005. – Т.77, №5 – С. 62-65.

3. Логинова, Т. К. Эволюция представлений о подагре. Подагра и метаболический синдром. / Логинова [и др.] // Клинич. геронтол. – 2005. – №4. – С.22-25.

4. Пицко, Д. В. Коррекция дисфункции эндотелия у больных подагрой комбинацией аллопуринола и функционально связанных витаминов /Д. В. Пицко, В. М. Пырочкин// Лечебное дело. – 2010. – №4(14). – С. 35-39.

5. Пицко, Д. В. Ранняя диагностика нарушений метаболизма серосодержащих аминокислот у больных подагрой / Д.В. Пицко [и др.] // Здоровоохранение. – 2010. – №2. – С. 64-67.

6. Пицко, Д. В., Изменение концентраций серосодержащих аминокислот у больных подагрой после нагрузки метионином / Д. В. Пицко, А. В. Наумов, Е. М. Дорошенко, В. М. Пырочкин, В. М. Шейбак // Актуальные проблемы медицины: материалы конф., Гродно, 17 дек. 2009г. ГрГМУ; редкол.: В.М. Шейбак [и др.]. – Гродно, 2009. – С. 54-56.

7. Пицко, Д. В. Эндотелийзависимая вазодилатация и уровни гомоцистеина и фолиевой кислоты у больных подагрой /Д. В. Пицко, В. М. Пырочкин// Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2009. – №1. – С.62-65.

8. Полонецкий, Л.З. Исследование вазомоторной функции эндотелия плечевой артерии с использованием импедансной технологии у больных атеросклерозом. / Л.З. Полонецкий [и др.] // Медицинская панорама. – 2005. – № 7. – С. 40-43.

9. Пырочкин В.М., Снежицкий В.А., Пицко Д. В., Мирончик Е.В., Шейбак В.М. Влияние комплексной терапии на пуриновый, аминокислотный обмен и функциональное состояние эндотелия у больных ИБС в сочетании с подагрой. / В. М. Пырочкин, В. А. Снежицкий, Д. В. Пицко, Е. В. Мирончик, В. М. Шейбак // Кардиология в Беларуси. – № 4(11)спецвыпуск. – 2010. – С. 99-107.

10. Austin, R.C. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease / R.C. Austin [et al.] // Cell Death Differ. – 2004. –Vol.11. – P. 56-64.

11. Bostom, A. G. Post-methionine load hyperhomocysteinemia in persons with normal fasting total plasma homocysteine: initial results from the NHLBI Family Heart Study / A. G. Bostom [et al.] // Atherosclerosis. – 1995. – Vol.116(1) – P.147-151.

12. Busse, R. The endothelial organ / Curr. Opin. Cardiol. – 1993. – Vol. 8 – P. 719-727.

13. Cheng, T.T. Elevated serum homocysteine levels for gouty patients. / T.T. Cheng [et al.] // *Clin. Rheumatol.* – 2005. – Vol. 24(2). – P. 103-106.

14. Choi, H. K. Independent Impact of Gout on Mortality and Risk for Coronary Heart Disease. / H.K. Choi, G. Curhan // *Circulation.* – 2007. – Vol. 116. – P. 894-900.

15. Clarke, R. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. / R. Clarke [et al.] // *N Engl J Med* – 1991. – Vol.324 – P.1149-1155.

16. Coull, B.M. Elevated plasma homocyst(e)ine concentration as a possible independent risk factor for stroke. / B.M. Coull [et al.] // *Stroke* – 1990. – Vol. 21. – P. 572-576.

17. Culleton, B.F. Serum Uric Acid and Risk for Cardiovascular Disease and Death. The Framingham Heart Study / B.F. Culleton [et al.] // *Annals of Internal Medicine* – 1999. – Vol.131. – P. 8-10.

18. Dudman, N. P. Disordered methionine/homocysteine metabolism in premature vascular disease. Its occurrence, cofactor therapy, and enzymology. / N. P. Dudman [et al.] // *Arterioscl Thromb.* – 1993. – Vol. 13 – P.1253–1260.

19. Duerre, J. A. Effect of adenosine metabolites on methyltransferase reactions in isolated rat livers. / J. A. Duerre [et al.] // *Biochim Biophys Acta* – 1981. – Vol.678 – P.275-282

20. Finkelstein J. D. Methionine metabolism in mammals. / J.D. Finkelstein // *J. Nutr. Biochem.* – 1990. – Vol.1 – P.228–237.

21. Gilfix, B.M. Novel reductant for determination of Total Plasma Homocysteine / B. M. Giflix [et al.] // *Clinical Chemistry.* – 1997. – V. 43. – P. 687–688.

22. Graham. I. M. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. / I. M. Graham [et al.] // *JAMA.* – 1997. – Vol.277(22) – P.1775–1781.

23. Gutman, A.B. Views on the pathogenesis and management of primary gout. / A.B. Gutman // *J. Bone Joint Surg.* – 1972. – Vol. 54A. – P. 357-372.

24. Hopkins, P. Higher plasma homocysteine and increased susceptibility to adverse effects of low folate in early familial coronary artery disease. / P. Hopkins [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol* – 1995. – Vol. 15 – P. 1314-1320.

25. Hultberg, B. Hypomethylation as a cause of homocysteine-induced cell damage in human cell lines. / B. Hultberg [et al.] // *Toxicol.* – 2000. – Vol.147 – P. 69-75.

26. Imai, K. Fluorogenic reagents, having benzofurazan structure, in liquid chromatography / K. Imai [et al.] // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1990. – V.7. – P. 1395–1403.

27. Istok, R. Total plasma homocysteine in patients with gout. / R. Istok, M. Kovalancik, J. Rovensky // J. Rheumatol. – 1999. – Vol. 26(9). – P. 2068-2069.

28. Kramer, K. Isoprenylcysteine Carboxyl Methyltransferase Activity Modulates Endothelial Cell Apoptosis. / K. Kramer [et al.] // Mol Biol Cell – 2003. – Vol.14 – P.848-857.

29. Krishnan, E. Declines in mortality from acute myocardial infarction in successive incidence and birth cohorts of patients with rheumatoid arthritis. / E. Krishnan [et al.] // Circulation. – 2004. – Vol. 110. – P. 1774–1779.

30. Lussier-Cacan, S Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits. / S. Lussier-Cacan [et al.] // Am J Clin Nutr – 1996. – Vol.64 – P.587-593.

31. Malinow, M. R. Role of blood pressure, uric acid, and hemorheological parameters on plasma homocysteine concentration. / M.R. Malinow [et al.] // Atherosclerosis – 1995. – Vol.114 – P. 175-183.

32. Meredith, I. T. Postischemic vasodilation in human forearm is dependent on endothelial-derived nitric oxide. / I.T. Meredith [et al.] // Am. J. Physiol. – 1996. – Vol. 270. – P. H1435-H1440.

33. Miller, A. L. Homocysteine Metabolism: Nutritional Modulation and Impact on Health and Disease / A. L. Miller [et al.] // Alternative Medicine Review – 1997. – Vol.2(4) – P.234-254.

34. Miller, J. W. Vitamin B6 deficiency vs folate deficiency: comparison of responses to methionine loading in rats. / J. W. Miller [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 1993. – Vol.59 – P. 1033-1039.

35. Perna, A. F. Homocysteine, a new crucial element in the pathogenesis of uremic cardiovascular complications. / A. F. Perna [et al.] // Miner. Electrolyte Metab. – 1999. – Vol.25 – P. 95-99.

36. Suliman, M. E. Effects of methionine loading on plasma and erythrocyte sulphur amino acids and sulph–hydrils before and after co–factor supplementation in haemodialysis patients. / M. E. Suliman [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. – 2001. –Vol.16 – P. 102-110.

37. Tsutsumi, Z. Total plasma homocysteine is not increased in Japanese patients with gout. / Z. Tsutsumi [et al.] // J Rheumatol. – 2002. – Vol. 29(8) – P.1805-1806.

38. Van der Griend, R. Methionine loading test is necessary for detection of hyperhomocysteinemia. / R. Van der Griend [et al.] // *Lab Clin Med.* – 1998. – Vol.132(1) – P. 67-72

39. Wang, H. Inhibition of growth and p21ras methylation in vascular endothelial cells by homocysteine but not cysteine. / H. Wang [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol.272 – P. 25380-25385.

40. Zhang, C. Homocysteine induces programmed cell death in human vascular endothelial cell throw activation of the unfolded protein response / C. Zhang [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol.276. – P. 35867-35874.

## Глава 6

# СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ В ФОРМИРОВАНИИ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И СИНДРОМА ЗАДЕРЖКИ РАЗВИТИЯ ПЛОДА

### Введение и краткий литературный обзор

Изучение патогенеза и профилактики множества акушерских осложнений продолжает оставаться важнейшей проблемой современного акушерства ввиду исключительного значения предотвращения материнской смертности, материнской заболеваемости, снижения репродуктивных потерь – перинатальной смертности и заболеваемости.

Плацентарная недостаточность (ПН) до настоящего времени остается ключевой проблемой акушерства, неонатологии и перинатологии. Социальная и медицинская значимость данной проблемы в Республике Беларусь определяется сохранением высоких показателей перинатальной патологии, поэтому решение этой проблемы является весьма сложной задачей и требует привлечения последних достижений медицинской науки и практики, что делает чрезвычайно актуальным как для науки, так и для практического акушерства изучение факторов патогенеза нарушений в системе мать-плацента-плод, как одних из основных причин патологии плода и новорожденного [2, 6, 10, 37, 52].

Многочисленные исследования показали, что более 60% перинатальной патологии возникает в антенатальный период и одной из основных причин ее возникновения является плацентарная недостаточность, частота которой, по данным разных авторов, колеблется от 13,5% до 49%, а перинатальная смертность при этом осложнении составляет 35-40‰ [1, 4, 15, 36, 49]. Так, при угрозе прерывания беременности ПН диагностируют более чем у 85% женщин, при гестозе – у 30,3%, при артериальной гипертензии – у 45%, при анемии и изосерологической несовместимости крови матери и плода – до

32,2%, при миоме матки – у 46%, при сахарном диабете – у 55%, при нарушениях жирового обмена – у 24% беременных [3, 9, 23, 48,].

Результат проявления клинического синдрома плацентарной недостаточности – внутриутробная гипоксия плода и синдром задержки развития плода (СЗРП) [3, 7, 24, 35]. Основу клинических проявлений хронической гипоксии плода составляют сложные физиологические процессы нарушения всасывания и усвоения питательных веществ через плаценту (в первую очередь, глюкозы), дефицит транспорта кислорода, возникающий как вследствие его недостатка, так и при его нормальном и даже избыточном содержании в тканях [5, 14, 22, 34, 50]. Недостаток кислорода оказывает повреждающее воздействие на эндотелий сосудов ворсинчатого трофобласта и инициирует свободнорадикальные процессы. В трофобласте нарушается нормальное течение метаболических процессов [12, 13, 26, 38]. Активные кислородные радикалы и продукты пероксидации вызывают истощение энергетических резервов клеток и нарушение структуры маточно-плацентарных сосудов. В результате активизируются процессы анаэробного гликолиза, нарушается синтез АТФ, в тканях плода тормозится липолиз, развиваются гипогликемия, гипoinsулинемия [8, 18, 21, 31, 44, 58]. Наряду с этим происходят значительные нейроэндокринные и метаболические сдвиги, которые носят адаптивный характер и приводят к нарушению процессов адаптации и возникновению ряда патологических изменений в ходе дальнейшего развития ребенка [8, 16, 20, 27, 42, 59, 64]. По мнению М.В. Федоровой и Е.П. Калашниковой (1997), плацентарная недостаточность – это клинический синдром, обусловленный морфофункциональными изменениями в плаценте и представляющий собой результат сложной реакции плода и плаценты на патологические состояния организма матери. При этом плацента не способна поддерживать адекватный обмен в системе мать-плод, так как имеют место нарушения ее транспортной, трофической, эндокринной и метаболической функций. При различном подходе к определению ПН, как клинического синдрома или патофизиологического процесса, все авторы сходятся во

мнении, что при этом состоянии нарушаются компенсаторно-приспособительные реакции, которые следует рассматривать как сложный динамический процесс адаптации элементов плацентарного барьера, включающий морфологические изменения на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях, сопровождающиеся циркуляторными расстройствами и инволюционно-дистрофическими процессами в системе мать-плацента-плод, приводящими к нарушению транспортной, трофической, эндокринной, метаболической, антитоксической функции плаценты, что и служит основой для возникновения антенатального стресса, реализующегося в форме алиментарного дефицита массы тела и внутриматочной гипоксии плода [14, 19, 36, 40, 57, 63]. Все это приводит к высокой частоте соматической и инфекционной заболеваемости новорожденных.

Многолетние наблюдения за развитием детей, рожденных пациентками с плацентарной недостаточностью, позволили В.Е.Радзинскому и П.Я.Смалько (1997) сделать вывод о том, что данная акушерская патология обуславливает не только существенное увеличение перинатальной смертности, но и лежит в основе многочисленных патологических изменений в организме ребенка, которые на протяжении первых лет жизни являются главной причиной нарушений его физического и умственного развития, в последующем влияя на качество, дальнейший уровень и продолжительность жизни. По данным ряда авторов, перинатальная заболеваемость составляет около 738-802‰ [18, 25]. При этом на долю гипоксически-ишемического поражения ЦНС приходится 49,9%, что в 4,8 раза выше, чем при неосложненной беременности [9, 30]. Дыхательные нарушения и аспирационный синдром отмечают у 11% новорожденных [3, 32, 60], а необходимость реанимационных мероприятий возникает у 15,2%. Встречаемость СЗРП варьирует в популяции от 10 до 23% доношенных новорожденных в развитых и развивающихся странах [7, 9, 41, 45], соответственно.

Несмотря на разработку и широкое внедрение новых медицинских технологий, направленных на сохранение здоровья матери и ребенка, внутриматочная гипоксия и СЗРП

остаются одной из основных причин ранней неонатальной смертности и мертворождаемости [6, 43].

Большинство авторов, рассматривающих эту проблему, отмечают полиэтиологичность и мультифакториальность причин, которые приводят к дисбалансу адаптационных механизмов в организме матери, и лежат в основе нарушений компенсаторно-приспособительных механизмов, циркуляторных расстройств и инволюционно-дистрофических процессов в системе «мать-плацента-плод», негативно влияя на внутриутробное состояние и развитие плода. Изучению патогенетических механизмов развития ПН посвящено большое число научных исследований, однако следует заметить, что существующие ранее теории патогенеза ПН на сегодняшний день практически исчерпали себя и подвергаются серьезной ревизии благодаря последним достижениям в области общей биологии, биохимии, молекулярной медицины и генетики, а также гемостазиологии. Прогресс в понимании молекулярных механизмов тромбофилии и открытие новых генетических форм тромбофилии, в том числе гипергомоцистеинемии, позволили установить их роль в патогенезе большинства акушерских осложнений, в том числе пусковым механизмом в развитии плацентарной недостаточности.

В последние годы все больший интерес вызывает роль гомоцистеина и продуктов его метаболизма в генезе ПН [11, 53]. Kilmer McCully углубленно изучал больных с высокими уровнями гомоцистеина в крови и обнаружил связь гипергомоцистеинемии с развитием тяжелой сосудистой патологии, частоту нейродегенеративных заболеваний, канцерогенеза.

В настоящее время гипергомоцистеинемия ассоциируется с различными осложнениями беременности, в основе которых лежат нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотоков, происходящие в результате тромбозов сосудов, васкулитов, инфарктов плаценты, что может стать причиной целого ряда патологических состояний, таких как самопроизвольные выкидыши в I и II триместрах беременности, внутриутробная задержка развития плода, внутриутробная гибель плода, отслойка плаценты, гестоз, плацентарная недостаточность, пороки развития [17, 55, 65]. По

данным литературы, гипергомоцистеинемия приводит к повреждению и активации эндотелиальных клеток, индуцирует некроз эндотелия, пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, активацию сосудистых фибробластов, вызывает митохондриальные структурные нарушения. Кроме того, высокие уровни гомоцистеина усиливают агрегацию тромбоцитов вследствие снижения синтеза эндотелием релаксирующего фактора и оксида азота (NO), индукции тканевого фактора, что значительно повышает риск развития тромбозов. Это может являться причиной развития плацентарной недостаточности, хронической внутриутробной гипоксии плода, а также снижать функциональные резервы всех жизнеобеспечивающих систем во время внутриутробного развития ребенка и способствовать развитию целого ряда осложнений периода новорожденности.

Существующие традиционные методы диагностики плацентарной недостаточности малоэффективны, что диктует необходимость поиска новых эффективных маркеров диагностики плацентарной недостаточности и внутриутробного состояния плода, патогенетически обоснованных методов коррекции состояния фетоплацентарной системы, направленных на профилактику рождения маловесных детей, предупредить формирование СЗРП и снизить перинатальную заболеваемость и смертность. Это значительно уменьшит экономические и социальные затраты на лечение детей с тяжелой неврологической патологией.

### **6.1 Материал и методы исследования**

Проведено исследование у 192 женщин, 160 из которых были беременными и 32 женщины группы «резерва родов» вне беременности. Беременные были разделены на 2 группы: основную группу сформировали 120 женщин, течение беременности которых осложнилось хронической плацентарной недостаточностью, возникшей в различные сроки гестации. Группу сравнения составили 40 женщин с физиологическим течением беременности.

В зависимости от сроков возникновения хронической плацентарной недостаточности основная группа была разде-

лена на 4 группы: 19-24 недели беременности, 25-28 недель беременности, 29-33 недели гестации, 34-38 недель беременности. К каждой из групп была подобрана группа сравнения, состоящая из 10 человек с аналогичным сроком гестации и физиологическим течением беременности.

Диагностика хронической плацентарной недостаточности проводилась в соответствии со стандартными протоколами обследования беременных согласно МЗ РБ с использованием клинических, инструментальных и лабораторных методов обследования. После родов во всех подгруппах оценивали массу новорожденных и массо-ростовой индекс (МРИ).

Группу здоровых беременных наблюдали и обследовали амбулаторно. Беременность считали физиологической при отсутствии у матери соматической патологии, при не осложненном течении беременностей и родов в анамнезе, отсутствии акушерской патологии при настоящей беременности.

Дополнительно нами обследованы 32 нерожавшие женщины группы «резерва родов» вне беременности, у которых исследовались уровни гомоцистеина, цистеина, глутатиона, цистеинилглицина в плазме крови.

Исследуемая группа и группа сравнения беременных, а также пациентки группы «резерва родов» были сопоставимы по возрасту, паритету родов и частоте экстрагенитальной патологии.

У всех обследованных пациенток кровь забиралась в количестве 20 мл, из локтевой вены натощак, помещалась в пробирки с гепарином и немедленно центрифугировалась на центрифуге «Элекон-ЦЛМН-Р10-01» (Россия) в течение 5 минут с частотой оборотов 2000 в минуту. После центрифугирования плазму крови отбирали в количестве 1 мл, замораживали при температуре  $-78^{\circ}\text{C}$  и хранили до момента проведения исследования в холодильной камере «REVCO» (США). Определение уровня гомоцистеина, цистеина, цистеинилглицина, глутатиона в плазме крови осуществлялось методом высокоэффективной хроматографии с флюоресцентной детекцией с использованием высокореагентного восстановителя SBD-F (ammonium 7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazole-4-sulfonate) фирмы «Fluca» (Германия) на аппарате «Agilent 1100».

Для оценки эндокринной функции плаценты и состояния фетоплацентарной системы в сыворотке крови беременных женщин определяли концентрацию эстриола и прогестерона. Гормоны ФПК определялись с помощью радиоиммунных наборов, производимых Институтом биоорганической химии Национальной Академии наук РФ.

Статистический анализ полученных результатов проведен с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 6.0» для биологических исследований. Проверка на нормальное распределение результатов проводилась при помощи критерия Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилкса. Отклонение от нормального распределения считали существенным при значениях вероятности ошибки  $p < 0,05$ . Нами выявлено, что распределение всех цифровых результатов в проведенном исследовании соответствует закону нормального распределения Гаусса. В связи с этим, для сравнительного анализа независимых групп мы использовали тест ANOVA однофакторного анализа с последующей оценкой разницы между группами при помощи теста множественного сравнения средних Дункана, а также тест Стьюдента с определением  $t$ -критерия. Для корреляционного анализа применяли расчет коэффициента Пирсона. Статистически достоверными различия и корреляцию считали при  $p < 0,05$ . Наряду с этим, мы применяли кластерный и дискриминантный анализ, а также статистические методы доказательной медицины. Для оценки эффективности теста использовали метод оценки площади под характеристической кривой (ROC-кривой). Для построения и обработки ROC-кривых использовался программный пакет SPSS 16.0.

## 6.2 Результаты и обсуждение

### 6.2.1 Основные показатели обмена гомоцистеина при физиологической беременности, их влияние на течение гестационного процесса

Нами оценена динамика изменения уровня гомоцистеина и его метаболитов (цистеина, цистеинилглицина и глутатиона), а также основных гормонов, характеризующих со-

стояние фетоплацентарного комплекса: прогестерона, эстриола, кортизола и тестостерона во втором и третьем триместрах нормально протекающей беременности.

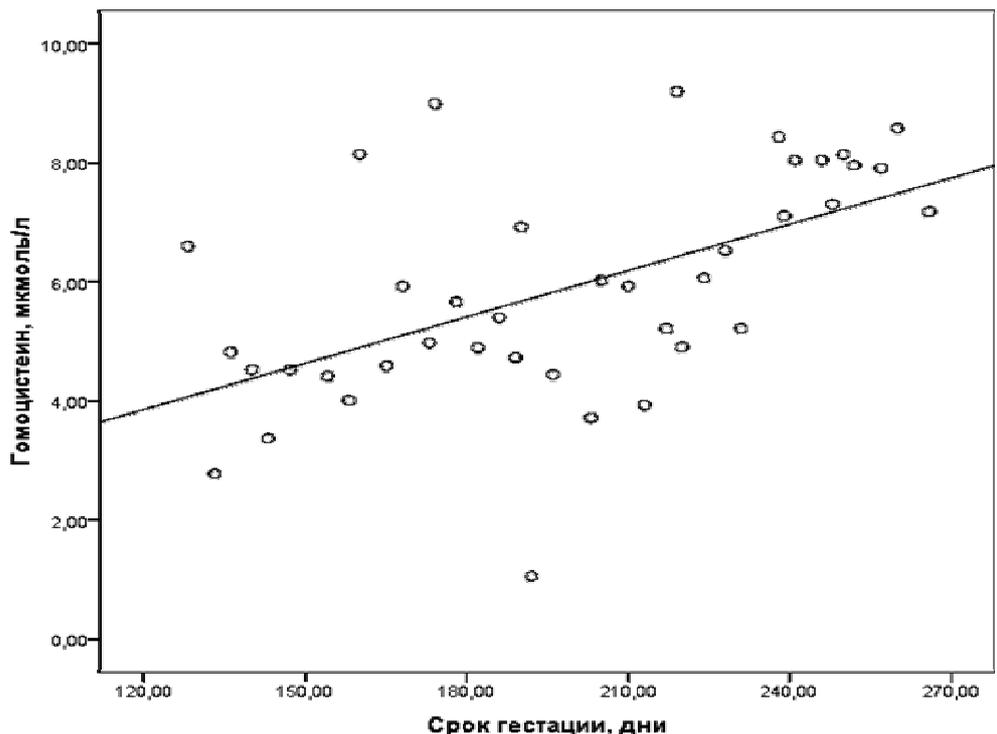
Распределение концентрации цистеина, гомоцистеина, цистеинилглицина и глутатиона подчиняется закону Гаусса, согласно критерию Шапиро-Уилкса. В связи с этим, для корреляционного анализа нами использовался коэффициент Пирсона. Выявлена положительная корреляция между сроком гестации и концентрацией как гомоцистеина ( $r = 0,555$ ,  $p < 0,001$ ), так и концентрацией цистеина ( $r = 0,381$ ,  $p = 0,036$ ) (таблица 6.1; рисунки 6.1 и 6.2).

При анализе динамики изменения концентрации гомоцистеина и цистеина по мере развития здоровой беременности выявлено, что концентрация этих аминокислот достоверно ниже, по сравнению с данными показателями у здоровых небеременных женщин (рисунок 9.3 и 9.4). В период с 19 до 33 недели беременности уровень этих показателей не изменяется и образует плато. Полученные данные подтверждаются другими исследователями, которые отмечают резкое уменьшение концентрации гомоцистеина в ранние сроки беременности, а затем, с 20 недель по 32 неделю, концентрация этой аминокислоты выходит на стабильный уровень Moore, L.G., McCullough, R.E., and Weil, J.V.

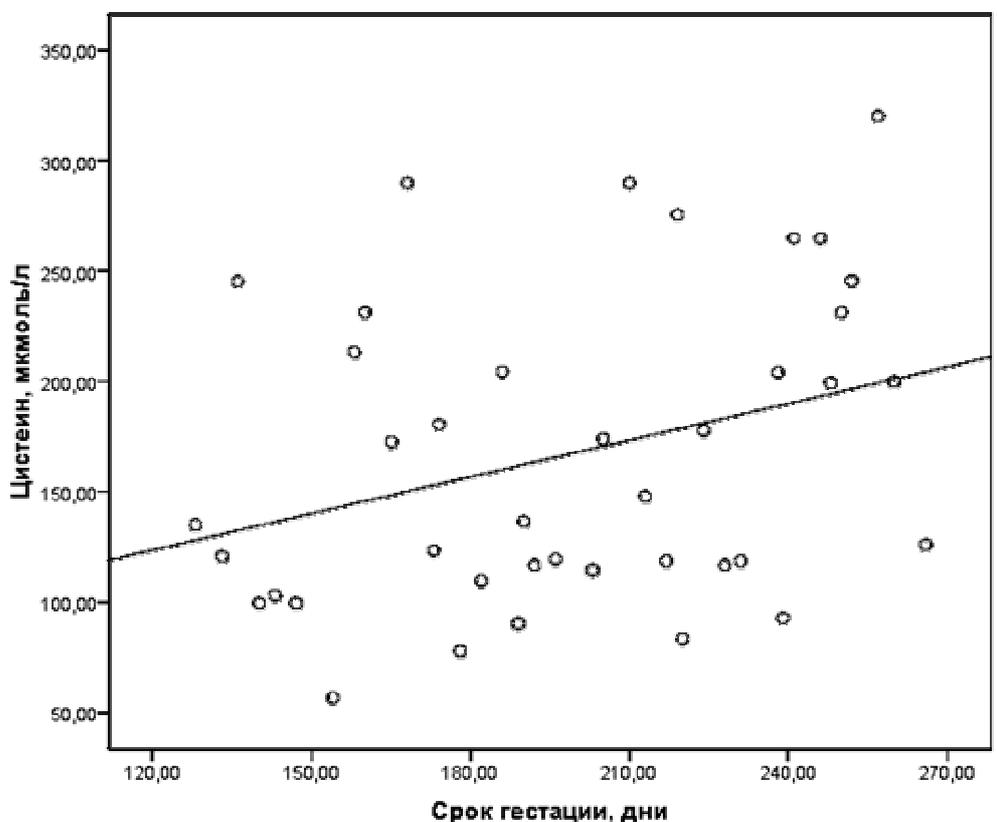
Таблица 6.1 – Корреляционные связи основных метаболитов гомоцистеина и срока гестации при нормально протекающей беременности

Параметр		Параметр			
		дни гестации	цистеин	гомоцистеин	цистеинилглицин
Цистеин	R	0,381			
	p	0,036			
Гомоцистеин	R	0,555	0,561		
	p	< 0,001	<0,001		
Цистеинилглицин	R	0,291	0,735	0,418	
	p	0,072	<0,001	0,008	
Глутатион	R	0,210	0,044	0,089	0,298
	p	0,194	0,786	0,584	0,065

Примечание – R – Коэффициент Пирсона



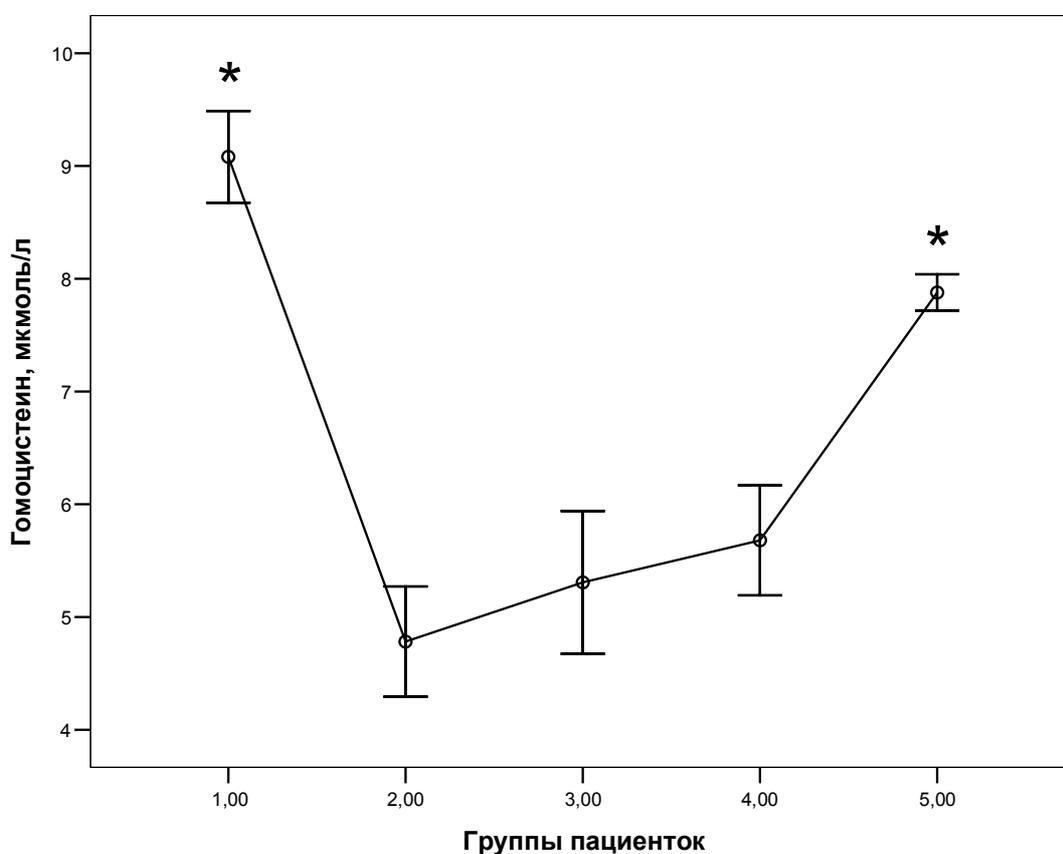
**Рисунок 6.1 – График рассеяния при анализе корреляционной связи между уровнем гомоцистеина и сроком гестации при нормально протекающей беременности**



**Рисунок 6.2 – График рассеяния при анализе корреляционной связи между уровнем цистеина и сроком гестации при нормально протекающей беременности**

Выявлена положительная корреляция между уровнем гомоцистеина, цистеина и цистеинилглицина (таблица 6.1). При этом не обнаружено взаимосвязи между сроком гестации, концентрацией глутатиона и цистеинилглицина. Динамика изменений концентрации глутатиона не зависела от уровня гомоцистеина, цистеина и цистеинилглицина.

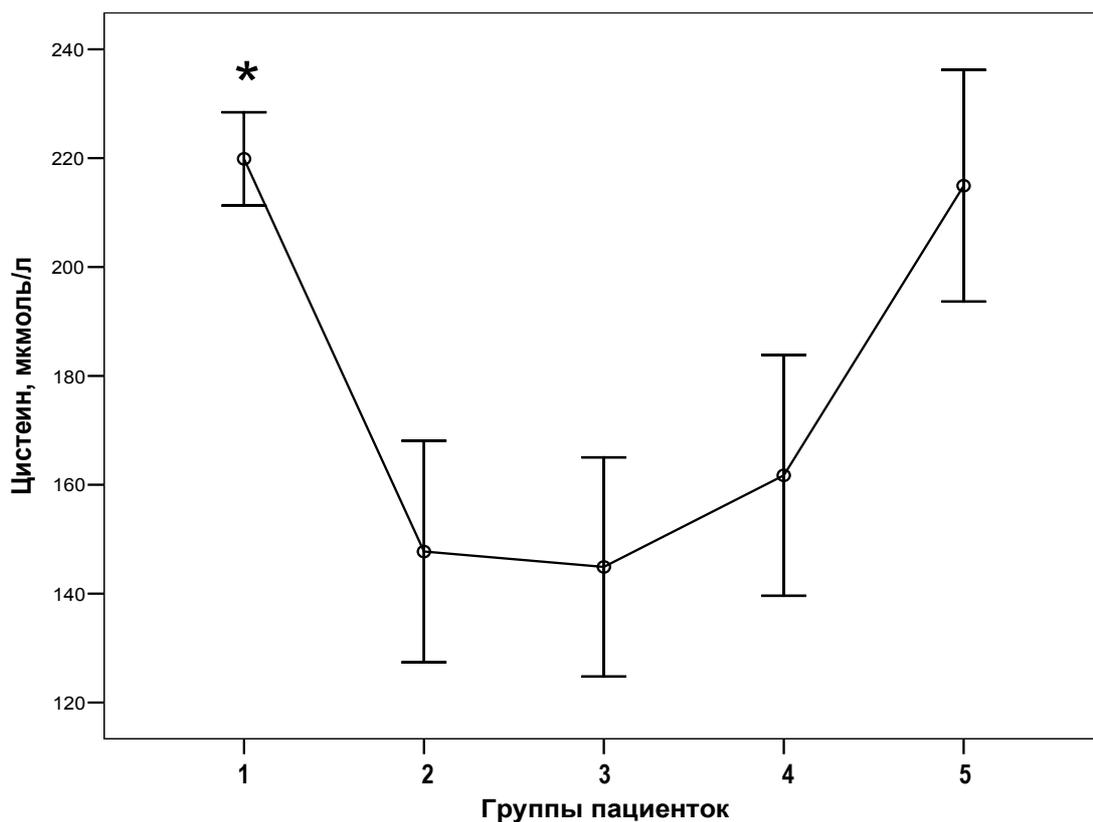
Установлено, что концентрация гомоцистеина и цистеина у небеременных значительно отличается от аналогичного показателя у здоровых беременных женщин гестационного срока от 19 до 33 недель (рисунок 6.3 и 6.4).



1 – группа здоровых небеременных женщин; 2 – группа здоровых беременных с гестационным сроком 19-24 недели, 3 – группа здоровых беременных с гестационным сроком 25-28 недель, 4 – группа здоровых беременных с гестационным сроком 29 – 33 недели, 5 – группа здоровых беременных с гестационным сроком 34-38 недель (здесь и на последующих рисунках).

\* – достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по отношению к женщинам 2, 3 и 4 групп

**Рисунок 6.3 – Динамика изменения концентрации гомоцистеина в зависимости от срока гестации. Результаты выражены в виде средней величины (M) ± ошибки среднего (m)**

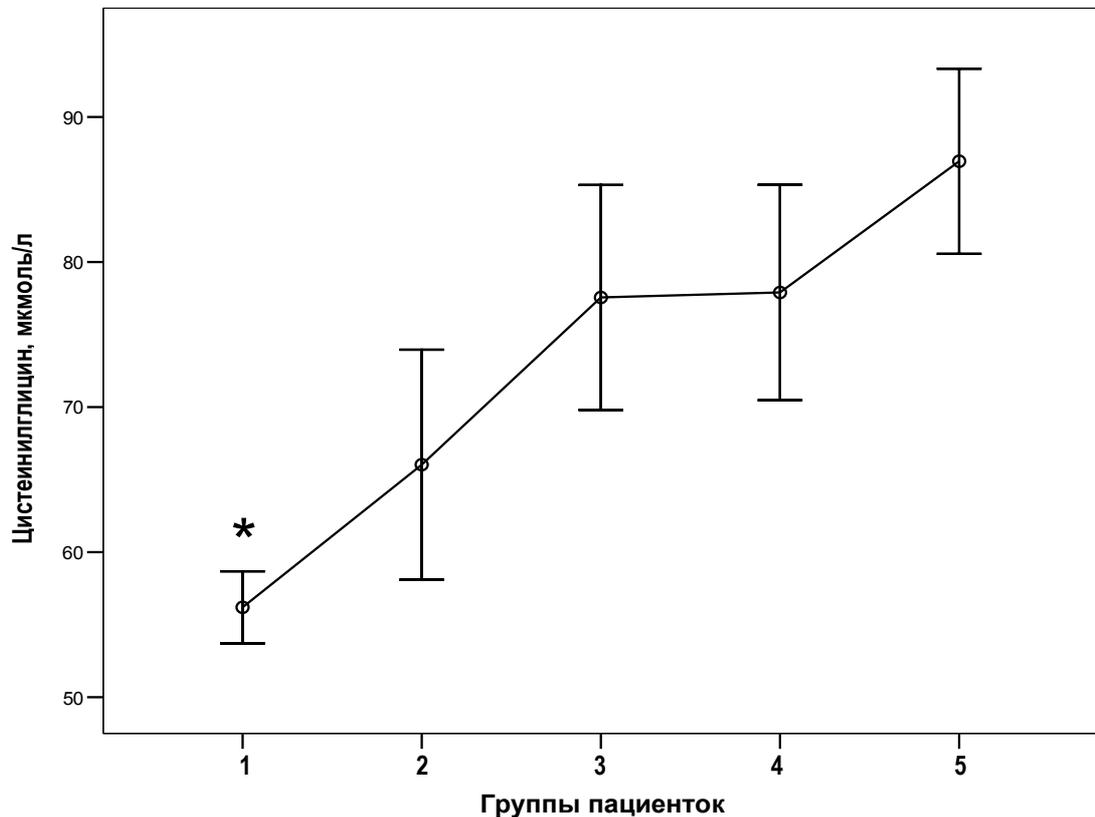


\* – достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по отношению к женщинам 2, 3 и 4 групп

**Рисунок 6.4 – Динамика изменения концентрации цистеина в зависимости от срока гестации. Результаты выражены в виде средней величины (M)  $\pm$  ошибки среднего (m)**

Так, уровень цистеина и гомоцистеина, соответственно, у небеременных женщин в 1,5 ( $p < 0,001$ ) и 1,9 ( $p < 0,001$ ) раза выше, по сравнению со здоровыми женщинами в сроке 19-24 недели беременности, на 50% ( $p < 0,001$ ) и 70% ( $p < 0,001$ ) выше по сравнению с группой в сроке 25-28 недель гестации, и на 36% ( $p < 0,01$ ) и 60% ( $p < 0,001$ ) выше по сравнению с беременными в сроке 29-33 недели гестации. Беременные гестационного срока 33-38 недель не отличались от здоровых небеременных по концентрации этих двух аминокислот. Полученные нами результаты соответствуют данным литературы по соотношению уровня гомоцистеина у беременных и небеременных женщин. Известно, что достоверное снижение концентрации гомоцистеина во время беременности происходит между вторым и третьим триместрами беременности Murphy [et al.] Clin Chem (2004).

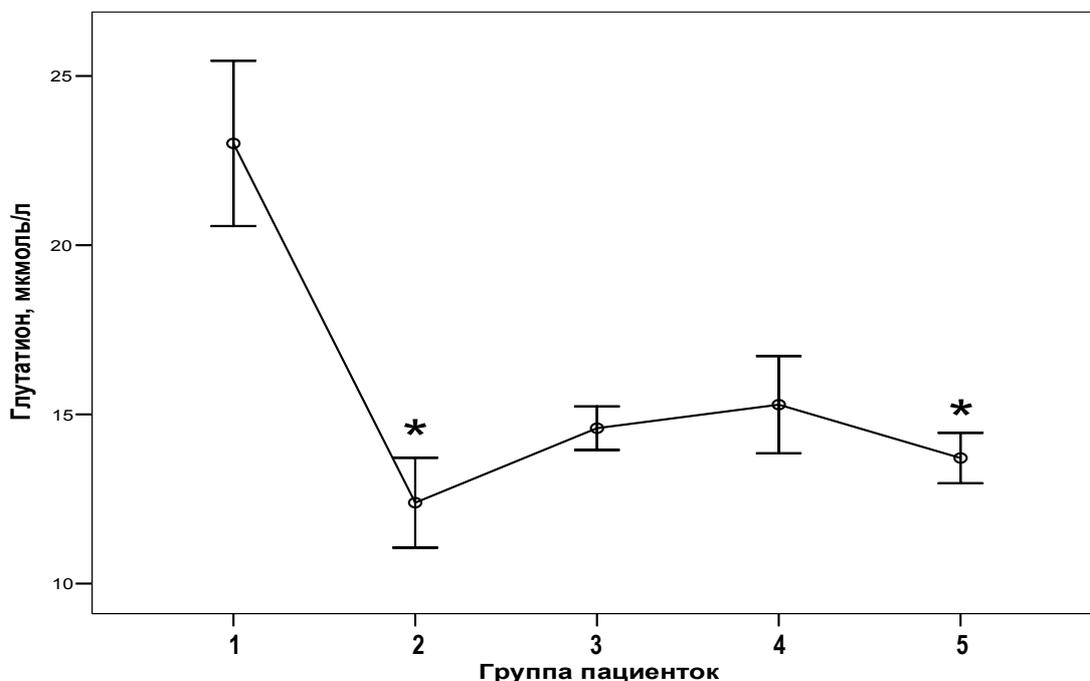
Концентрация цистеинилглицина увеличивалась у беременных всех исследуемых групп по сравнению с небеременными женщинами, и представлена на рисунке 6.5. Достоверные отличия установлены, начиная с 25 недели беременности. Уровень цистеинилглицина у небеременных был на 14% ( $p=0,12$ ) меньше, по сравнению с группой беременных 19-24 недели гестации, на 27% ( $p<0,001$ ) ниже, в сравнении с таковым показателем у женщин в сроке 25-28 и 29-33 недели беременности, и на 35% меньше по сравнению с уровнем цистеинилглицина у беременных в сроке 34-38 недель гестации.



\* – достоверная разница ( $p<0,05$ ) по отношению к женщинам 3, 4 и 5 групп

**Рисунок 6.5 – Динамика изменения концентрации цистеинилглицина в зависимости от срока гестации. Результаты выражены в виде средней величины (М) ± ошибки среднего (m)**

Уровень глутатиона в группе небеременных женщин был выше, по сравнению с беременными, однако статистически значимые отличия обнаружены только для группы женщин гестационного срока 19-24 (на 85%,  $p < 0,03$ ) и 34 – 38 (на 67%,  $p < 0,05$ ) недель беременности (рисунок 6.6).



1 – группа здоровых небеременных женщин; 2 – группа здоровых беременных с гестационным сроком 19-24 недели, 3 – группа здоровых беременных с гестационным сроком 25-28 недель, 4 – группа здоровых беременных с гестационным сроком 29 – 33 недели, 5 – группа здоровых беременных с гестационным сроком 34-38 недель (здесь и на последующих рисунках)

\* – достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по отношению к женщинам 2, 3 и 4 групп и к группе небеременных женщин

**Рисунок 6.6 – Динамика изменения концентрации глутатиона в зависимости от срока гестации. Результаты выражены в виде средней величины (M) ± ошибки среднего (m)**

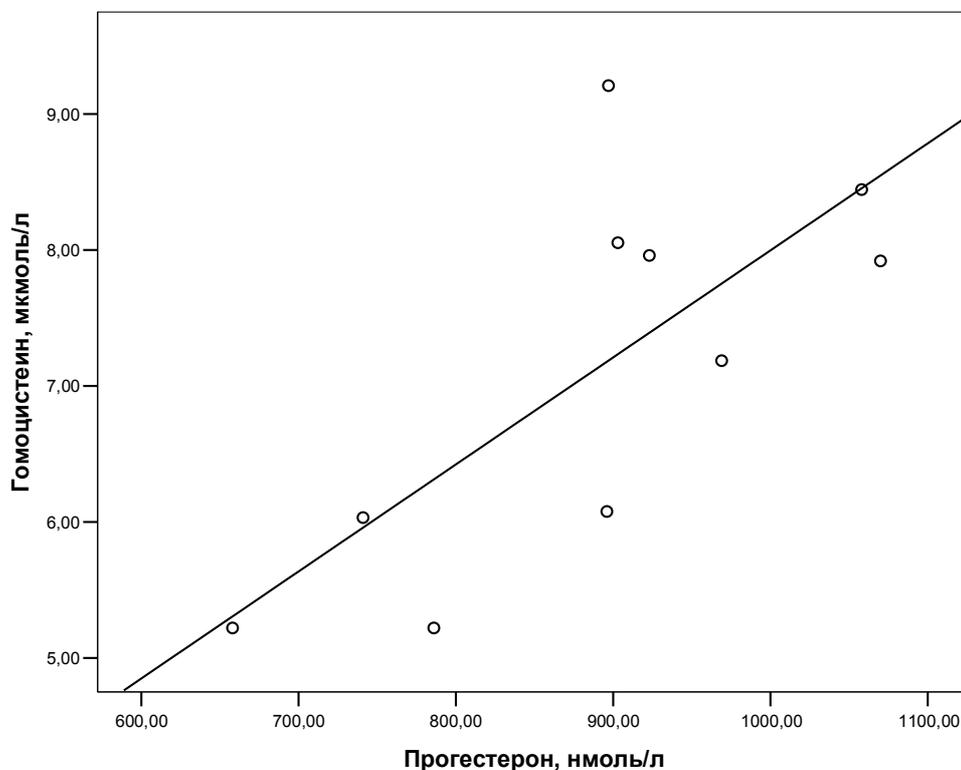
Нами проанализирована динамика изменения уровней цистеина, гомоцистеина, цистеинглицина и глутатиона в ходе развития здоровой неосложненной беременности на поздних ее сроках. Выявлен значимый рост уровня гомоцистеина и цистеина, начиная с 33 недели беременности (рисунок 6.3 и 6.4). Установлено, что концентрация гомоцистеина и цистеина увеличилась в группе здоровых беременных с гестационным сроком 34-38 недель, соответственно, на 38% ( $p = 0,006$ ) и

32% ( $p=0,02$ ), по сравнению с женщинами 29-33 недель беременности, на 49% ( $p=0,002$ ) и 48% ( $p=0,02$ ) в сравнении с группой беременных 25-28 недель гестации, на 65% ( $p<0,001$ ) и 45% ( $p=0,029$ ), по сравнению с женщинами с гестационным сроком 19-24 недели. Полученные результаты согласуются с данными литературы. Так, показано, что уровень гомоцистеина у беременных в родах значительно превышает аналогичный показатель для женщин 32 недель гестации и соответствует концентрации гомоцистеина до беременности Murphy [et al.] Clin Chem (2004). Обращает внимание отсутствие значимой разницы в динамике изменений концентрации цистеинилглицина и глутатиона в процессе развития нормальной беременности (рисунок 6.5 и 6.6). Механизмы снижения уровня гомоцистеина в период беременности до настоящего времени не ясны. Первичное предположение о связи данного феномена с увеличением объема циркулирующей плазмы у беременных себя не оправдало. Не обнаружено и существенных корреляционных связей между снижением уровня гомоцистеина и изменением основных лабораторных показателей, характеризующих объем внутрисосудистой жидкости. Уменьшение концентрации гомоцистеина на 8-й, 20-й и 32-й неделях беременности почти на порядок опережало снижение гематокрита, и в несколько раз – снижение концентрации альбумина в крови С. Mckinley [et al.] 2001; J.F. Clapp [et al.] 1998; M. M. Murphy [et al.] 2004. В связи с этим, была выдвинута гипотеза, что на концентрацию гомоцистеина в период беременности могут оказывать влияние эндокринные факторы. Одними из основных гормонов беременности являются эстрогены (эстриол и эстрадиол) и прогестерон R.V. Anthony, S.W. Limesand, K.M. Jeckel 2001. Нами прослежена положительная корреляция уровня прогестерона и концентрации гомоцистеина у женщин, начиная с 29-й недели беременности ( $r=0,734$ ,  $p=0,016$ ), что представлено на рисунке 6.7. В то же время, у беременных сроком гестации 19-28 недель такой взаимосвязи не выявлено.

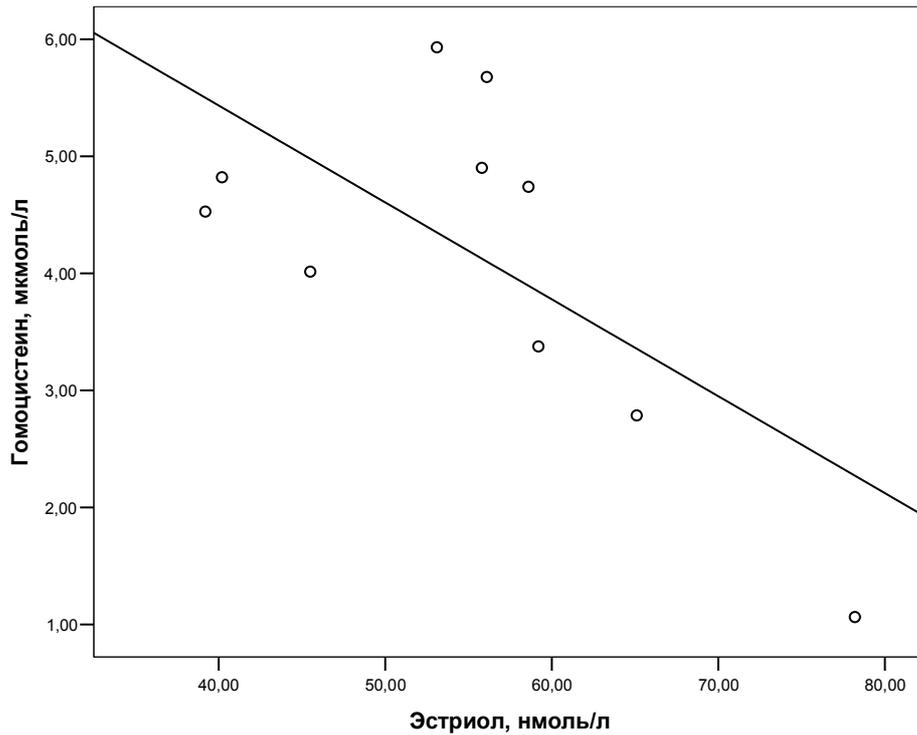
Установлено отсутствие корреляционной взаимосвязи между уровнем эстриола и концентрацией гомоцистеина в группе беременных на сроке гестации 29-38 недель. При этом

отмечена статистически значимая отрицательная корреляция между данными двумя параметрами для женщин на 19-28 неделе беременности ( $r=-0,669$ ,  $p=0,035$ ) (рисунок 6.8).

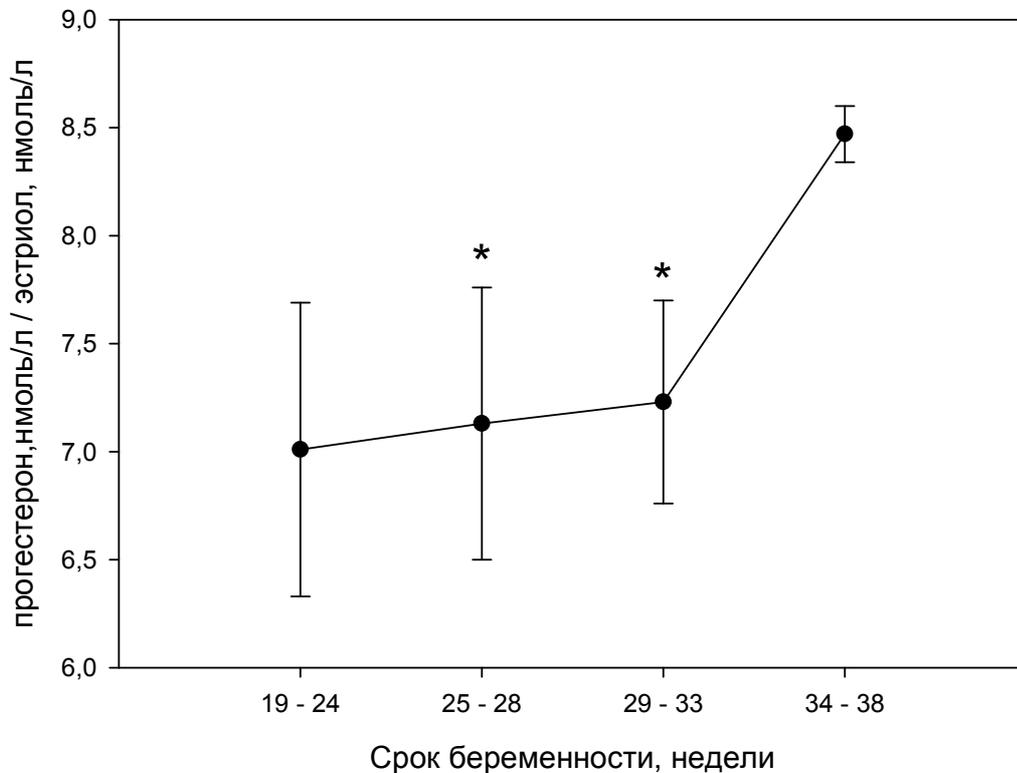
Нами проанализировано соотношение концентраций прогестерона и эстриола у здоровых беременных в зависимости от гестационного срока (рисунок 6.9). Этот показатель был стабильным на протяжении 19-33 недель неосложненной беременности. Начиная с 34 недели, отмечался достоверный рост показателя прогестерон/эстриол ( $17\%$ ,  $p<0,02$ ).



**Рисунок 6.7 – График рассеяния при анализе корреляционной связи между уровнем прогестерона и гомоцистеина у беременных 29-38 недель**



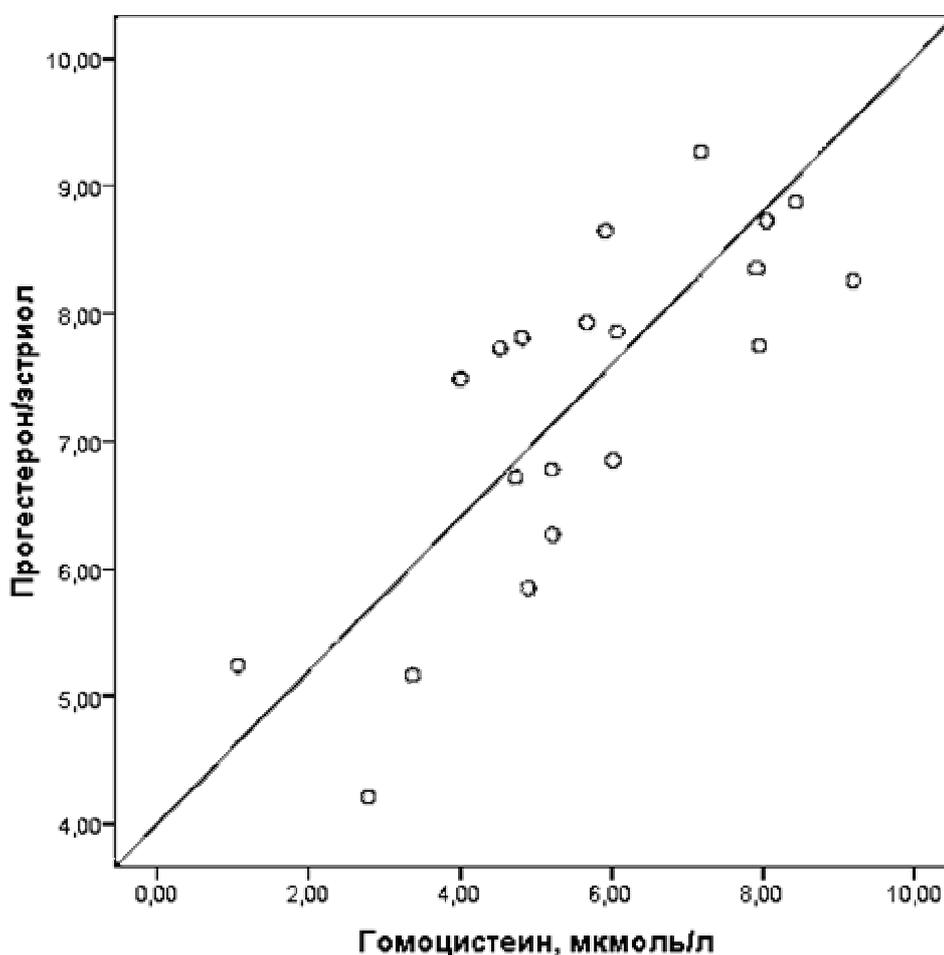
**Рисунок 6.8 – График рассеяния при анализе корреляционной связи между уровнем эстриола и гомоцистеина у беременных сроком гестации 19-28 недель**



\* – достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по отношению к беременным гестационного срока 34-38 недель

**Рисунок 6.9 – Динамика изменения соотношения прогестерона и эстриола в зависимости от срока гестации у здоровых беременных**

Увеличение показателя соотношения прогестерон/эстриол совпадает по сроку гестации с повышением уровня гомоцистеина и цистеина в группе здоровых беременных, что может подтверждать наше предположение о взаимосвязи увеличения концентрации этих аминокислот с ростом уровня продукции прогестерона. Мы оценили корреляционные связи между соотношением прогестерон/эстриол и концентрацией гомоцистеина (рисунок 6.10). Установлена достоверная положительная корреляция между данными показателями ( $r=0,789$ ,  $p < 0,001$ ).



**Рисунок 6.10 – График рассеяния при анализе корреляционной связи между уровнем отношения прогестерон/эстриол и гомоцистеина у женщин с физиологически протекающей беременностью 2 и 3 триместров гестации**

### 6.2.2 Особенности основных показателей обмена гомоцистеина и его метаболитов при хронической плацентарной недостаточности их влияние на течение гестационного процесса

Нами проведена оценка динамики изменения уровня гомоцистеина и его метаболитов (цистеин, цистеинилглицин и глутатион), а также основных гормонов, характеризующих фетоплацентарный комплекс (прогестерон и эстриол) во втором и третьем триместрах при беременности, осложненной ХПН.

При анализе полученных результатов обнаружено, что, как и у женщин с нормально протекающей беременностью, у женщин при ХПН уровни гомоцистеина и цистеина положительно коррелировали со сроком беременности (таблица 6.2).

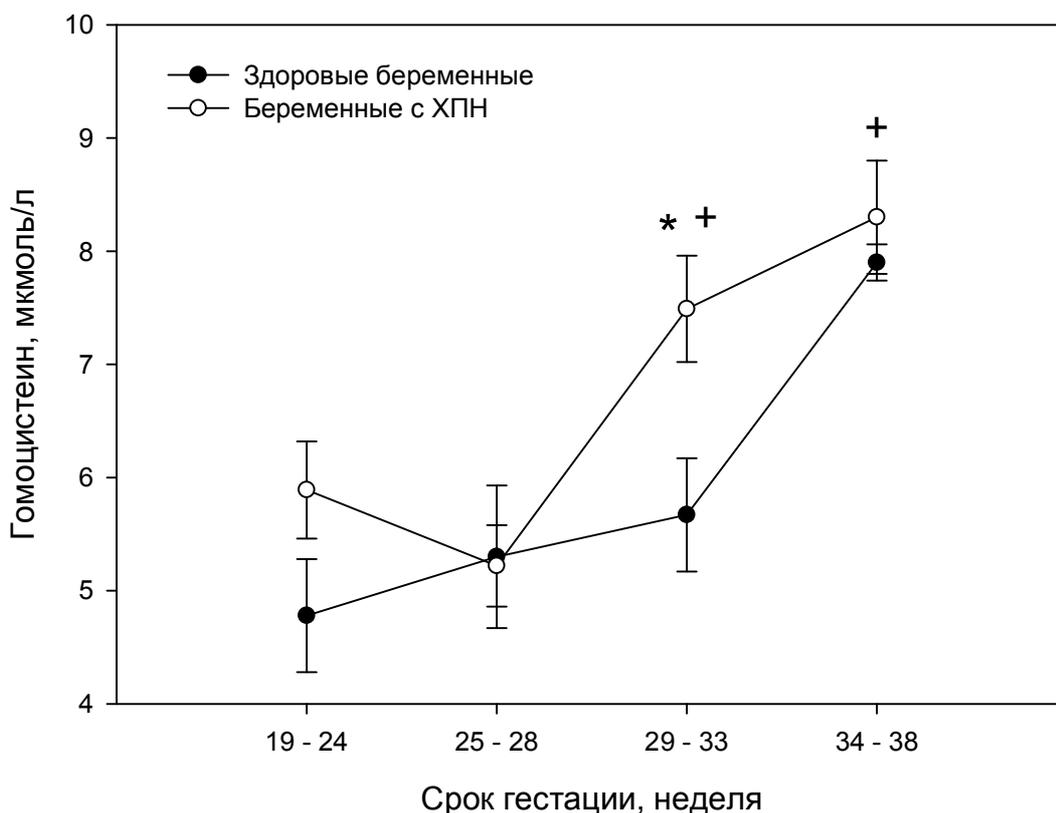
Таблица 6.2 – Корреляционные связи основных метаболитов гомоцистеина и срока гестации у беременных при ХПН

Параметр		Параметр			
		дни гестации	цистеин	гомоцистеин	цистеинилглицин
Цистеин	R	0,234			
	P	0,010			
	N	120			
Гомоцистеин	R	0,369	0,332		
	P	< 0,001	< 0,001		
	N	120	120		
Цистеинилглицин	R	-0,082	0,021	0,454	
	P	0,374	0,822	< 0,001	
	N	120	120	120	
Глутатион	R	-0,228	-0,137	0,280	0,799
	P	0,012	0,137	0,002	< 0,001
	N	120	120	120	120

Примечание – R – коэффициент корреляции Пирсона.

Выявлена отрицательная корреляция между уровнем глутатиона и гестационным сроком при положительной корреляции гомоцистеина с цистеином, цистеинилглицином и глутатионом. Концентрации гомоцистеина в группе беременных с ХПН гестационного срока 19-24 и 25-28 недель не отличались от аналогичных показателей у небеременных женщин. Однако, начиная с 29-й недели беременности, у пациен-

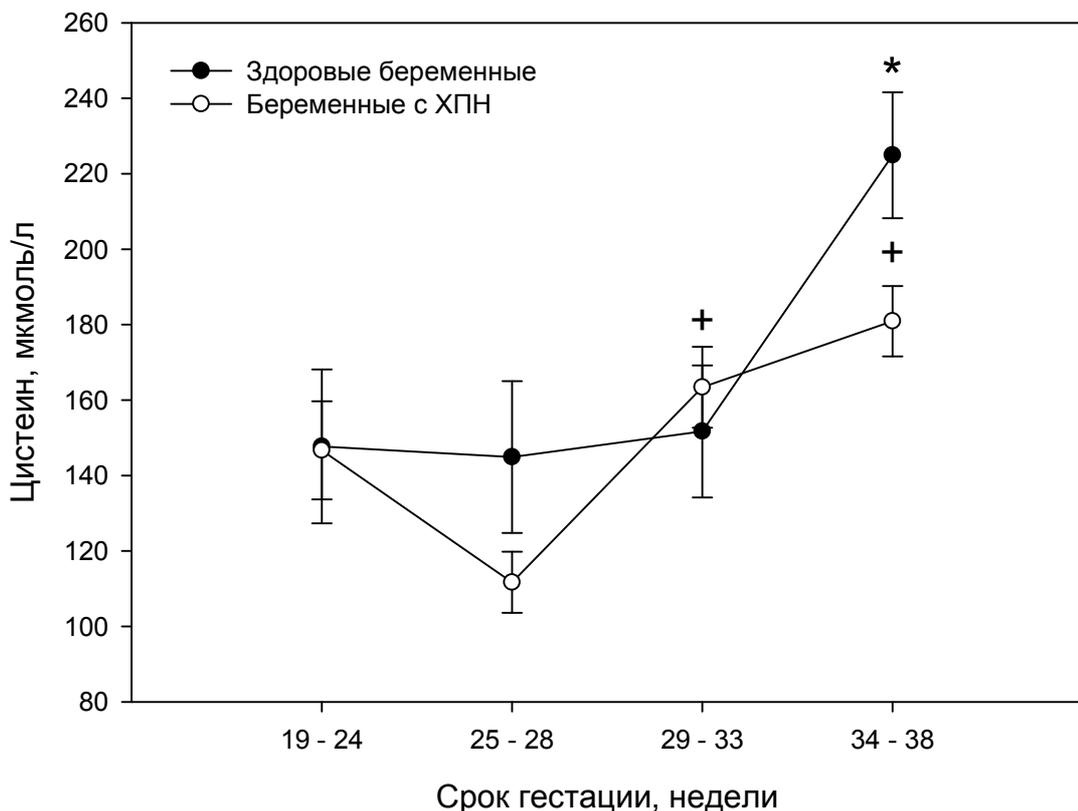
ток с ХПН имел место значительный рост этого показателя (рисунок 6.11). Так, концентрация гомоцистеина в группе женщин с ХПН на 29-33 неделе беременности на 43% ( $p < 0,001$ ) выше по сравнению с данным показателем у беременных с ХПН 25-28 недель гестации и на 27% ( $p < 0,02$ ) больше по сравнению с таковым у женщин с ХПН гестационного срока 19-24 недели. Еще более значимые различия выявлены у беременных с ХПН на 34-38 неделе гестации и у женщин гестационного срока 19-24 недели (41%,  $p < 0,001$ ) и 25-28 недель (60%). Обнаружено, что уровень гомоцистеина у женщин с ХПН выше, по сравнению с данным показателем у здоровых беременных, только у пациенток в сроке 29-33 недели беременности.



- \* – достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по отношению к группе здоровых беременных соответствующего гестационного возраста;  
 + – достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по отношению к беременным с ХПН срока гестации 19-24 и 25-28 недель

**Рисунок 6.11 – Концентрация гомоцистеина в крови беременных с ХПН на разных сроках гестации. Результаты представлены в виде  $M \pm m$**

Подобные закономерности характерны и для концентрации цистеина. В группе женщин с ХПН обнаружено достоверное увеличение этого аминотиола, начиная с 29-й недели беременности, в то время как у здоровых беременных рост данного показателя наблюдался только с 34-й недели гестации (рисунок 6.12). На основании полученных результатов правомерен вывод, что увеличение концентрации гомоцистеина при ХПН происходит раньше, чем у здоровых женщин, у которых беременность протекала без осложнений. Так, в группе здоровых беременных предродовый рост гомоцистеина наблюдается, начиная лишь с 34 недели, в то время как у беременных с ХПН резкое увеличение концентрации этой аминокислоты отмечается уже с 29 недели беременности.



\* – достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по отношению к женщинам гестационного срока 29-33 недели в группе здоровых беременных;  
 + – достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по отношению к беременным с ХПН гестационного срока 25-28 недель

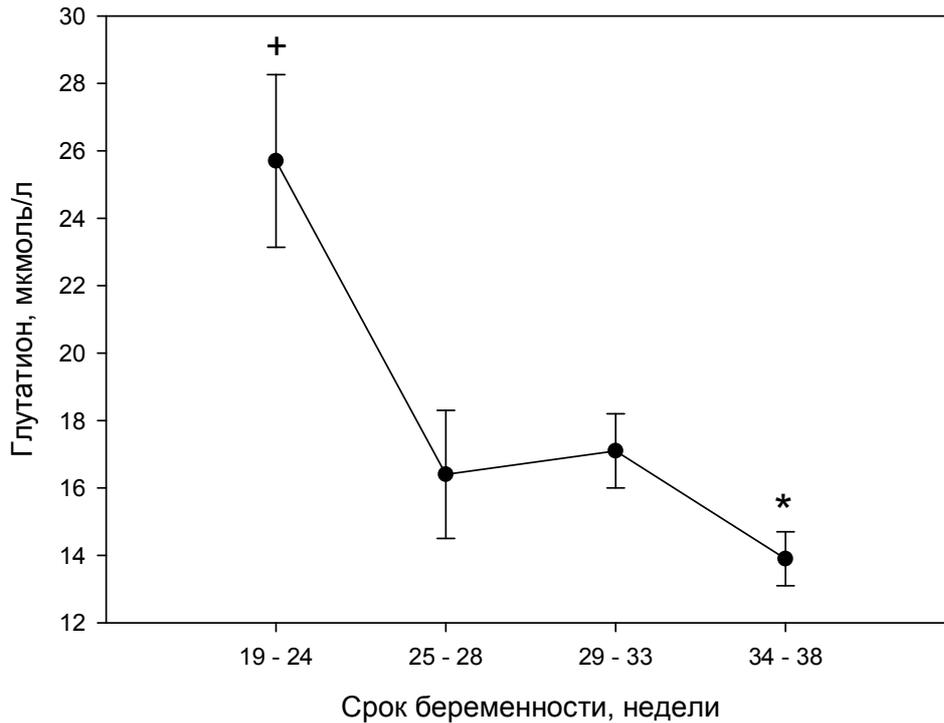
**Рисунок 6.12 – Концентрация цистеина в крови беременных с ХПН на разных сроках гестации. Результаты представлены в виде  $M \pm m$**

Учитывая приведенные выше результаты исследований, можно предположить вероятное влияние эстриола и прогестерона на уровень гомоцистеина. Нами проанализирована корреляционная взаимосвязь концентраций исследованных аминотиолов с уровнем основных гормонов беременности у пациенток с ХПН. Выявлена достоверная положительная корреляция уровня прогестерона и концентрации гомоцистеина ( $r=0,57$ ,  $p<0,001$ ) и цистеина ( $r=0,479$ ,  $p<0,001$ ). Корреляция же между уровнем эстриола и гомоцистеина отсутствовала во всех исследованных сроках гестации.

Как было показано нами в предыдущем разделе, женщины с ХПН характеризуются более низкими значениями уровня эстриола и прогестерона в крови по сравнению со здоровыми беременными. Динамика роста данных гормонов в зависимости от срока беременности в исследуемых группах женщин также различается. Здоровые беременные характеризуются примерно равномерным приростом эстриола на протяжении всего исследованного срока (с 19 по 38 неделю), в то время как у женщин с ХПН максимальный прирост этого гормона приходится на гестационный срок 25-28 недель и минимальный на 34-38 недель беременности. Максимальное увеличение концентрации прогестерона установлено у здоровых беременных при гестационном сроке 34-38 недель (рисунок 6.9), в то время как у женщин с ХПН максимальный прирост этого гормона происходил на 29-33 неделе беременности (рисунок 6.4). Аналогичные изменения отмечаются для концентрации гомоцистеина и его основного предшественника – цистеина.

Учитывая вышесказанное, можно предположить, что различия в динамике изменения концентрации гомоцистеина и цистеина на протяжении беременности у женщин с ХПН и здоровых беременных могут объясняться разной динамикой секреции прогестерона и эстриола у женщин в этих группах.

Выявлена отрицательная корреляция между сроком гестации и концентрацией глутатиона в крови беременных с ХПН. При анализе динамики изменения глутатиона в этой группе пациенток в течение беременности нами установлено,



\* – достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по отношению к женщинам гестационного срока 29-33 недели;  
 + – достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по отношению к беременным с ХПН гестационного срока 25-28, 29-33 и 34-38 недель

**Рисунок 6.13 – Концентрация глутатиона в крови беременных с ХПН на разных сроках гестации. Результаты представлены в виде  $M \pm m$**

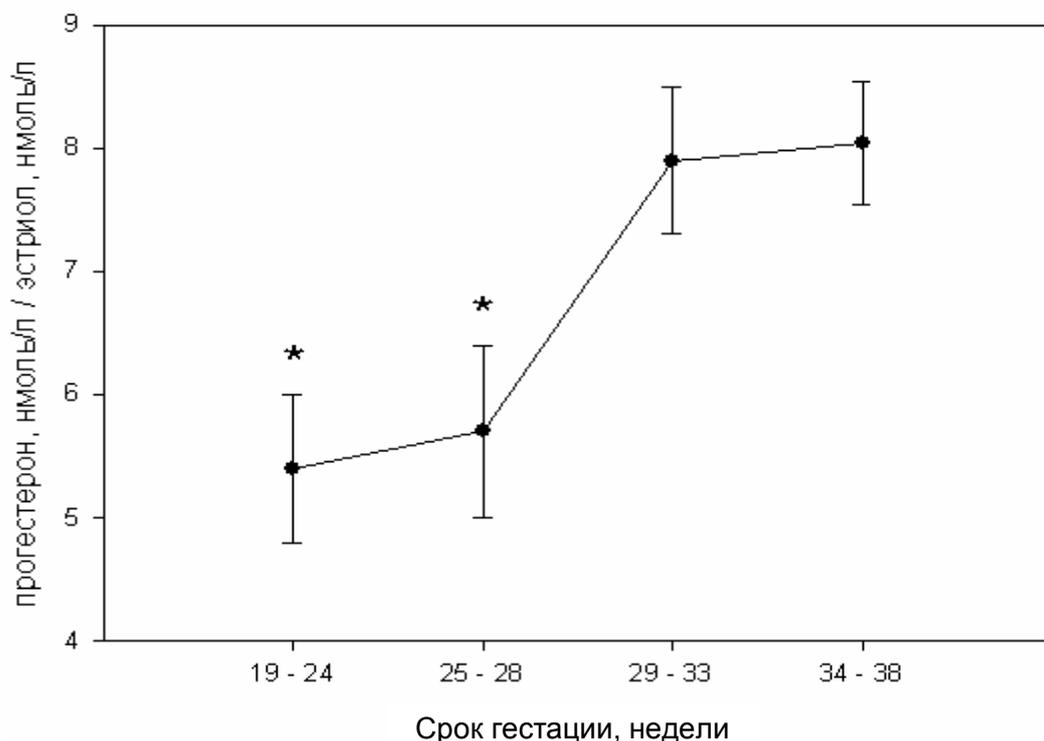
что концентрация данного аминокислоты в течение исследуемого периода гестации снижалась дважды (рисунок 6.13). Первый раз на 56% ( $p < 0,04$ ) в гестационном сроке 25-28 недель и второй раз на 23% ( $p < 0,03$ ) в гестационном сроке 34-38 недель.

Поскольку необходимым источником глутатиона в организме является цистеин, то, вероятнее всего, резкое уменьшение уровня этого аминокислоты в крови беременных с ХПН в сроке гестации 25-28 недель можно объяснить дефицитом цистеина. Это предположение подтверждается тем фактом, что концентрация цистеина в рассматриваемый период беременности у женщин с ХПН резко уменьшается по сравнению с группой гестационного срока 19-24 недели (на 23%,  $p < 0,03$ ). Второе снижение концентрации глутатиона у женщин с ХПН в сроке беременности 33-38 недель может объясняться увеличением уровня потребления глутатиона в

качестве антиоксиданта на фоне активации прооксидантных процессов перед родами Н. Jakubowski 2002.

Установлено, что концентрация эстриола у беременных с ХПН была ниже по сравнению со здоровыми беременными, однако достоверные различия обнаружены только для гестационного срока 19-24 недели (на 42% ( $p < 0,002$ )) и 34-38 недель (на 37%,  $p < 0,02$ ). В то же время, число беременных с ХПН, имеющих значения эстриола ниже 50-го перцентиля референтных значений соответствующего срока гестации для используемого метода определения, достоверно ниже, по сравнению со здоровыми беременными во всех группах обследованных.

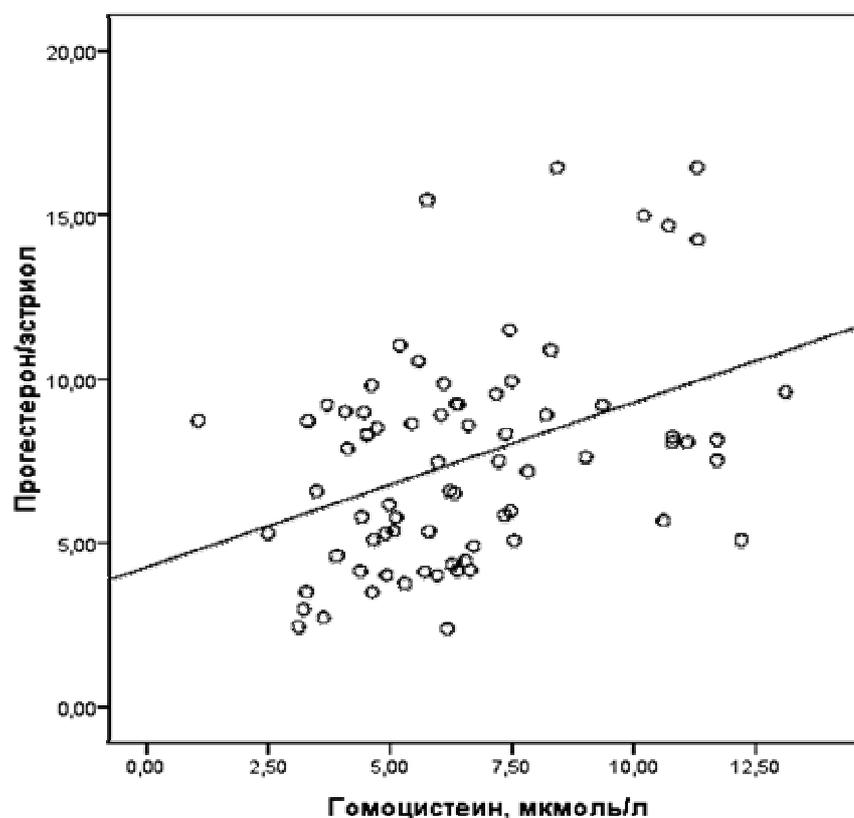
Проведен анализ динамики изменения соотношения основных гормонов беременности – прогестерона и эстриола – в зависимости от срока гестации (рисунок 6.14).



\* – достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по отношению к беременным гестационного срока 29-33 и 34-38 недель

**Рисунок 6.14 – Динамика изменения соотношения прогестерона и эстриола в зависимости от срока гестации у беременных с ХПН**

Выявлено, что у беременных с ХПН гестационного срока 29-33 недели отмечается достоверный рост (38%,  $p < 0,05$ ) показателя прогестерон/эстриол по сравнению с женщинами гестационного срока 25-29 недель. Эта разница сохранялась и в группе беременных с ХПН 34-38 недель (41%,  $p < 0,01$ ). Оценив корреляционные связи между уровнем показателя отношения прогестерон/эстриол и гомоцистеина, мы обнаружили достоверную положительную корреляцию между этими двумя показателями ( $r = 0,57$ ,  $p < 0,001$ ) (рисунок 6.15).



**Рисунок 6.15 – Корреляционные связи между отношением прогестерон/эстриол и концентрацией гомоцистеина в крови беременных с ХПН во 2 и 3 триместрах гестации**

### **6.3 Влияние уровня гомоцистеина и связанных с ним метаболитов на массо-ростовые показатели новорожденных**

В литературе широко обсуждается взаимосвязь гипергомоцистеинемии и патологии плода. Так, отмечена связь уровня гомоцистеина с развитием патологии нервной трубки

и других врожденных уродств у плода [17, 32, 45, 51]. Также широко обсуждается влияние уровня гомоцистеина на развитие задержки внутриутробного развития плода. В то же время, результаты исследований, посвященных взаимосвязи уровня гомоцистеина у беременных и весом ребенка при рождении достаточно противоречивы и неоднозначны [33, 56, 65].

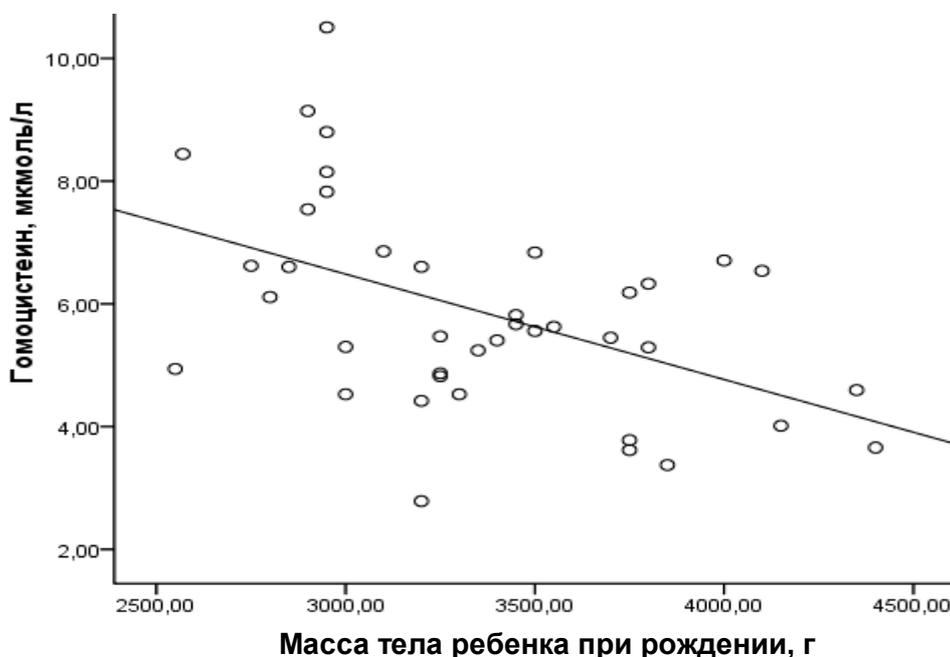
В одной из работ показано, что уровень гомоцистеина у женщин перед беременностью не оказывает влияния на частоту рождения детей с низкой массой тела, но достоверно коррелирует с частотой преждевременных родов N.K. Fukagawa et al. 1996. В другом исследовании утверждается, что уровень гомоцистеина у матерей возрастной группы 40-42 года после родов и до беременности взаимосвязан с рождением детей низкой массы тела. Обнаружено, что при уровне гомоцистеина у матери более 10,7 мкмоль/л в два раза чаще рождаются дети массой тела менее 1500 г. T.K. Eskes 2000. A.M. Cotter et.al., сообщают, что у женщин с гестозом и уровнем гомоцистеина 7,8 мкмоль и более на 16 неделе гестации рождаются дети меньшей массы тела по сравнению с беременными с гестозом, у которых уровень гомоцистеина в данном гестационном сроке был меньше, чем 7,8 мкмоль/л. Подобные результаты получены и у беременных гестационного срока 8 и 20 недель R.M. Sikot et al. 2001. В работе Infante-Rivard et al. показано, что масса ребенка при рождении увеличивается на 178,1 г (92,5-263,7; ДИ 95%) при увеличении концентрации гомоцистеина у матери в гестационном сроке 36-40 недель каждые 5 мкмоль.

В доступной современной литературе отсутствуют сведения о характере влияния колебаний уровня гомоцистеина и его метаболитов во втором и третьем триместрах беременности на частоту рождения маловесных детей [29, 39, 46, 55, 61]. Это послужило мотивом для более детального исследования, в ходе которого мы оценили достоверность корреляционных связей между массой новорожденных при рождении и уровнем гомоцистеина и его метаболитов в крови женщин в различные сроки беременности, определили возможность использования концентрации данных аминокислот в крови

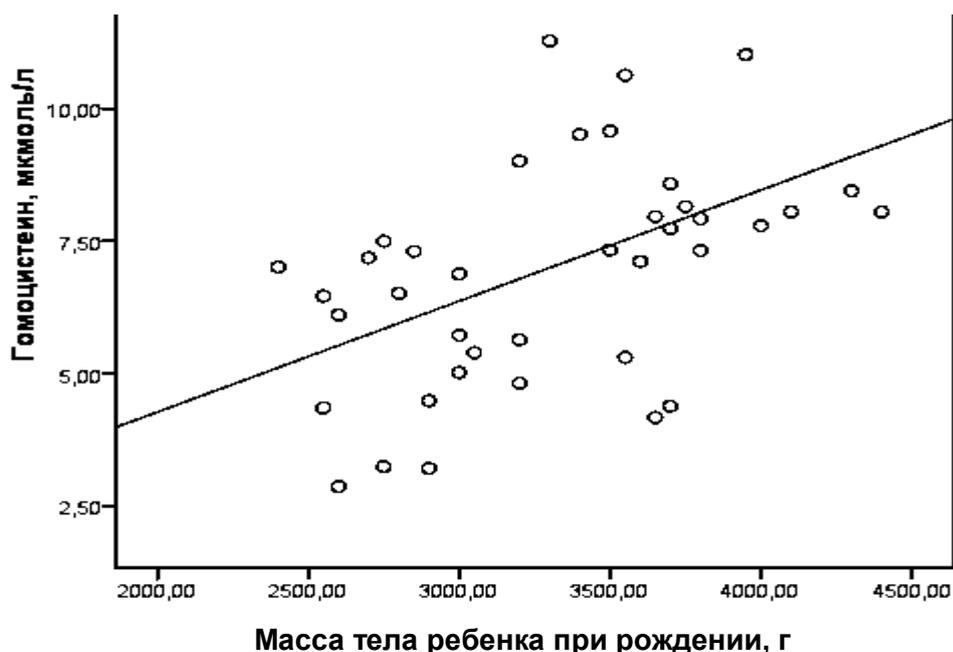
женщин различных сроков гестации для прогнозирования массы тела новорожденных.

### 6.3.1 Корреляционные связи между массой новорожденного при рождении и уровнем гомоцистеина и его метаболитов

Путем анализа взаимоотношения концентрации гомоцистеина в различные сроки и весом новорожденного нами выявлена достоверная отрицательная корреляция между этими параметрами у беременных гестационного срока 19-24 недели ( $r = -0,483$ ,  $p = 0,002$ ) (рисунок 6.16). Далее, между уровнем гомоцистеина у матери на сроке беременности 25-28 и 29-33 недели и весом новорожденного достоверная корреляция отсутствует. Коэффициент Пирсона составил 0,083 ( $p = 0,616$ ) для группы 25-28 недель беременности и 0,029 ( $p = 0,860$ ) для группы 29-33 недели гестации. В то же время, обнаружена положительная корреляционная связь между весом ребенка при рождении и концентрацией гомоцистеина у матери в сроке гестации 34-38 недель ( $r = 0,49$ ,  $p = 0,001$ ) (рисунок 6.17).



**Рисунок 6.16 – Корреляционные связи между концентрацией гомоцистеина в крови беременных в гестационном сроке 19-24 недели и весом новорожденного**

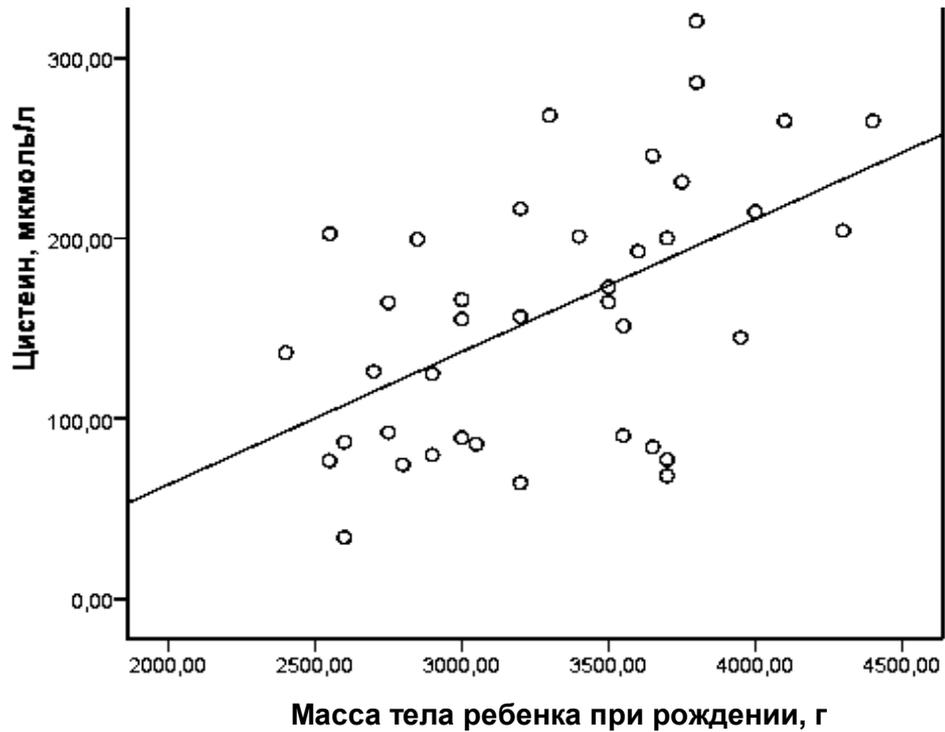


**Рисунок 6.17 – Корреляционные связи между концентрацией гомоцистеина в крови беременных в гестационном сроке 34-38 недель и весом новорожденного**

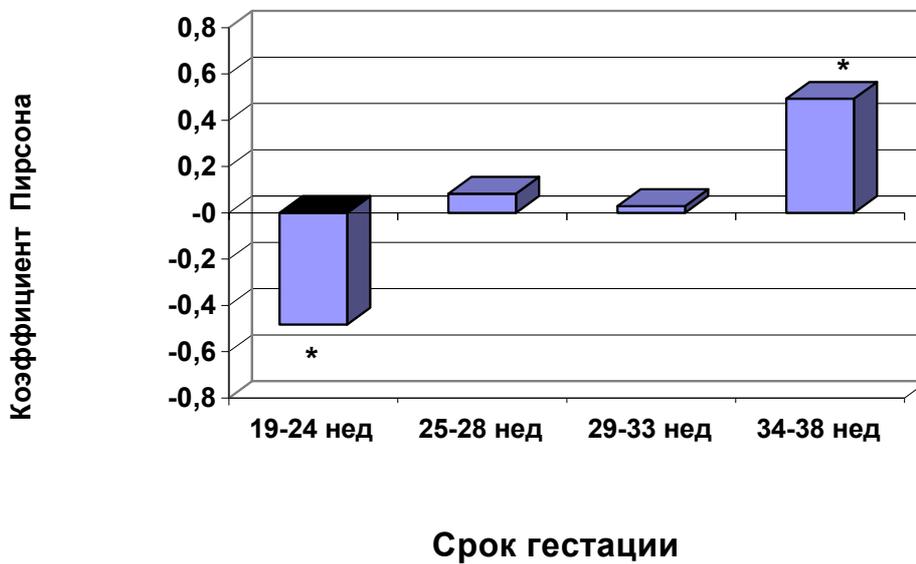
Достоверных корреляционных связей между весом новорожденных и концентрацией в крови беременных исследуемых гестационных сроков цистеинилглицина и глутатиона обнаружено не было.

Выявлена положительная корреляция между концентрацией цистеина в сроке беременности 34-38 недель и весом новорожденного ( $r=0,533$ ,  $p<0,001$ ) (рисунок 6.18).

Суммируя приведенные выше данные, можно сделать вывод о том, что вес ребенка при рождении коррелирует с концентрацией гомоцистеина у матери, однако характер этих корреляционных связей зависит от того, в каком гестационном сроке определялся уровень гомоцистеина (рисунок 6.16, 6.17). Так, масса новорожденного обратно пропорционально зависит от концентрации гомоцистеина у беременных гестационного срока 19-24 недели и прямо пропорционально от концентрации этой аминокислоты у женщин на 34-38 неделе беременности (рисунок 6.19). Нами обнаружена достоверная положительная корреляция уровня цистеина в крови женщин гестационного срока 34-38 недель и массой тела ребенка при рождении.



**Рисунок 6.18 – Корреляционные связи между концентрацией цистеина в крови беременных в гестационном сроке 34-38 недель и весом новорожденного**



\* – корреляция при уровне достоверности  $p < 0,01$

**Рисунок 6.19 – Корреляционные связи между концентрацией гомоцистеина в крови пациенток с ХПН в разные сроки гестации и весом новорожденного**

### **6.3.2 Оценка вероятности рождения детей с низкой массой тела путем использования значений концентраций гомоцистеина и его метаболитов в крови женщин в разные сроки гестации**

Учитывая полученные достоверные корреляционные связи между весом новорожденных и уровнем некоторых метаболитов обмена гомоцистеина в крови матерей, мы предположили возможность применения определения концентрации гомоцистеина в крови у беременных на 19-24 неделе гестации и уровня цистеина и гомоцистеина у женщин 34-38 недель беременности для оценки вероятности рождения ребенка с низкой массой тела. Для проверки такой возможности использовали метод построения характеристических кривых (ROC-кривые). В качестве критерия низкой массы тела новорожденного выбрали значение массы менее 25 перцентиля, которое включало новорожденных с массой тела менее 3000 г.

При анализе характеристических кривых было установлено, что определение концентрации гомоцистеина в крови беременных гестационного срока 19-24 недели и 34-38 недель, а также цистеина у женщин 34-38 недель беременности может эффективно использоваться для определения вероятности рождения ребенка с массой тела менее 3000 г, поскольку во всех случаях площади под ROC кривыми значимо отличались от площади под кривой, соответствующей неэффективному тесту (таблица 6.3).

В связи с тем, что максимальная площадь под кривой ROC нами получена для концентрации гомоцистеина в крови беременных 19-24 недели гестации, для дальнейшего анализа были отобраны женщины именно этого срока беременности. И следующей нашей задачей было на основании определения уровня гомоцистеина у беременных в сроке гестации 19-24 недели разработать эффективные критерии прогнозирования рождения у этих беременных в последующем маловесных детей (весом менее 3000 г). Для этих целей мы использовали методы кластерного и дискриминантного анализа, а также критерии доказательной медицины (метод оценки фактора риска).

Таблица 6.3 – Показатели площади под ROC-кривой при использовании определения концентраций гомоцистеина и цистеина в крови беременных в разных сроках для оценки вероятности рождения детей с массой тела менее 3000 г

Показатель	Площадь под ROC-кривой	Стандартное отклонение	P	ДИ, 95%
Гомоцистеин, 19-24 недели	0,903	0,057	> 0,001	0,790 – 1,000
Гомоцистеин, 34-38 недель	0,798	0,070	0,003	0,660 – 0,935
Цистеин, 34-38 недель	0,753	0,077	0,012	0,601 – 0,905

Примечания:

1. P – вероятность ошибки отличия площади выполненных тестов от площади соответствующей тесту с абсолютной диагностической неэффективностью (площадь под кривой – 0,5)

2. ДИ 95% – доверительный интервал для среднего значения площади, рассчитанный для 95% вероятности

Под наблюдением находилось 40 беременных женщин гестационного срока 19-24 недели, из которых 30 беременных были с диагностированной хронической плацентарной недостаточностью, а у 10 беременность протекала без осложнений. Всем женщинам определялся уровень гомоцистеина и в дальнейшем, после родов, оценивалась масса тела новорожденных.

Статистическая обработка полученных результатов производилась с использованием корреляционного (коэффициент Пирсона), кластерного и дискриминантного анализа, а также критериев доказательной медицины оценки факторов риска: риск развития при наличии фактора риска, риск развития при отсутствии фактора риска, абсолютная разность рисков (АР), относительный риск (ОР), снижение относительного риска (СОР), шансы развития заболевания при наличии фактора риска, шансы развития заболевания при отсутствии фактора риска, отношение шансов (ОШ), объяснимый или атрибутивный риск.

Средняя концентрация гомоцистеина у беременных женщин с ХПН в сроке 19-24 недели была достоверно выше (на 30%), по сравнению с этим показателем для здоровых беременных в аналогичном сроке гестации. В группе здоровых

беременных только у одной женщины родился ребенок массой тела менее 3000 г (2950 г), при этом концентрация гомоцистеина у нее в гестационном сроке 160 дней составила 8,15 мкмоль/л (таблица 6.4).

Таблица 6.4 – Концентрация гомоцистеина в крови беременных гестационного срока 19-24 недели и частота рождения у них детей с массой тела до 3000 г

Показатель		Клинические группы	
		беременные с ХПН, N=30	здоровые беременные, N=10
Гомоцистеин, мкмоль/л	M±m	6,22±0,29*	4,78±0,49
	ДИ, 95%	5,63 – 6,82	3,68 – 5,89
	Макс-мин	3,62 – 10,51	2,79 – 8,15
Число новорожденных с массой тела менее 3000г	Абс	8	1
	%	26,6	10
	ДИ, 95%	10,7 – 42,4	0 – 28,5

Примечания:

1. \* – достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по сравнению со здоровыми беременными;
2. ДИ, 95% – доверительный интервал для 95% вероятности;
3. M – среднее значение в группе наблюдения, m – ошибка среднего

Как уже указывалось, нами выявлена отрицательная корреляционная связь между уровнем гомоцистеина в крови беременных в гестационном сроке 19-24 недели и массой тела новорожденных. Далее нашей задачей было определение критерия классификации уровня гомоцистеина беременных женщин в зависимости от риска рождения детей с массой тела менее 3000 г. На основании кластерного анализа с использованием классификационных признаков концентрации гомоцистеина в крови и исхода (вес тела новорожденных –  $< 3000$  г или  $\geq 3000$  г) беременные женщины гестационного срока 19-24 недели были разделены на две группы (кластеры). В качестве исхода нами использовалось значение массы тела родившихся детей: 0 – масса тела новорожденного 3000 г и более, 1 – масса тела новорожденного менее 3000 г. Средняя концентрация гомоцистеина в группе женщин, у которых значение исхода равнялось нулю, составила  $4,73 \pm 0,84$  мкмоль/л, в эту группу были включены 23 женщины. Вторая группа включала 17 женщин, у которых значение исхода было равно единице, средняя концентрация гомоцистеина в

этой группе составила  $7,39 \pm 1,24$  мкмоль/л. Далее путем дискриминантного анализа мы составили уравнения функций (6.1) и (6.2), при помощи которых можно, ориентируясь на уровень гомоцистеина в крови беременных в гестационном сроке 19-24 недели, определить вероятность рождения у беременных маловесных детей.

$$F_0 = -11,1 + 4,48 [\text{гомоцистеин, мкмоль/л}] \quad (6.1)$$

$$F_1 = -26,8 + 7,00 [\text{гомоцистеин, мкмоль/л}] \quad (6.2)$$

где  $F_0$  – дискриминантная функция для женщин с низким риском рождения маловесного ребенка;  $F_1$  – дискриминантная функция для женщин с высоким риском рождения маловесного ребенка.

Помещая значение уровня концентрации гомоцистеина в крови беременной на сроке гестации 19-24 недели в уравнения, определяем значения функций. Далее сравниваем значения  $F_0$  и  $F_1$ . Если  $F_0$  меньше  $F_1$ , то для данной беременной имеется риск рождения ребенка с массой тела менее 3000 г. Общий процент корректности классификации по построенным функциям составил 97,5%.

Используя разработанный алгоритм, мы определили, что точкой разделения является концентрация гомоцистеина 6,2 мкмоль/л. Таким образом, концентрация гомоцистеина 6,2 мкмоль/л и более в крови беременной срока гестации 19-24 недели является фактором риска рождения у этой женщины ребенка массой тела менее 3000 г.

По данным анализа концентрации гомоцистеина и числа новорожденных с массой тела менее 3000 г мы составили таблицу, при помощи которой определили основные критерии оценки уровня гомоцистеина как фактора риска рождения маловесных детей (таблицы 6.5 и 6.6).

Таблица 6.5 – Оценка концентрации гомоцистеина в крови беременных гестационного срока 19-24 недели как фактора риска рождения маловесных детей

Фактор риска	Число новорожденных	
	с массой < 3000 г	с массой $\geq 3000$ г
Гомоцистеин $\geq 6,2$ мкмоль/л	9	5
Гомоцистеин < 6,2 мкмоль/л	2	24

Таблица 6.6 – Оценка диагностической значимости концентрации гомоцистеина в крови беременных в гестационном сроке 19-24 недели как фактора риска рождения детей с массой тела менее 3000 г

Показатель	Значение
Риск рождения маловесного ребенка при уровне гомоцистеина $> 6,22$ мкмоль/л	0,642857
Риск рождения маловесного ребенка при уровне гомоцистеина $< 6,22$ мкмоль/л	0,076923
Абсолютная разность рисков APP (ARD)	0,565934
Относительный риск ОР (RR)	8,357143
Снижение относительного риска COP (RRR)	-7,35714
Шансы рождения маловесного ребенка при уровне гомоцистеина $>6,22$ мкмоль/л	1,8
Шансы рождения маловесного ребенка при уровне гомоцистеина $<6,22$ мкмоль/л	0,083333
Отношение шансов ОШ (OR)	21,6
Объяснимый или атрибутивный риск	0,880342

Из данных таблицы 6.5 видно, что риск рождения ребенка с массой тела менее 3000 г у женщин, у которых концентрация гомоцистеина  $\geq 6,2$  мкмоль/л в сроке гестации 19-24 недели более чем в 8 раз выше по сравнению с беременными, у которых уровень этого показателя в данном гестационном сроке был менее 6,2 мкмоль/л.

Как уже указывалось, хроническая плацентарная недостаточность является одним из факторов риска рождения маловесных детей [28, 47,62]. Этот факт подтверждается и результатами нашего исследования: нами показано наличие корреляционных связей между уровнем гомоцистеина в крови беременных и массой тела новорожденных. Причем, характер и выраженность этих связей зависит от срока беременности матери, в котором определялась концентрация этой аминокислоты. Масса новорожденного обратно пропорционально зависит от концентрации гомоцистеина у беременных гестационного срока 19-24 недели и прямо пропорционально от концентрации данной аминокислоты у женщин на 34-38 неделе беременности. Учитывая полученные данные, мы предположили возможность применения оценки уровня гомоцистеина у беременных с ХПН для выявления группы рис-

ка по рождению маловесных детей. С помощью методов доказательной медицины, а также методов кластерного и дискриминантного анализа нами доказано, что наиболее эффективным для этих целей является определение уровня гомоцистеина в сроке гестации 19-24 недели, а критерием, на основании которого можно отнести беременную к группе риска, является концентрация гомоцистеина [66].

## 6.7 Выводы

Концентрация гомоцистеина ( $r=0,555$ ,  $p<0,001$ ) и цистеина ( $r=0,381$ ,  $p=0,036$ ) при физиологическом течении беременности ниже, чем у здоровых небеременных женщин, при этом уровень содержания гомоцистеина и цистеина нарастает, положительно коррелируют со сроком гестации, и к концу 3-го триместра беременности не отличается от такового у здоровых небеременных женщин. Содержание гомоцистеина в сыворотке крови при нормально протекающей беременности положительно коррелирует с величиной соотношения прогестерон/эстриол, а также со сроком гестации ( $r=0,789$ ,  $p<0,001$ ). У женщин с ХПН статистически значимый рост гомоцистеина начинается со 2-го триместра беременности, достоверный по отношению к группе здоровых беременных соответствующего гестационного срока. Уровень прогестерона у женщин с ХПН достоверно ниже по сравнению с таковым у женщин с нормально протекающей беременностью на всех сроках гестации, в то время как уровень эстриола у женщин с ХПН достоверно ниже в начале 2-го и в конце 3-го триместров. Содержание гомоцистеина в сыворотке крови на протяжении 2-го и 3-го триместров как у женщин с нормально протекающей беременностью, так и с беременностью, осложненной ХПН, положительно коррелирует с величиной соотношения прогестерон/эстриол, а также со сроком гестации.

Концентрация гомоцистеина в крови беременных гестационного срока 19-24 недели отрицательно коррелирует с массой ребенка при рождении и уровень этой аминокислоты в крови беременных данного гестационного срока  $\geq 6,2$  мкмоль/л является значимым фактором риска рождения у них

маловесных детей (риск рождения маловесного ребенка при уровне гомоцистеина  $\geq 6,2$  мкмоль/л = 0,642857; риск рождения маловесного ребенка при уровне гомоцистеина  $< 6,2$  мкмоль/л = 0,076923; шансы рождения маловесного ребенка при уровне гомоцистеина  $\geq 6,2$  мкмоль/л = 1,8; шансы рождения маловесного ребенка при уровне гомоцистеина  $< 6,22$  мкмоль/л = 0,083333) [66].

### Литература

1. Афанасьева, Н.В., Исходы беременности и родов при фетоплацентарной недостаточности различной степени тяжести / Н.В. Афанасьева, А.Н. Стрижаков // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004. – Т. 3. № 2. – С. 7–13.
2. Барашнев, Ю.И. Ключевые проблемы перинатальной неврологии / Ю.И. Барашнев // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 5. – С. 51-54.
3. Баркова, С.Н. Значение доплерографии кровотока в венах плода при неосложненной беременности и при задержке внутриутробного развития плода : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1999. – 22 с.
4. Бурлев, В.А. Современные технологии в прогнозировании плацентарной недостаточности / В.А. Бурлев, З.С. Зайдиева, В.Л. Тютюнник // Первый Международный конгресс по репродуктивной медицине, Москва, 8-12 июня 2006 г. / под ред. Л.В.Адамян. – М., 2006. – С. 197-198.
5. Бычков, И.В. Диагностика и лечение хронической фетоплацентарной недостаточности / И.В. Бычков, Е.Е. Образцова, С.В. Шамарин // Акушерство и гинекология. – 1999. – № 6. – С. 3-6.
6. Вильчук, К.У. Перспективные направления научных исследований в области охраны материнства и детства / К.У. Вильчук // Первый съезд ученых Республики Беларусь: сборник материалов, 1-2 нояб. 2007г., Минск: тез. Док. редкол.: А.Н. Косынец [и др.]. – Минск: Белорус. наука, 2007. – С. 487-493.
7. Внутриутробная задержка развития плода. Ведение беременности и родов / Г.М. Савельева [и др.] // Акушерство и гинекология. – 1999. – № 3. – С. 10-15.
8. Диагностика и лечение плацентарной недостаточности: учеб. пособие / О.Н. Аржанова [и др.]; под. ред. Э.К. Айломазяна;

НИИ акушерства и гинекологии Рос. акад. наук, С.-Петербург. гос. ун-т. – СПб., 2004. – 31 с.

9. Кельмансон, И.А. Низковесный новорожденный и отсроченный риск кардиореспираторной патологии / И.А. Кельмансон // Санкт-Петербург: СпецЛит, 1999. – С. 154.

10. Косинец, А.Н. Роль здравоохранения в реализации демографической политики в Республике Беларусь / А.Н. Косинец, В.П. Руденко, В.П. Подпалов // Здравоохранение. – 2004. – №4. – С. 4-9.

11. Макацари, А.Д. Гипергомоцистеинемия и осложнения беременности / А.Д. Макацари // М., 2006. – С.147.

12. Милованов, А.П. Патология системы мать–плацента–плод: рук. для врачей / А.П. Милованов. – М.: Медицина, 2001. – 147 с.

13. Милованов, А.П. Функциональная морфология и механизмы регуляции плацентарно-плодового кровотока / А.П. Милованов // Вестн. Рос. ассоц. акушеров-гинекологов. – 1999. – № 2. – С. 50-55.

14. Можейко, Л.Ф. Плацентарная недостаточность: этиопатогенез и диагностика. / Л.Ф. Можейко, И.В. Тихоненко // Медицинская панорама. – №59(73). – 2007. – С. 11-16.

15. Пересада, О.А. Плодовые потери в антенатальном периоде / О.А.Пересада, Г.С. Котова // VII съезд акушеров-гинекологов и неонатологов Республики Беларусь : материалы съезда, Гродно, 13-14 нояб. 2002г. : в 2 т. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: Г.И. Герасимович [и др.]. – Гродно, 2002. – Т. 2. – С. 15-19.

16. Плацентарная недостаточность / Г.М. Савельева [и др.] ; под общ. ред. Г.М. Савельевой. – М.: Медицина, 1991. – 271 с.

17. Плоцкий, А.Р., Диагностическое значение определения уровня гомоцистеина для выявления пороков развития плода: автореф. дис. ... д-ра мед наук. – Гродно, 2008. – 24 с.

18. Радзинский, В.Е. Биохимия плацентарной недостаточности / В.Е. Радзинский, П.Я. Смалько. – М.: Издательство Рос. унив. дружбы народов, 2001. – С. 396.

19. Савельева, Г.М. Плацентарная недостаточность / Г.М. Савельева // М: Медицина, 2001. – 272 с.

20. Серов, В.Н. Диагностика и терапия плацентарной недостаточности / В.Н. Серов // Рус. мед. журн. – 2002. – Т. 10, № 7. – С. 340-343.

21. Сидорова, И.С. Фетоплацентарная недостаточность: клинико-диагностические аспекты / И.С. Сидорова. – М.: Знание-М, 2000. – 127 с.
22. Acid–base regulation and control of ventilation in human pregnancy / L.A. Wolfe [et al.] // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1998. – Vol. 76. P. 815-827.
23. A longitudinal study of respiratory changes in normal human pregnancy with cross-sectional data on subjects with pregnancy-induced hypertension / G.B. Rees [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1990. – Vol. 162, P. 826-830.
24. American college of Obstetricians and Gynecologists. Intrauterine growth restriction // *ACOG Pract. Bull.* – 2000 – N 12. – P. 12.
25. Angiogenesis and intrauterine growth restriction / A. Ahmed [et al.] // *Bailliere's Best Practice & Research. Clinical Obstetrics & Gynaecology.* – 2000. – Vol. 14, №6. – P. 981-998.
26. A novel approach to the management of pregnancies complicated by uteroplacental insufficiency and previous stillbirth / K.O. Oyelese [et al.] // *The Austral. & New Zealand J. of Obstetrics & Gynaecology.* – 1998. – Vol. 38, № 4. – P. 391-395.
27. Antenatal therapy for intrauterine growth retardation / J.E. Harding [et al.] // *Acta Paediatrica.* – 1997. – Vol. 423, suppl. – P. 196-200.
28. Arabin, B. From biochemical to biophysical placental function tests in fetal surveillance / B. Arabin // *Am J Perinatol* – 1995. – Vol. 12, №3. – P. 168-171.
29. Atmaca, G. Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids / G. Atmaca // *Yonsei Med J.* – 2004. – Vol. 31, № 45 (5). – P. 776-788.
30. Detection of the small fetus in need of antepartum surveillance / A.A. Baschat, C.P. Weiner // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2000. – Vol. 182. – P. 154.
31. Bernstein, P.S. Etiologies of fetal growth restriction / P.S. Bernstein, M.Y. Divon // *Clin.Obstet. Gynecol.* – 1997. – Vol. 40. – P. 723
32. Birth weight percentiles by gestational age in Canada / T.E. Arbuckle // *Obstet. Gynecol.* – 1993. – Vol. 81. – P. 39.
33. Combining 2nd-Trimester Maternal Serum Homocysteine Levels and Uterine Artery Doppler for Prediction of Preeclampsia and Isolated Intrauterine Growth Restriction / R. Onalan [et al.] // *Gynecol Obstet Invest.* – 2006. – Vol. 61. – P. 142-148

34. Delivoria-Papadopoulos M. & McGowan JE (1998) Oxygen transport and delivery. In: (eds Polin RA, Fox WW) *Fetal and Neonatal Physiology*. W. B. Saunders Company, Philadelphia. – 1998. – P. 1105-1117.
35. Diagnosis of intrauterine growth retardation by a simple clinical method: measurement of uterine height / J.M. Belizan [et al.] // *Ibid.* – 1978. – Vol. 131. – P. 643.
36. Effectiveness of antenatal steroids in obstetric subgroups/ A. Elimian [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 1999. – Vol. 93. – P. 174.
37. Effect of gestational age on fetal and intervillous blood gas and acid-base values in human pregnancy / P. W. Soothill [et al.] // *Fetal Therapy*. – 1986. – Vol. 1. – № 4. – P. 168-175.
38. Effects of reductions in hemoglobin-oxygen affinity and hematocrit level on oxygen consumption and acid-base state in fetal lambs / D.I. Edelstone [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 1998. – Vol. 160. – № 4. – P. 820-826.
39. Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: a risk factor for the development of nonsevere preeclampsia / A.M. Cotter [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2003. – Vol. 189. – P. 391-396.
40. Enzymes and metabolites of cysteine metabolism in non-hepatic tissues of rats show little response to changes in dietary protein or sulfur amino acid levels / M. H. Stipanuk [et al.] // *J Nutr.* – 2002. – Vol. 132, № 11. – P. 3369 – 3378.
41. Ferguson, A.C. Prolonged impairment of cellular immunity in children with intrauterine growth retardation / A.C. Ferguson // *J. Pediatr.* – 1978. – Vol. 93. – P. 52.
42. Fetal biometry at 4300 m compared to sea level in Peru / E. Krampfl [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2000. – Vol. 16. – P. 9-18.
43. Fetal growth retardation: associated malformations and chromosomal abnormalities / R.J. Snijders // *Ibid.* – 1993. – Vol. 168. – P. 547.
44. Hakanson, D.O. Hyperviscosity in the small-for-gestational age infant / D.O. Hakanson, W. Oh // *Biol. Neonate.* – 1980. – Vol. 37. – P. 109.
45. Hakanson, D.O. Outcome of very preterm small for gestational age / D.O. Hakanson, W. Oh // *Biol. Neonate.* – 1994. – Vol. 41. – P. 112.
46. Holtrop, P.C. The frequency of hypoglycaemia in full-term large and small for gestational age newborns / P.C. Holtrop // *Am. J. Perinatol.* – 1993. – Vol. 10. – P. 150.

47. Hypoxemic Fetoplacental Vasoconstriction: A Graduated Response to Reduced Oxygen Conditions in the Human Placenta / R. Ramasubramanian [et al.] // *Anesth Analg.* – 2006. – Vol. 103, No. 2. – P. 439-442.

48. Jensen, G.M. The effect of high altitude and other risk factors on birthweight: independent or interactive effects? / G.M. Jensen, L.G. Moore // *Am J Public Health.* – 1997. – Vol. 87. – P. 1003-1006.

49. Low dose aspirin for the treatment of fetal growth restriction: a randomized controlled trial / J.P. Newnham [et al.] // *Aust. N.Z. J. Obstet. Gynaecol.* – 1995. – Vol. 35. – P. 370.

50. Low Oxygen Concentrations Inhibit Trophoblast Cell Invasion from Early Gestation Placental Explants via Alterations in Levels of the Urokinase Plasminogen Activator System. Gendie E. Lash, Harry A. Otun, Barbara A. Innes, Judith N. Bulmer, Roger F. Searle, and Stephen C. Robson *Biol. Reprod.* – 2006, Vol. 74. – P. 403-409.

51. Longitudinal vitamin and homocysteine levels in normal pregnancy / R.M. Cikot [et al.] // *Br J Nutr.* – 2001. – Vol. 85. – P. 49–58

52. Mannin, F.A. Intrauterine growth retardation / F.A. Manning // *Fetal Medicine: Principles and Practice.* – Norwalk : Appleton and Lange, 1995. – Vol. 38. – P. 733

53. Maternal Homocysteine before Conception and throughout Pregnancy Predicts Fetal Homocysteine and Birth Weight / M. M. Murphy [et al] // *Clinical Chemistry.* – 2004. – Vol 50, N 8. – P. 1406–1412

54. Maulik, D. Doppler ultrasound velocimetry for fetal surveillance / D. Maulik // *Clin. Obstet. Gynecol.* – 1995. – Vol. 38. – P. 91.

55. Mechanisms of homocysteine-induced oxidative stress / N. Tyagi [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2005. – Vol. 289, № 6. – P. 2649 – 2656.

56. Modulation of methyl group metabolism by streptozotocin-induced diabetes and all-trans-retinoic acid / K. M. Nieman [et al.] // *J Biol Chem.* – 2004. – Vol. 29, № 279 (44). – P. 45708-45712

57. Moore, L.G., McCullough, R.E., and Weil, J.V. 1987. Increased HVR in pregnancy: relationship to hormonal and metabolic changes. *J. Appl. Physiol.* 62: 158–163

58. Ott, W.J. Intrauterine growth restriction and Doppler ultrasonography / W.J. Ott // *J. Ultrasound Med.* – 2000. – Vol. 19. – P. 661.

59. Outcome of very preterm small for gestational age infants: the first nine years of life / J.H. Kok [et al.] // Br. J. Obstet. Gynaecol. – 1998. – Vol. 105. – P. 162.

60. Perinatal growth in symmetric and asymmetric small-for-gestational-age infants / T. Vik [et al.] // Early Hum.Dev. – 1997. – Vol. 48. – P. 167.

61. Resnik, R. Intrauterine growth restriction / R. Resnik // Obstet. Gynecol. – 2002. – Vol. 99. – P. 490.

62. Respiratory function during pregnancy / S. M. Liberatore [et al.] // Respiration. – 1984. – Vol. 46. – P. 145-150.

63. The effects of hypoxia and hyperoxia on fetal-placental vascular tone and inflammatory cytokine production / B.T. Pierce [et al.] // Am J Obstet Gynecol. – 2001. – Vol. 185. – P.1068-1072.

64. Wennergren, M. Obstetric characteristics and neonatal performance in a four-year small for gestational age population / M. Wennergren [et al.] // Obstet. Gynecol. – 1988. – Vol. 72. – P. 615.

65. Novel reductant for determination of total plasma homocysteine/ V.M.Gilfix [et al.] // Clin Chem. – 1997. – Vol.43, №4. – P.687-688

66. Способ оценки риска рождения маловесного для гестационного возраста ребенка у женщины с хронической плацентарной недостаточностью: патент № 20090417 / Т.В.Янушко, Т.Ю.Егорова, В.М.Шейбак, А.В.Наумов, Е.М.Дорошенко; заявитель Гродненский медуниверситет. – № а 20090417; заявл. 20.03.09; опубл. 30.05.2011.

## Глава 7

# ГОМОЦИСТЕИН И ВРОЖДЕННЫЕ ПОРОКИ РАЗВИТИЯ ПЛОДА

### 7.1. Введение и краткий обзор литературы

Среди причин перинатальной смертности в Республике Беларусь врожденные пороки развития (ВПР) плода занимают ведущие позиции, пропуская вперед лишь внутриутробные инфекции и состояния, характерные для перинатального периода [1]. Встречаемость врожденных аномалий развития у плода не имеет тенденции к снижению, что характерно не только для Беларуси, но и для России [2].

Интерес к изучению роли гомоцистеина в генезе пороков развития плода связан с трудностями ранней диагностики данных состояний, необходимостью выяснения этиологии возникающих нарушений, поиска эффективных методов профилактики ввиду значительных экономических затрат на лечение детей с врожденными аномалиями.

В настоящее время основным методом диагностики врожденных пороков развития плода является ультразвуковое исследование, определенными преимуществами которого являются доступность, быстрота выполнения и отсутствие доказанных фактов вредного воздействия на плод. Однако, несмотря на все достоинства, возможности эхографии ограничены, что связано с наличием сопутствующего маловодия, выраженной угрозы прерывания беременности, «неудобного» для исследователя положение плода, избыточной массой тела пациенток, поздней манифестацией отдельных аномалий [3]. Значительную роль играют качество используемой аппаратуры и опыт исследователя [4, 5]. И хотя в Республике Беларусь ежегодно прерывается около 500-600 беременностей с некурабельными пороками, врожденные аномалии развития плода сохраняют лидирующее положение не только в структуре перинатальной и младенческой смертности, но и, что особенно важно, в структуре первичной детской инвалидности. Незна-

чительное место в выявлении врожденных аномалий занимают инвазивные методы диагностики, к которым относятся амниоцентез, биопсия ворсин хориона, кордоцентез. Однако эти методы способствуют выявлению лишь хромосомных аномалий, удельный вес которых в структуре всех пороков развития невелик [6]. Чаще всего в патологический процесс вовлечены гены, а не хромосомы. Установлено, что риск возникновения пороков развития плода повышается при увеличении возраста родителей, наличии отягощенной наследственности, неполноценном питании, метаболических нарушениях (сахарный диабет), воздействии тератогенов, медикаментов и т.д. [7]. К сожалению, механизмы повреждения генетического аппарата начали изучаться сравнительно недавно, и поэтому биохимические основы воздействия неблагоприятных факторов, приводящие к изменению функционирования клетки, требуют тщательного рассмотрения.

Диагностика врожденных пороков развития с помощью биохимических методов практически не применяется в повседневной работе акушеров-гинекологов и генетиков. Исключением может служить лишь определение уровня  $\alpha$ -фетопротеина,  $\beta$ -субъединицы хорионического гонадотропина и плазменного протеина А, ассоциированного с беременностью (РАРР-А) для диагностики определенного круга аномалий. Разработанные биохимические методы для выявления генных аномалий (болезнь Тея-Сакса, мукополисахаридозы, патология системы гемостаза и пр.) используются лишь при обоснованном подозрении на возможное возникновение этих состояний с учетом данных об отягощенной наследственности либо уже наличия случая рождения в семье ребенка с подобной патологией. Проведение диагностики этих заболеваний является довольно дорогостоящей процедурой и в качестве скрининга не приемлема даже для экономически высоко развитых стран.

Тем не менее, скрининг необходим, поскольку, несмотря на наличие факторов риска, в отношении которых доказана неблагоприятная роль в формировании врожденных пороков развития плода, пороки возникают, к сожалению, у молодых женщин с неотягощенной наследственностью, без нали-

чия метаболических нарушений и в отсутствие действия тератогенов. Отмечено, что при последующих беременностях у этих пациенток повторения возникновения врожденных аномалий плода не происходит. Видимо, существует иной механизм формирования пороков развития, не имеющий в основе морфологическое повреждение хромосомного аппарата клетки. Это еще раз свидетельствует о необходимости изучения биохимических механизмов, приводящих к формированию ВПР, и факторов, способствующих выявлению нарушенного клеточного метаболизма. Следует отметить также, что воспитание и содержание ребенка, родившегося с пороком развития, требует значительных финансовых затрат. Профилактические мероприятия обходятся обществу дешевле, нежели медицинская помощь, реабилитация, социальные выплаты для такого ребенка. К примеру, экономическая эффективность профилактики синдрома Дауна может достигать 100-кратного уровня по сравнению с расходами на содержание и лечение таких детей [6].

Все применяемые в настоящее время методы диагностики врожденных аномалий являются «констатирующими» и носят характер вторичной профилактики, направленной исключительно на выявление и элиминацию некурабельных пороков развития, либо последующую хирургическую коррекцию. Изучение биохимических основ предполагает принципиально иной подход к проблеме возникновения ВПР, поскольку выяснение и коррекция биохимических нарушений, приводящих к формированию врожденных аномалий, может носить характер первичной профилактики.

В настоящее время интенсивно изучается связь между гипергомоцистеинемией и возникновением пороков развития у плода. Была доказана способность фолатов оказывать протективный эффект в отношении возникновения пороков нервной трубки [8, 9]. Интересно, что первые косвенные литературные данные по этому вопросу относятся к 18 веку, когда датская акушерка в своих записях отметила увеличение количества детей с пороками центральной нервной системы после неурожайных годов [10] и преобладание этой патологии в среде беднейших слоёв населения. Подобные проявле-

ния часто являются следствием природных катаклизмов и войн [11].

Наибольшее внимание исследователей уделяется порокам формирования нервной трубки (*spina bifida*, анэнцефалия) ввиду огромной социальной значимости. Считается, что формирование пороков нервной трубки зависит от сочетанного воздействия факторов окружающей среды и генетической предрасположенности. Отмечается, что ведущим патогенетическим звеном в формировании данного вида аномалий служит дефицит фолиевой кислоты и/или витамина В<sub>12</sub> [12]. Owen et al (2000), проанализировав данные о пороках развития обсуждаемой группы, показали, что риск их формирования выше у матерей-подростков и у женщин с тремя и более беременностями в анамнезе. Первый факт объясняется дефицитом фолатов во время интенсивного роста подросткового организма, второй – дефицитом фолатов в результате повторных беременностей [13]. Помимо недостатка фолиевой кислоты, немаловажное значение имеет витамин В<sub>12</sub>, поскольку существуют литературные данные, доказывающие связь дефицита этого витамина с пороками нервной трубки [14]. Достаточные количества В<sub>12</sub> вместе с фолиевой кислотой играют важную роль в стабильности генома [15].

Серьезное значение, по мнению ряда исследователей [16, 17, 18], имеют нарушения ферментных систем, участвующих в метаболизме гомоцистеина и фолиевой кислоты. Наиболее изученным примером является полиморфизм гена MTHFR (С677→Т), катализирующего реакцию превращения 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат. Изучение мутаций в других ферментах, принимающих участие в реметилировании гомоцистеина [19, 20, 21], не привело к установлению их роли в генезе пороков нервной трубки.

Имеет значение накопление SAH в клетке и подавление трансметилирования в процессе нейруляции [8, 9, 12]. Дефекты замыкания нервной трубки при анэнцефалии или *spina bifida* связаны с нарушением миграции клеток эпителия под воздействием гомоцистеина в условиях дефицита кобаламина [22] и/или фолиевой кислоты, что может усугубляться на фоне полиморфизма гена MTHFR [9], а также возможным инги-

бирующим действием гомоцистеина на актиновые миофиламенты [23]. Оксидативный стресс, дефицит селена и нарушение биодоступности оксида азота также могут, по мнению некоторых авторов, играть роль в возникновении пороков нервной трубки [24]. Показано, что ингибирование *NO-синтазы* приводит к снижению активности *метионин синтазы*, ответственной за реметилирование гомоцистеина [25]. Нарушение продукции оксида азота ведет также к неадекватной васкуляризации экстраэмбриональных структур, ответственных за трофику эмбриона на ранних стадиях развития, в частности, имеет место подавление сосудистого эндотелиального фактора роста – vascular endothelial growth factor (VEGF) [26].

Учитывая важную роль фолиевой кислоты в обмене гомоцистеина, была разработана стратегия насыщения продуктов питания, главным образом, зерновых, фолатами. Известно, что фолиевая кислота быстро разрушается при хранении и кулинарной обработке, а из поливитаминных препаратов и обогащенных продуктов гораздо легче попадает в организм [8]. В США в 1993 году было принято постановление правительства (действует с 1998 года) о насыщении злаковых продуктов фолиевой кислотой [8]. Результаты исследований свидетельствуют об увеличении содержания фолатов в плазме крови и эритроцитах при одновременном снижении уровня гомоцистеина и метилмалоновой кислоты среди всех обследованных возрастных категорий [27]. По данным других авторов, отмечаемое повышение содержания в крови витаминов группы «В» привело к снижению частоты встречаемости пороков нервной трубки с 4,67 в 1992-1996 гг. до 1,01 в 1998-2002 гг. на 1000 живорожденных [28].

Происхождение врожденных пороков сердца (ВПС) имеет мультифакториальную природу, причем одним из факторов может являться нарушение обмена гомоцистеина. Ряд исследователей связывают патогенез врожденных пороков сердца с нарушением процесса реметилирования гомоцистеина [29, 30, 31]. Тем не менее, в крупном исследовании, изучавшем полиморфизм 32 генов, участвующих в метаболизме гомоцистеина и других патофизиологических процес-

сах (коагуляция, межклеточное взаимодействие, воспалительный ответ и регуляция артериального давления), не выявлено ассоциации полиморфизма MTHFR с пороками сердца [32]. Нарушения процессов транссульфурирования (обычно приводящие к тяжелым формам гипергомоцистеинемии) также могут иметь место при формировании пороков сердца, что находит свое отражение в литературных источниках [33].

Известно, что уровень гомоцистеина в плазме крови повышен при синдроме Дауна [34, 35, 36]. Неадекватное метилирование ДНК приводит к нарушению сегрегации хромосом во время мейоза. James et al. (1999) в своей работе установили, что большинство случаев рождения детей с синдромом Дауна произошло у женщин моложе 30 лет, хотя именно увеличение возраста является общеизвестным фактором риска хромосомных аномалий. Более того, авторы отметили, что наличие у этих женщин мутации MTHFR C677→T повышает риск рождения ребенка с синдромом Дауна в 2,6 раза [37]. Интересные данные в отношении дефицита фолатов приведены в работе японских авторов [38]. Япония считается благополучной страной в отношении обеспеченности витаминами, но так называемая «вестернизация» образа жизни, в том числе и в вопросах питания, привела к увеличению частоты встречаемости синдрома Дауна. Авторы связывают это с повышенным уровнем гомоцистеина в плазме крови обследованных ими женщин (39).

Нарушение обмена гомоцистеина при синдроме Дауна (трисомия 21) проявляется в том, что ген *цистатионин-β-синтазы* – фермента, катализирующего первый и необратимый шаг транссульфурирования (конденсация гомоцистеина с серином), находится именно на 21 хромосоме. При синдроме Дауна имеет место гиперэкспрессия этого гена, приводящая к избыточной активности транссульфурирования [35, 40]. Поскольку подавляющее количество образующегося гомоцистеина идет на наработку цистеина и имеет место *некоторое функциональное* угнетение процесса реметилирования [40, 41, 42], возникают два патогенных фактора – недостаток метионина и связанного с этим SAM, и избыток цистеина, что чрезвычайно неблагоприятно для клетки [43].

В последние годы появились работы, в которых возникновение расщелин верхней губы и твердого неба также связывают с дефицитом фолатов или с полиморфизмом генов фолатного обмена [44, 45]. Если допустить, что причиной формирования пороков нервной трубки и ВПС является недостаток витаминов группы «В», то остается непонятным, почему нет сочетания, к примеру, спинномозговой грыжи с «заячьей» губой. Эти состояния практически всегда встречаются изолированно друг от друга. Анэнцефалия сочетается с расщелиной верхней губы только в 2% (!) случаев [3]. Имеются указания на связь изменений в транспортном белке *транскобаламине* с формированием расщелин лица [46]. Не исключается и роль курения в сочетании с дефицитом фолиевой кислоты в генезе расщелин лица, поскольку оба этих фактора приводят к гипергомоцистеинемии, которая, в свою очередь, влияет на активность *НО-синтазы*. Было установлено, что полиморфизм гена *НО-синтазы* в сочетании с курением и дефицитом фолатов, приводит к повышенному риску рождения ребенка с изолированной расщелиной верхней губы [47]. Кроме того, по мнению Weingaertner et al., возможной причиной расщелин лица, помимо известных факторов, может быть субклинический дефицит витамина В<sub>6</sub>. [48]. Основные В<sub>6</sub>-зависимые ферменты транссульфирования (*цистатинин-β-синтаза* и *цистатинин-γ-лиаза*) также, вероятно, играют роль в генезе расщелин лица, причем в указанной работе делается акцент на полиморфизм этого гена, полученного плодом от матери, но не от отца. В этом случае риск дефектов лица повышается в 18,7 раза [49]. Литературные данные свидетельствуют о том, что в этой ситуации может иметь место нарушение метилирования при импринтинге, когда одна из аллелей полностью деметилируется и затем метилируется *de novo* [50]. Это подчеркивает важность обеспеченности витаминами В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub> и В<sub>12</sub> для процессов метилирования во время эмбриогенеза. Кроме того, иницируемый гомоцистеином и ионами меди, апоптоз играет неблагоприятную роль в процессе слияния твердого неба [51].

Этиология скелетных дисплазий в большинстве случаев остается неизвестной [3]. Считается, что причиной подобных

пороков могут быть хромосомные аномалии, генные мутации, воздействие тератогенов, синдром амниотических перетяжек. Имеется несколько работ, посвященных изучению нарушений обмена гомоцистеина при патологии скелета. В частности, сообщается о гипергомоцистеинемии при терминальных дефектах конечностей [52, 53] и изолированной косолапости [54]. В любом случае, требуется дальнейшее углубленное изучение патогенеза этого вида аномалий, в частности, влияние мутаций в различных генах, ответственных за метаболизм гомоцистеина и межклеточные взаимодействия во время эмбрионального развития [55].

Однако данные о значении повышенного уровня гомоцистеина (гипергомоцистеинемия) в генезе врожденных аномалий весьма противоречивы. Следует отметить, что практически отсутствуют сведения о роли его в возникновении диафрагмальных грыж, атрезий желудочно-кишечного тракта (атрезия пищевода, атрезия двенадцатиперстной кишки, атрезия ануса), поликистоза почек, шейных гигром, множественных врожденных аномалий. Несмотря на относительно редкую встречаемость, пациенты с диафрагмальной грыжей, атрезией пищевода или различными видами врожденной кишечной непроходимости требуют неоднократных хирургических вмешательств, длительного парентерального питания в послеоперационном периоде, а также повторных курсов реабилитационных мероприятий, что, однако, не всегда приводит к желаемому эффекту и выздоровлению этих детей [56]. Среди причин хронической почечной недостаточности у детей с необходимостью проведения гемодиализа ведущие позиции занимают врожденные пороки мочевыделительной системы [57]. Поэтому изучение этиологии и патогенеза подобных аномалий очень важно и с экономической точки зрения.

В литературных источниках также практически отсутствуют работы, касающиеся определения уровня гомоцистеина в околоплодных водах. К примеру, приводятся данные об уровне гомоцистеина в околоплодных водах при нормально протекающей беременности [44]. Имеются экспериментальные данные о повышенном уровне гомоцистеина и снижении

уровня витамина В<sub>12</sub> в околоплодных водах при расщелинах твердого неба [58]. Кроме того, проведены интересные исследования по изучению содержания гомоцистеина в околоплодных водах при пороках нервной трубки в зависимости от наличия полиморфизма гена MTHFR у матерей и плодов [59]. В соответствии с концепцией Van-Allen [8] нервная трубка первоначально замыкается в 5 различных точках и лишь затем сливается в единое целое (процесс нейруляции). Авторы установили, что повышенный уровень гомоцистеина в околоплодных водах в сочетании с полиморфизмом гена MTHFR C677→T ассоциируется с нарушением замыкания нервной трубки в затылочной и люмбосакральной области. Учитывая то, что имеет место интенсивный обмен между плодом и окружающей его средой, изучение концентрации гомоцистеина в амниотической жидкости также представляется интересным направлением диагностики.

## **7.2 Материал и методы исследования**

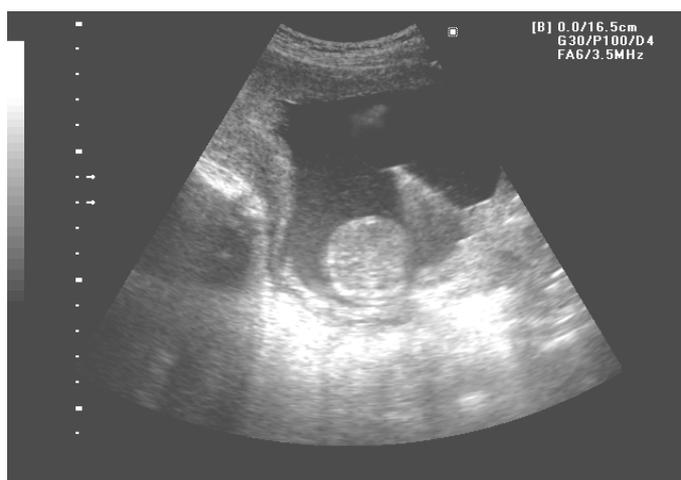
Проведено обследование 174 беременных женщин, которые были разделены на 3 группы: одну основную и две группы сравнения. Основную группу сформировали 104 пациентки, у которых при ультразвуковом исследовании или при использовании инвазивных методов пренатальной диагностики (амниоцентез, биопсия ворсин хориона) были выявлены врожденные пороки развития плода. Наличие пороков развития подтверждалось при патологоанатомическом исследовании в случае прерывания беременности по медико-генетическим показаниям в сроке 15-28 недель беременности либо при рождении плода с пороками развития и последующей верификацией диагноза различными клинико-лабораторными или инструментальными методами. Все обследованные женщины основной группы были разделены на подгруппы в зависимости от вида пороков развития у плода. У беременных основной группы исследовали кровь (плазму и отмытые эритроциты) и околоплодные воды. Группу сравнения составили 70 женщин, которые были разделены на 2 подгруппы. В первую подгруппу (группа сравнения «А») вошли 52 пациентки, которые родили живых доношенных детей без

каких-либо отклонений в развитии (у этих беременных исследовали плазму крови и отмытые эритроциты). У этих женщин не наблюдалось осложнений гестационного процесса, с которыми может быть ассоциирована гипергомоцистеинемия (гипертензивные расстройства, задержка внутриутробного развития плода, тромбофилические осложнения), вплоть до конца беременности и родов, что и явилось основанием для включения их в группу сравнения. Вторую подгруппу (группа сравнения «В») составили 18 пациенток, беременность у которых была прервана по немедицинским показаниям в сроке беременности 15-21 неделя, причем при патологоанатомическом исследовании абортусов врожденных аномалий развития выявлено не было. У пациенток данной подгруппы во время процедуры прерывания беременности были получены околоплодные воды, проводилось исследование их состава и сравнение его с составом околоплодных вод у пациенток основной группы в сопоставимые сроки беременности.

У всех беременных осуществлено стандартное общеклиническое обследование, ультразвуковое исследование для оценки анатомии плода, а также специальное исследование плазмы крови, отмытых эритроцитов и околоплодных вод методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC – high-performance liquid chromatography) с изучением уровней гомоцистеина, цистеина и глутатиона в указанных биологических субстратах. Показатели изучаемых метаболитов у пациенток основной группы анализировались в зависимости от вида врожденной аномалии у плода.

У всех обследованных пациенток кровь в количестве 5 мл забиралась из локтевой вены натощак, помещалась в пробирки с гепарином и немедленно центрифугировалась в течение 5 минут с частотой оборотов 2000 в минуту. После центрифугирования плазму крови отбирали автоматической пипеткой в количестве 1 мл, отмытые эритроциты получали по стандартной методике [62]. Полученный материал помещали в пробирки, замораживали при температуре  $-78^{\circ}\text{C}$  и хранили до момента проведения исследования в холодильной камере.

Околоплодные воды были получены при трансцервикальном амниоцентезе, который осуществляли на первом этапе прерывания беременности перед интраамниальным введением гипертонического раствора хлорида натрия, под ультразвуковым контролем (рисунок 7.1.). Полученная амниотическая жидкость подвергалась центрифугированию в течение 5 минут с частотой оборотов 2000 в минуту, после чего замораживалась и хранилась в таких же условиях, как плазма крови и отмытые эритроциты.



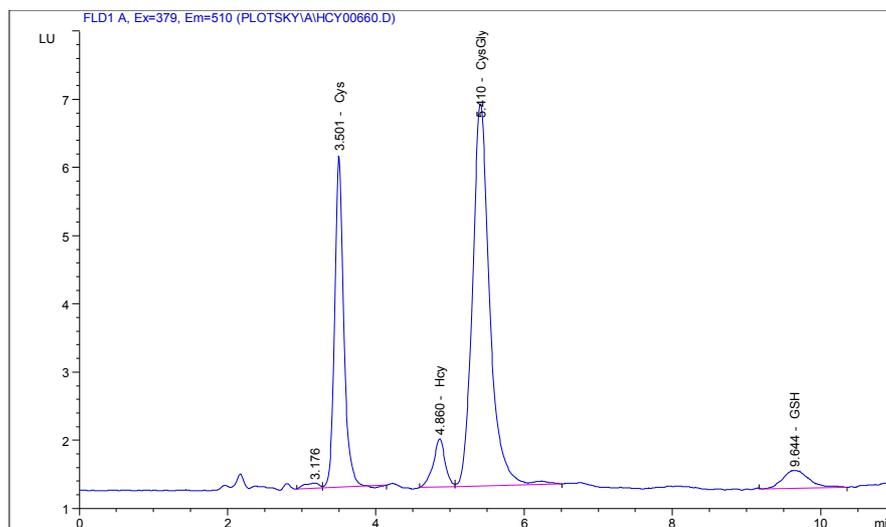
**Рисунок 7.1 – Ультразвуковое изображение пункционной иглы в момент получения околоплодных вод**

В день проведения анализа образцы плазмы или околоплодных вод размораживали при комнатной температуре. 50 мкл плазмы или околоплодных вод смешивали с 5 мкл раствора ТСЕР (tris(2-carboxylethyl)phosphine) (100 мг/мл), после чего оставляли при комнатной температуре на 30 минут. Затем осаждали белки путем добавления 50 мкл 10% раствора ТХУ (трихлоруксусная кислота) и центрифугировали при 4°C в течение 15 минут при 16000 оборотах в минуту на центрифуге «Biofuge» фирмы «Heraeus» (США). В микропробирку объемом 200 мкл, содержащую 2 мкл 1,55 М NaOH, 12,5 мкл 0,125 М Na-боратного буфера с 200 мг/л ЭДТА, pH 9,5, и 5 мкл раствора SBD-F (ammonium 7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazole-4-sulfonate) (1 мг/мл) в аналогичном буфере, вносили 10 мкл супернатанта и инкубировали 1 час при 60°C [63]. После охлаждения при комнатной температуре в систему вводили 5 мкл реакционной смеси.

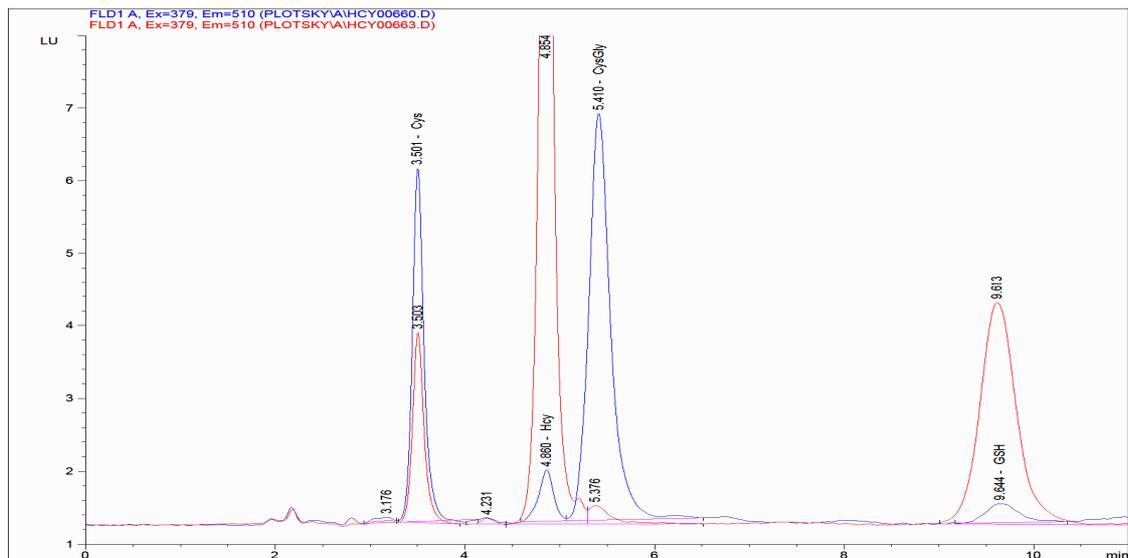
Отмытые эритроциты размораживали при комнатной температуре, добавляли к ним равный объем воды и гомогенизировали. 50 мкл полученного гомогената смешивали с 5 мкл раствора ТСЕР (tris(2-carboxylethyl)phosphine) (100 мг/мл), после чего оставляли при комнатной температуре на 30 минут. Дальнейшее приготовление образцов отмытых эритроцитов для проведения хроматографических исследований было аналогичным приготовлению образцов плазмы и околоплодных вод.

Разделение осуществляли на колонке Диасорб 130 C<sub>16</sub>T, 3x250 мм, 7 мкм. Подвижная фаза: 0,1 М NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 17 мМ CH<sub>3</sub>COOH, pH 3,65, 40 мг/л ЭДТА, 3% ацетонитрила. Скорость потока составляла 0,6 мл/мин, температура колонки 30°C. Детектирование осуществлялось по флуоресценции, 379/510 нм. Определения проводили на хроматографической системе Agilent 1100, содержащей 4-канальный градиентный насос, термостат колонок, автосамплер и детектор флуоресценции. Регистрация хроматограмм и их количественная обработка осуществлялись с помощью Agilent ChemStation A10.01.

На рисунке 7.2. представлена хроматограмма, полученная при исследовании плазмы крови. Пример изображения хроматограммы, полученной при изучении плазмы крови с совмещенной хроматограммой стандарта, приведен на рисунке 7.3.



**Рисунок 7.2 – Хроматограмма, полученная при исследовании плазмы крови**



**Рисунок 7.3 – Хроматограмма, полученная при изучении плазмы крови с совмещенной хроматограммой стандарта**

Образцы анализировали сериями по 24, каждая серия включала смесь стандартов определяемых соединений (100 мкмоль/л) для контроля калибровочных кривых.

Статистическая обработка данных осуществлена методами непараметрической статистики ввиду отсутствия в группах нормального распределения признаков. Для сравнения групп применялся U-критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney). Данные представлялись в виде Me (медиана значений) и интерквартильного размаха с описанием значения 25 и 75 перцентилей. При проведении корреляционного анализа применялся критерий R Спирмена (Spearman). При использовании любого теста или критерия рассчитывалась вероятность справедливости нулевой гипотезы (отсутствие различий групп) –  $p$ . Статистически значимыми различия считались при  $p < 0,05$ . Значения  $p$  приводятся с точностью до трех десятичных знаков, за исключением, когда  $p < 0,001$  [60, 61].

Статистический анализ полученных результатов проведен с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 и Microsoft Excel.

### 7.3 Результаты и обсуждение

Пациентки основной группы и группы сравнения «А» не различались между собой по возрасту, массо-ростовым показателям, данным акушерско-гинекологического анамнеза (время наступления менархе, начало половой жизни, количество беременностей в анамнезе и их исходы, гинекологическая заболеваемость). Из лабораторных данных необходимо указать на статистически значимое различие в уровне гемоглобина в периферической крови у женщин основной группы и группы сравнения – 119 (113-128) г/л и 129 (119-134) г/л, соответственно ( $p < 0,001$ ). И хотя данные значения находятся в пределах нормы, и вряд ли имеют клиническое значение, все же можно косвенно предполагать скрытый дефицит фолатов, необходимых также и для процессов гематопоеза, у пациенток основной группы. Не было отмечено различий и в частоте встречаемости различной соматической патологии. Стоит лишь отметить, что среди беременных женщин основной группы гораздо чаще имелись указания на перенесенный гепатит, хотя эти различия и не были статистически значимыми. Поскольку печень играет важную роль в метаболизме гомоцистеина, а также в синтезе глутатиона, возможно, эти анамнестические данные могут в определенной степени свидетельствовать о снижении функциональной способности печени. Течение беременности также не имело различий среди беременных основной группы и группы сравнения. Все беременные группы сравнения «А» родили в срок живых детей, масса тела новорожденных составила 3450 (3175-3650) г, длина тела 53 (52-54) см. Случаев рождения детей с дефицитом массы тела у женщин группы сравнения не отмечено. Учитывая то, что определенная часть врожденных аномалий может не выявляться в период новорожденности, мы проследили катамнез родившихся детей в течение 6 месяцев – ни в одном из наблюдений пороков развития плода не было выявлено.

Анамнестические, антропометрические и клинико-лабораторные данные пациенток группы сравнения «В» не отличались от показателей среди пациенток группы сравнения «А».

### 7.3.1 Содержание гомоцистеина в плазме крови

Уровень общего гомоцистеина (tHcy) в плазме крови беременных обеих групп представлен в таблице 7.1 (указаны медиана значений, 25 и 75 перцентили, критерий р Манна-Уитни).

Таблица 7.1 – Уровень общего гомоцистеина в плазме крови беременных женщин основной группы и группы сравнения

Исследуемая группа	N	tHcy в плазме крови (Me, 25% – 75%)	p
Гидроцефалия	12	6,8 (6,05 – 7,37)	0,024
Пороки нервной трубки	8	7,17 (6,39 – 7,47)	0,036
Пороки передней брюшной стенки	8	6,71 (6,09 – 8,76)	0,022
Хромосомные аномалии	5	7,14 (6,75 – 8,27)	0,016
Врожденные пороки сердца	17	5,36 (5,04 – 6,3)	0,738
Диафрагмальная грыжа	4	8,9 (8,12 – 16,15)	0,002
Шейная гигрома	4	7,81 (6,56 – 9,24)	0,028
Скелетные дисплазии	11	6,59 (5,23 – 7,29)	0,198
Пороки легких	6	5,99 (5,36 – 6,46)	0,979
Поликистоз почек	6	8,32 (5,9 – 11,16)	0,029
Расщелины лица	6	5,18 (3,58 – 5,91)	0,145
Перинатальные опухоли	4	8,0 (6,26 – 9,26)	0,052
Атрезия пищевода	3	7,75 (6,89 – 13,01)	0,016
Множественные пороки развития	10	9,91 (6,93 – 12,38)	0,00004
Всего:	104	6,75 (5,7 – 8,3)	0,0001
Группа сравнения «А»	52	5,81 (4,8 – 6,77)	–

При анализе данных, приведенных в таблице 7.1, установлено, что содержание общего гомоцистеина в плазме крови было достоверно выше среди пациенток основной группы ( $p < 0,001$ ), однако при изучении его концентраций в зависимости от вида врожденных аномалий установлены существенные различия.

В частности, выявлено достоверное повышение уровня общего гомоцистеина в плазме крови беременных женщин при пороках развития центральной нервной системы ( $p < 0,05$ ), пороках нервной трубки ( $p < 0,05$ ), пороках передней брюшной стенки ( $p < 0,05$ ), хромосомных аномалиях ( $p < 0,05$ ), шейной гигроме ( $p < 0,05$ ), диафрагмальной грыже ( $p < 0,01$ ), поликистозе почек ( $p < 0,05$ ) и атрезии пищевода ( $p < 0,05$ ). Наиболее высокие показатели общего гомоцистеина в плазме

крови регистрировались в группе пациенток с множественными врожденными аномалиями у плода ( $p < 0,001$ ).

Отмечено повышение концентрации гомоцистеина в плазме крови при скелетных дисплазиях и опухолях, возникших в перинатальном периоде, однако это повышение не носило статистически значимый характер ( $p > 0,05$ ).

Наконец, при выявлении у плода расщелин лица, врожденных пороков сердца и пороков развития легких нами не установлено различий в содержании общего гомоцистеина в плазме крови беременных женщин ( $p > 0,05$ ).

Пороки развития нервной трубки (анэнцефалия, энцефалоцеле, спинномозговая грыжа) – группа врожденных аномалий, в отношении которых получены многочисленные убедительные данные о связи дефицита фолатов и повышенного уровня гомоцистеина [8, 9, 13]. Полученные нами данные у 8 пациенток, уровень гомоцистеина у которых в плазме крови составил 7,17 (6,39-7,47) мкмоль/л, подтверждают подобную точку зрения. Показатели гомоцистеина в подгруппе беременных с наличием гидроцефалии у плода (12 случаев) также характеризовались статистически значимым повышением по отношению к группе сравнения – 6,8 (6,05-7,37) мкмоль/л. Интересно отметить, что у двух пациенток из этих подгрупп в анамнезе уже имелось прерывание беременности по медико-генетическим показаниям в связи с наличием у плодов пороков развития нервной трубки (*spina bifida*). Установленные факты, а также высокий уровень гомоцистеина в плазме крови этих беременных свидетельствует о «неслучайном» характере возникновения врожденных аномалий у их потомства.

В подгруппу беременных женщин с наличием поликистоза почек у плода вошли 6 пациенток. Только в одном случае процесс носил односторонний характер, в остальных наблюдениях отмечалось поражение обеих почек (рисунок 7.4).

Уровень гомоцистеина в плазме крови у пациенток этой подгруппы составил 8,32 (5,9-11,16) мкмоль/л. Нами отмечено, что у двоих пациенток этой подгруппы, у которых уровень гомоцистеина в плазме крови составлял 10 мкмоль/л и выше, отмечено сочетание патологии почек с полидактилией



**Рисунок 7.4 – Поликистоз инфантильного типа («белые» почки) стоп или кистей (рисунки 7.5 и 7.6).** О сочетании поликистоза почек инфантильного типа и полидактилии в доступной нам литературе мы сообщений не встретили, сообщается лишь о сочетании гидронефроза с полидактилией [64].

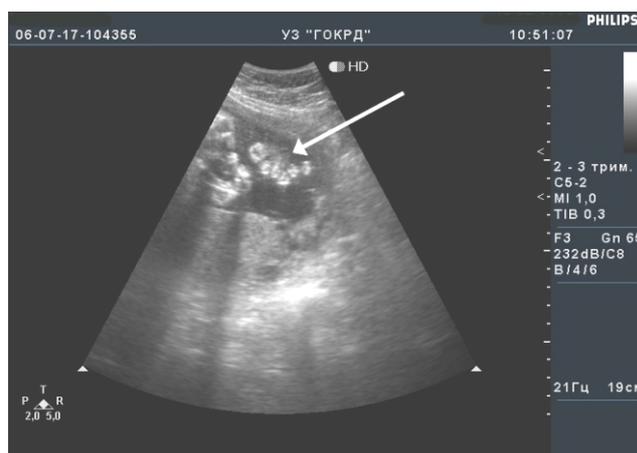


**Рисунок 7.5 – Полидактилия стоп у ребенка с поликистозом почек инфантильного типа**



**Рисунок 7.6 – Полидактилия кистей у ребенка с поликистозом почек инфантильного типа**

Данное наблюдение поспособствовало диагностике полидактилии в другом наблюдении. При выявлении поликистоза почек инфантильного типа мы целенаправленно изучали анатомию костной системы, что привело к визуализации изолированной полидактилии стоп (рисунок 7.7) в 33 недели беременности, что подтвердилось после рождения ребенка (рисунок 7.8).



**Рисунок 7.7 – Ультразвуковое изображение полидактилии стоп (указана стрелкой)**



**Рисунок 7.8 – Стопы ребенка после рождения**

В нашем исследовании у одной из пациенток наблюдалось повторение подобной патологии у плода – в анамнезе у нее уже имелось прерывание беременности по медико-генетическим показаниям именно в связи с описываемой патологией. Интересно отметить, что у этой пациентки произведена конусовидная ампутация шейки матки по поводу рака шейки матки. Здесь следует указать, что, по мнению некоторых авторов, при раке шейки матки и предраковых состояни-

ях шейки матки (дисплазии различной степени) также отмечается повышение уровня гомоцистеина в крови [65]. Гипергомоцистеинемия приводит к нарушению метилирования ДНК, что создает предпосылки для внедрения вирусов с онкогенными свойствами (вирус папилломы человека 16 и 18 типов) в геном клеток [66] с последующим развитием злокачественного новообразования. Таким образом, есть основания предполагать, что сочетание подобной гинекологической патологии с пороками развития плода не является случайным, поскольку имеется один и тот же фактор риска, действие которого реализуется в различных плоскостях.

Уровень гомоцистеина у пациенток при наличии хромосомной патологии (3 случая синдрома Дауна и 1 случай синдрома Клайнфельтера) или шейной гигромы у плода также был повышен. Возраст пациенток этой подгруппы составил 33 (30-35) года, а в подгруппе с наличием шейной гигромы 28,5 (24,5-34). В этих подгруппах отмечен самый «пожилой» для беременных возраст среди пациенток основной группы. Однако при проведении корреляционного анализа мы не обнаружили связей между возрастом обследованных женщин и уровнем гомоцистеина в плазме крови. Поскольку наличие шейной гигромы у плода в 70% случаев также ассоциируется с хромосомной патологией (синдром Тернера, трисомии по 13, 18, 21 паре хромосом) [3], то наши данные подтверждают общеизвестный постулат о повышении риска хромосомной патологии с увеличением возраста женщин [7]. Возможно, это связано и с нарушением метилирования ДНК.

Следует более подробно остановиться на особенностях анамнеза у пациенток обсуждаемых подгрупп. У одной из женщин (в возрасте 43 лет на момент исследования), страдающей артериальной гипертензией, был зафиксирован самый высокий уровень гомоцистеина в плазме крови среди женщин основной группы – 35,62 мкмоль/л. У ее первого ребенка также был диагностирован синдром Дауна, ребенок умер в 15-летнем возрасте в связи с пороком сердца. У другой пациентки 35-летнего возраста в анамнезе имелась неразвивающаяся беременность, причем у плода при ультразвуковом исследовании была обнаружена шейная гигрома, что

может также косвенно свидетельствовать о наличии у него хромосомной патологии [3]. У третьей пациентки за 4 года до проводимого нами исследования выявлен рак шейки матки (!), (возраст ее на момент беременности составил 30 лет), по поводу чего ей было проведено хирургическое лечение – конусовидная ампутация шейки матки. У оставшихся двух женщин подгруппы с подтвержденной хромосомной патологией у плода (в возрасте 26 и 32 лет) не отмечено каких-либо отклонений в состоянии соматического и гинекологического здоровья.

В подгруппе с шейной гигромой у одной из пациенток (возраст ее 32 года) имелась дисплазии шейки матки (!) тяжелой степени, по поводу чего было также проведено хирургическое лечение в объеме конусовидной ампутации шейки матки. Интересна дальнейшая судьба этой женщины: через полгода после прерывания беременности и проведения адекватной прегравидарной подготовки наступила повторная беременность, которая протекала на фоне выраженной постоянной угрозы прерывания беременности и закончилась преждевременными родами в сроке 32 недели беременности, причем у ребенка имелись признаки задержки внутриутробного развития, а после рождения выявлен дефект межжелудочковой перегородки. Эти факты еще раз свидетельствуют о различных точках «приложения» патогенного действия гипергомоцистеинемии.

Нами изучены показатели уровня гомоцистеина в плазме крови при аномалиях развития передней брюшной стенки (5 случаев омфалоцеле и 3 случая гастрошизиса) и при диафрагмальной грыже (4 случая). Эти пороки традиционно объединяются в одну группу в руководствах по пренатальной и ультразвуковой диагностике как пороки развития стенок брюшной полости [3].

В доступной нам литературе мы не встретили данных о роли повышенных концентраций гомоцистеина при формировании патологии подобного рода. Мы установили достоверное повышение уровня гомоцистеина в плазме крови беременных женщин с указанными видами аномалий развития. Возможно, повышенные концентрации этой аминокислоты

во время эмбриогенеза способствуют нарушениям процесса нормального формирования передней брюшной стенки и диафрагмы. Интересно отметить, что именно в этой подгруппе мы наблюдали двух пациенток, у которых имелись пороки развития костной системы. У других пациенток основной группы каких-либо врожденных пороков развития выявлено не было. У первой пациентки отмечена врожденная деформация 3-4 пальцев обеих стоп (рисунок 7.9).



**Рисунок 7.9 – Деформация 3-4 пальцев обеих стоп у пациентки с наличием гастрошизиса у плода**

В другом случае у пациентки имелся врожденный порок развития костной системы – двупалая стопа (рисунок 7.10). Беременность с наличием у плода диафрагмальной грыжи была третьей, в анамнезе у этой женщины – рождение двух детей без каких-либо врожденных аномалий.



**Рисунок 7.10 – Двупалая стопа у пациентки с диафрагмальной грыжей у плода**

Все беременности у женщин с патологией развития передней брюшной стенки у плода были прерваны в сроке 15-21 неделя. В подгруппе с диафрагмальными грыжами у плода в одном случае произведено прерывание беременности до 22-недельного срока, в 3 случаях беременность была сохранена, поскольку врожденные аномалии развития впервые были выявлены при ультразвуковом исследовании после 22 недели внутриутробного развития. У всех пациенток произошли срочные роды, и все родившиеся дети были подвергнуты хирургическому лечению практически сразу после рождения. Из них один ребенок умер в первые сутки послеоперационного периода.

Среди 11 пациенток с наличием у плода врожденной патологии скелета отмечен повышенный уровень гомоцистеина в плазме крови – 6,59 (5,23-7,29) мкмоль/л, хотя это повышение не носило статистически значимый характер ( $p > 0,05$ ). Возможно, это связано с большой разнородностью изучаемой патологии. Достаточно сказать, что к настоящему времени не имеется общепринятой пренатальной классификации скелетных дисплазий, насчитывающих более 200 различных форм. Основной причиной является отсутствие знаний о патогенезе этих состояний. Тем не менее, полученные нами данные и данные литературы [53, 54] свидетельствуют о вероятной «причастности» гомоцистеина в формировании врожденной патологии скелета. Учитывая разнородность этой патологии, только накопление достаточного количества фактического материала поможет установить истинную роль гомоцистеина в возникновении скелетных дисплазий.

В подгруппе с опухолями у плода рассмотрены 4 случая доброкачественных новообразований, выявленных еще до рождения плода, гистологическая структура которых верифицирована после родов (3 случая) или после прерывания беременности по медико-генетическим показаниям (рисунок 7.11).



**Рисунок 7.11 – Крестцово-копчиковая тератома**

Все опухоли впервые обнаружены у плодов при ультразвуковом исследовании в сроки 22-24 недели беременности. Все родившиеся дети были подвергнуты оперативному лечению в разное время после родов. Это были случаи зрелой тератомы брюшной полости, крестцово-копчиковой тератомы и многокамерной тератомы в области шеи (рисунок 7.12). У этого ребенка в послеоперационном периоде развилась стриктура пищевода. Значения уровня гомоцистеина в плазме крови были достаточно высокими 8,0 (6,26-9,26) мкмоль/л, хотя статистически не значимыми ( $p > 0,05$ ). Возможно, это связано с небольшим количеством наблюдений (поскольку критерий  $\chi^2$  Манна-Уитни приближался по своему значению к 0,05). Следует отметить, что влияние гомоцистеина на процессы метилирования ДНК и канцерогенез имеют место на протяжении всей жизни, в том числе и в перинатальном периоде.



**Рисунок 7.12 – Многокамерная тератома в области шеи**

В литературных данных отсутствуют сведения о связи уровня гомоцистеина с возникновением атрезий пищевода. Возможно, это объясняется относительно редкой встречаемостью данного порока – частота выявления колеблется от 1:800 до 1 : 5000 живорожденных [3]. Мы располагаем тремя наблюдениями, в которых концентрация гомоцистеина в плазме крови статистически значимо превышала показатели в группе сравнения и составляла 7,75 (6,89-13,01) мкмоль/л ( $p < 0,05$ ). В одном случае порок был выявлен и прерван до 22 недель беременности. В другом наблюдении атрезия пищевода была диагностирована после 22 недель беременности, а родившийся ребенок умер в связи с пневмонией через 1 месяц после родов и после двух перенесенных оперативных вмешательств. В третьем случае (порок развития также диагностирован после 22 недель беременности) родившийся ребенок с аномалией развития был прооперирован в первые сутки с благоприятным исходом. Накопление фактических данных в отношении атрезии пищевода позволит пролить свет на роль гомоцистеина в формировании этой аномалии развития.

В подгруппу множественных врожденных пороков развития у плода были включены 10 пациенток в случае выявления у плодов врожденных аномалий в 3 и более системах органов. У них отмечены наиболее высокие показатели уровня гомоцистеина 9,91 (6,93-12,38) мкмоль/л. Минимальное и максимальное значение гомоцистеина в плазме крови составляло 6,58 и 14,98 мкмоль/л, соответственно, а у половины пациенток уровень гомоцистеина превышал 10 мкмоль/л.

Это были случаи наиболее грубых пороков развития плода, в которых зарегистрированы аномалии строения практически во всех органах и системах, как, например, на рисунках 7.13, 7.14 и 7.15.



**Рисунок 7.13 – Плод с VATER-ассоциацией**



**Рисунок 7.14 – Изображение плода с полным расщеплением передней брюшной стенки и грудной клетки и эвентрацией внутренних органов**



**Рисунок 7.15 – Голопрозэнцефалия с множественными пороками внутренних органов**

Таким образом, в нашем исследовании показано, что 2-3-кратное повышение уровня гомоцистеина в плазме крови матери может ассоциироваться с грубыми аномалиями развития плода. Выявлена прямая корреляционная связь между уровнем гомоцистеина в плазме крови и количеством аномально сформированных систем плода, в которых выявлен порок развития ( $R=0,782$ ;  $p<0,01$ ). Это перекликается с существующим мнением о так называемом дозозависимом эффекте гомоцистеина на развивающийся эмбрион – чем выше концентрация гомоцистеина, тем более грубые пороки развития можно прогнозировать, что было доказано в экспериментальных работах [67]. Интересно отметить, что в этой же работе был доказан и протективный эффект фолиевой кислоты при высоких уровнях гомоцистеина, воздействовавших на эмбрион.

Следует остановиться на обсуждении ситуаций с пороками развития плода, не сопровождавшимися повышением уровня гомоцистеина в плазме крови матери. В проведенном нами исследовании не выявлено существенных различий в уровне общего гомоцистеина в плазме крови беременных с наличием у плода врожденных пороков сердца, расщелин верхней губы и твердого неба и пороков развития легких.

Мы не располагаем литературными данными, свидетельствующими о влиянии гипергомоцистеинемии на возникновение пороков легких. Уровень гомоцистеина в 6 наблюдениях был практически идентичен показателям в группе сравнения ( $p>0,05$ ).

Имеется достаточное количество литературных данных о роли повышенного уровня гомоцистеина в генезе врожденных пороков сердца [29], однако мы не получили подобных данных в своем исследовании. В этих работах делается акцент на так называемые конотрункальные дефекты, т.е. аномалии развития магистральных сосудов. Нами обследовано 17 пациенток с различными видами изолированных ВПС. Спектр выявленных аномалий сердца представлен в таблице 7.2.

Таблица 7.2 – Нозология выявленных врожденных пороков сердца

Вид ВПС	Количество наблюдений
Дефекты межпредсердной или межжелудочковой перегородок	3
Сочетание дефекта перегородки и общего артериального ствола	4
Коарктация аорты	2
Транспозиция магистральных сосудов	2
Синдром гипоплазии левых отделов сердца	3
Аномальный дренаж легочных вен	1
Полная форма атриовентрикулярной коммуникации	1
Тетрада Фалло	1
Всего:	17

Установлено, что уровень гомоцистеина не коррелировал с анатомической формой порока. Наиболее высокие показатели гомоцистеина в плазме крови наблюдались при полной форме атриовентрикулярной коммуникации с транспозицией магистральных сосудов (8,89 мкмоль/л) и при наличии тетрады Фалло (9,33 мкмоль/л). В данном случае в определенной степени прослеживается «дозозависимый» эффект гипергомоцистеинемии. Интересно отметить, что в подгруппе с МВПР в 50% у плодов зарегистрирован порок сердца, а наиболее «грубый» порок наблюдался при уровне гомоцистеина 14,98 мкмоль/л (аплазия легочного ствола, атриовентрикулярная коммуникация, выход аорты из правого желудочка, атрезия легочных вен).

Нами не получено данных, свидетельствующих о роли гомоцистеина в происхождении изолированных расщелин лица и твердого неба, хотя литературные данные подтверждают подобную точку зрения. Мы также не отметили ни одного случая расщелин лица в случаях МВПР. В данной ситуации имеется определенное противоречие: почему нет сочетания спинномозговой грыжи и расщелины лица или сочетания порока сердца и расщелины верхней губы при наличии одного и того же предполагаемого фактора риска? Указанные пороки практически всегда встречаются изолированно друг от друга. Однако возможной причиной отсутствия подобных

комбинаций может быть самопроизвольное прерывание беременности на раннем сроке. Исходя из литературных данных [3], сочетание пороков нервной трубки (анэнцефалия, spina bifida) с расщелинами лица встречается только в 2% случаев. В нашем исследовании мы столкнулись с подобной ситуацией (рисунок 7.16), но это был единственный случай, при котором уровень гомоцистеина в плазме крови составил 7,49 мкмоль/л.



**Рисунок 7.16 – Сочетание анэнцефалии и расщелины верхней губы**

Минимальное и максимальное значения уровня общего гомоцистеина в плазме крови беременных женщин в случаях расщелин верхней губы и твердого неба составили 3,10 и 6,59 мкмоль/л, соответственно, причем, не отмечено зависимости между уровнем гомоцистеинемии и степенью анатомического дефекта. Иными словами, примерно при одном и том же уровне гомоцистеина в плазме крови матери у плода могли наблюдаться изолированный односторонний дефект верхней губы (рисунок 7.17), либо расщелина лица с распространением дефекта на верхнюю челюсть (рисунок 7.18).



**Рисунок 7.17 – Односторонняя изолированная расщелина верхней губы**



**Рисунок 7.18 – Односторонняя расщелина верхней губы и твердого неба с распространением анатомического дефекта на верхнюю челюсть**

Учитывая полученные данные можно предположить, что возникновение изолированных расщелин лица не связано с патогенным действием гомоцистеина. Возможно, это воздействие опосредованное, так как гомоцистеин влияет на процессы апоптоза, которые играют важную роль в формировании различных полостей тела. Вероятно, высокий уровень гомоцистеина не является обязательным фактором для формирования порока подобного типа.

### 7.3.2 Содержание гомоцистеина в отмытых эритроцитах

Данные о концентрации общего гомоцистеина в отмытых эритроцитах представлены в таблице 7.3.

Таблица 7.3 – Уровень общего гомоцистеина в отмытых эритроцитах беременных женщин основной группы и группы сравнения

Исследуемая группа	N	tHcy в отмытых эритроцитах (Me, 25% – 75%)	P
Гидроцефалия	12	1,18 (1,13 – 2,51)	0,766
Пороки нервной трубки	8	1,50 (0,82 – 1,76)	0,725
Пороки передней брюшной стенки	8	1,21 (1,07 – 1,50)	0,323
Хромосомные аномалии	5	1,29 (0,57 – 3,12)	0,658
Врожденные пороки сердца	17	1,65 (1,22 – 1,88)	0,865
Диафрагмальная грыжа	4	1,42 (1,11 – 1,90)	0,968
Шейная гигрома	4	1,60 (1,27 – 2,36)	0,529
Скелетные дисплазии	11	1,11 (0,89 – 1,40)	0,286
Пороки легких	6	1,04 (0,84 – 1,20)	0,079
Поликистоз почек	6	1,40 (1,32 – 1,96)	0,762
Расщелины лица	6	1,34 (1,12 – 1,46)	0,238
Перинатальные опухоли	4	1,22 (1,14 – 1,31)	0,526
Атрезия пищевода	3	1,26 (1,19 – 1,47)	0,727
Множественные пороки развития	10	1,87 (1,77 – 2,55)	0,140
Всего:	104	1,34 (1,07 – 1,85)	0,522
Группа сравнения «А»	52	1,39 (1,08 – 2,06)	–

В отмытых эритроцитах содержание общего гомоцистеина среди женщин основной группы и группы сравнения не имело различий ( $p > 0,05$ ). Не отмечено также различий и при различных видах врожденной патологии у плода. Данный факт свидетельствует о том, что клетки активно «избавляются» от гомоцистеина либо путем его катаболизма, либо путем элиминирования его из клетки.

### 7.3.3. Содержание гомоцистеина в околоплодных водах

В литературе имеются единичные работы об уровне гомоцистеина в околоплодных водах, в связи с чем для нас эта область исследований имела определенно «повышенный» интерес. Показатели уровня общего гомоцистеина в около-

плодных водах беременных основной группы и группы сравнения «В» представлены в таблице 7.4.

Таблица 7.4 – Уровень общего гомоцистеина в околоплодных водах у беременных основной группы и группы сравнения

Исследуемая группа	N	tHcy (Me, 25% – 75%)	P
Гидроцефалия	12	5,10 (3,85 – 6,35)	0,472
Пороки нервной трубки	8	3,99 (2,99 – 6,55)	0,955
Пороки передней брюшной стенки	8	2,27 (1,83 – 2,86)	0,026
Хромосомные аномалии	5	3,26 (2,10 – 4,67)	0,349
Врожденные пороки сердца	17	3,36 (2,20 – 5,24)	0,382
Шейная гигрома	4	1,97 (1,96 – 2,04)	0,007
Скелетные дисплазии	11	3,47 (2,43 – 5,98)	0,502
Пороки легких	6	3,51 (2,41 – 4,96)	0,394
Расщелины лица	6	2,18 (1,93 – 2,33)	0,013
Множественные пороки развития	10	6,73 (5,03 – 9,32)	0,039
Всего:	87	3,62 (2,27 – 5,61)	0,308
Группа сравнения «В»	18	3,74 (2,87 – 6,93)	–

Нами не выявлено различий в концентрации общего гомоцистеина в околоплодных водах среди женщин основной группы и группы сравнения ( $p > 0,05$ ). Но при анализе различных видов врожденных аномалий развития у плода установлено статистически значимое повышение уровня общего гомоцистеина при МВПР ( $p < 0,05$ ), а также достоверное снижение его при расщелинах верхней губы и неба ( $p < 0,05$ ), шейных гигромах ( $p < 0,01$ ) и аномалиях развития передней брюшной стенки у плода ( $p < 0,05$ ). Мы не отметили различий в уровне гомоцистеина в околоплодных водах у пациенток с пороками нервной трубки в зависимости от уровня дефекта – спинномозговая грыжа поясничного отдела позвоночника (рисунок 7.19) либо анэнцефалия (рисунок 7.20), на что указывается в литературных источниках [8]. При анэнцефалии ( $n = 3$ ) медиана значения гомоцистеина составила 3,57 мкмоль/л, а при *spina bifida* поясничного отдела позвоночника ( $n = 5$ ) – 4,02 мкмоль/л, что оказалось статистически недостоверным ( $p = 0,655$ ).



**Рисунок 7.19– Spina bifida поясничного отдела позвоночника**



**Рисунок 7.20 – Анэнцефалия**

При изучении корреляционных связей установлено, что в основной группе имеется положительная корреляционная связь между уровнем гомоцистеина в плазме крови и количеством родов ( $R=0,21$ ;  $p<0,05$ ) и выкидышей ( $R=0,20$ ;  $p<0,05$ ) в анамнезе, т.е. чем больше паритет беременностей, независимо от их исхода, тем выше уровень гомоцистеина в плазме крови. Это можно объяснить повышенным расходом фолатов в организме, необходимых для роста и развития плода и экстраэмбриональных структур [13].

Отмечена положительная корреляционная связь между гомоцистеином плазмы матери и гомоцистеином эритроцитов ( $R=0,27$ ;  $p<0,05$ ), а также между гомоцистеином эритроцитов матери и гомоцистеином околоплодных вод ( $R=0,34$ ;  $p<0,05$ ) среди беременных основной группы.

Выявленные корреляционные связи между концентрациями гомоцистеина в различных биологических субстратах могут свидетельствовать, во-первых, о «клеточном» происхождении гомоцистеина, а, во-вторых, могут указывать на то, что гомоцистеин легко преодолевает плацентарный барьер, а его уровень в крови беременных является определенным эквивалентом, отражающим содержание его в клетках матери (материнское происхождение) и околоплодных водах (плодовое происхождение).

#### 7.3.4 Диагностическая значимость определения уровня гомоцистеина в плазме крови и амниотической жидкости

При изучении показателей чувствительности и специфичности теста в целях диагностики врожденных пороков развития плода по уровню общего гомоцистеина в плазме крови установлено, что при точке разделения 7,91 мкмоль/л чувствительность теста составляет 26,92 %, а специфичность 96,15% [68].

Операционные характеристики теста представлены в таблице 7.5.

Таблица 7.5 – Операционные характеристики и параметры информативности теста определения уровня гомоцистеина в плазме крови для выявления пороков развития плода

Уровень гомоцистеина, cut off (мкмоль/л)	Se, %	Sp, %	+PV, %
3,71	98,07	11,5%	68,9%
4,41	96,15	19,2%	70,4%
5,11	89,4%	32,6%	72,6%
5,81	73%	50%	74,5%
6,51	58,6%	61,5%	75,3%
7,21	39,4%	80,7%	80,2%
7,91	26,9%	96,1%	93,3%
8,61	23%	100%	100%

Примечание – Se – диагностическая чувствительность, Sp – диагностическая специфичность; «+PV» – прогностическая ценность положительного результата теста.

Несмотря на невысокую чувствительность и относительно небольшое количество сформированных пороков при уровне гомоцистеина в плазме более 7,91 мкмоль/л, следует отметить, что это были наиболее трудные для пренатальной

диагностики состояния или пороки с весьма сомнительным прогнозом даже при своевременно проведенном хирургическом лечении. Это 75% всех диафрагмальных грыж, 50% от всего количества выявленных МВПР, опухолей, возникших в перинатальном периоде, поликистозов почек, шейных гигром, 30% хромосомных аномалий и атрезий пищевода. Остальные пороки, при которых гомоцистеин был не столь высок, достаточно хорошо диагностируются при динамическом ультразвуковом скрининге – гидроцефалия, пороки передней брюшной стенки, скелетные дисплазии. Наиболее трудную задачу для диагностики представляют собой ВПС из-за особенностей внутриутробной гемодинамики, «неудобного» положения плода, а также из-за необходимости использования высококачественного оборудования и отсутствия достаточного количества квалифицированных специалистов для пренатальной эхокардиографии. Тем не менее, опыт зарубежных стран показывает, что при обучении врачей ультразвуковой диагностики основам фетальной эхокардиографии неизбежно повышается эффективность выявления пороков сердца [4]. К тому же, стремительное развитие кардиохирургии способствует радикальному излечению ранее неоперабельных пациентов.

Из 28 пациенток с уровнем общего гомоцистеина в плазме крови более 7,91 мкмоль/л у 14 беременность закончилась рождением детей. Четыре ребенка (28,5%) умерли в течение месяца жизни: двое от МВПР, один – после оперативного лечения диафрагмальной грыжи, один – после оперативного лечения атрезии пищевода. 7 детей (50%) подверглись оперативному лечению по поводу диафрагмальной грыжи (2 случая), врожденных пороков сердца (2 случая), поликистоза почки, крестцово-копчиковой тератомы и многокамерной тератомы в области шеи – по одному случаю. В течение 6 месяцев жизни после операций состояние этих детей было удовлетворительным, за исключением ребенка с тератомой шеи – у него развилась стриктура пищевода. Наконец, трое детей находятся под наблюдением урологов по поводу поликистоза почек инфантильного типа (2 случая) и педиатра (синдром Дауна). Приведенные данные говорят о

серьезных экономических и социальных затратах на лечение детей с врожденными аномалиями развития.

Несмотря на недостаточно высокую чувствительность теста, он позволяет сформировать группу риска среди беременных женщин по возникновению наиболее тяжелых врожденных аномалий. Кроме того, высокий уровень гомоцистеина может свидетельствовать о риске неблагоприятного течения беременности, а именно, привычная потеря беременности в ранние сроки, гипертензивные расстройства, синдром задержки внутриутробного развития плода, склонность к тромбофилическим состояниям, что позволит выявлять и своевременно лечить все выявленные состояния.

Нами рассчитаны операционные характеристики теста определения уровня гомоцистеина в околоплодных водах для выявления пороков развития плода. Для удобства анализа в таблице 7.6 мы приводим данные об уровне гомоцистеина в околоплодных водах при обсуждаемых видах пороков как отдельно, так и в общем виде.

Таблица 7.6 – Значения уровня общего гомоцистеина (мкмоль/л) в околоплодных водах у пациенток основной группы с отдельными видами аномалий развития у плода и группы сравнения

Исследуемые группы	Гомоцистеин Ме (25% – 75% )	p
Расщелины верхней губы и твердого неба (n = 6)	2,18 (1,93-2,33)	p < 0,05
Пороки развития передней брюшной стенки (n = 8)	2,27 (1,83-2,86)	p < 0,05
Шейная гигрома (n = 4)	1,97 (1,96-2,04)	p < 0,01
Всего (n = 18)	2,04 (1,39-2,50)	p < 0,001
Группа сравнения (n = 18)	3,74 (2,87-6,93)	–

Установлено, что при концентрации гомоцистеина в амниотической жидкости менее 2,5 мкмоль/л диагностическая чувствительность теста для выявления расщелин лица, шейной гигромы и пороков передней брюшной стенки у плода составляет 71,4%, диагностическая специфичность – 83,3%, а прогностическая ценность положительного результата – 76,9% [69].

### 7.3.5 Содержание продуктов транссульфурирования в плазме крови, отмытых эритроцитах и амниотической жидкости

При анализе данных, приведенных в предыдущих разделах, обращает на себя внимание тот факт, что при достаточно высоких показателях гомоцистеина в плазме крови матери (6-8 мкмоль/л) пороки развития плода не возникали и наоборот – низкий уровень гомоцистеина в крови матери не гарантировал отсутствие врожденных аномалий развития у плода. В связи с этим представляет интерес изучение концентраций метаболитов гомоцистеина, в частности субстратов, образующихся при транссульфурировании. В этом процессе метаболизируется около 70% всего гомоцистеина [70], и указанная биохимическая цепочка является единственным источником образования цистеина и глутатиона. Мы проводили изучение уровней цистеина, цистеинглицина и глутатиона во всех полученных нами для исследования субстратах, однако для удобства восприятия мы приводим только данные, представляющие наибольший интерес.

Нами установлено достоверное повышение уровня серосодержащей аминокислоты цистеина в плазме крови беременных женщин основной группы ( $p < 0,05$ ). Это повышение наблюдалось практически при всех видах аномалий, а при наличии диафрагмальной грыжи и МВПР это носило статистически значимый характер ( $p < 0,05$ ).

При изучении содержания продуктов транссульфурирования в отмытых эритроцитах выявлена тенденция к снижению синтеза глутатиона практически во всех рассматриваемых случаях, а при врожденных пороках сердца у плода это снижение оказалось статистически достоверным ( $p < 0,05$ ). По мнению некоторых авторов [71, 72], подобное явление может наблюдаться при перенесенной вирусной инфекции. Следует отметить, что 64,7% женщин (больше, чем в какой-либо другой подгруппе) с врожденными пороками сердца у плода на раннем сроке беременности перенесли острое респираторное вирусное заболевание. Возможно, в генезе врожденных пороков сердца имеет значение не только непосредственное воздействие высоких концентраций гомоцистеина, но и связанные с ними оксидативный стресс и стресс эндоплазматической сети.

Таблица 7.7 – Содержание цистеина в плазме крови и глутатиона в отмытых эритроцитах у пациенток с различными видами врожденных пороков развития у плода

Исследуемая группа	N	Цистеин в плазме	Глутатион в отмытых эритроцитах
Гидроцефалия	12	126,31 (97,8 – 171,34)	833,85 (649,92 – 1152,12)
Пороки нервной трубки	8	143,2 (131,32 – 177,57)	667,29 (448,99 – 1565,84)
Пороки брюшной стенки	8	149,98 (116,02 – 177,19)	927,67 (772,66 – 1035,24)
Хромосомные аномалии	5	126,93 (122,23 – 136,02)	682,39 (542,85 – 1264,04)
ВПС	17	144,94 (93,66 – 175,57)	704,12* (623,49 – 787,82)
Диафрагмальная грыжа	4	192,04* (142,23 – 308,81)	1093,79 (857,69 – 1272,41)
Шейная гигрома	4	186,22 (134,83 – 235,74)	690,66 (674,81 – 821,12)
Скелетные дисплазии	11	166,35 (117,45 – 232,82)	817,21 (664,97 – 1727,81)
Пороки легких	6	138,63 (119,59 – 155,98)	802,14 (685,79 – 1003,07)
Поликистоз почек	6	161,78 (108,67 – 180,59)	1008,48 (818,29 – 1152,91)
Расщелины лица	6	148,63 (119,82 – 151,39)	864,21 (790,85 – 945,77)
Перинатальные опухоли	4	152,19 (96,96 – 199,21)	742,37 (614,09 – 870,63)
Атрезия пищевода	3	212,55 (66,85 – 267,05)	824,86 (657,94 – 1006,01)
МВПР	10	174,69* (136,28 – 192,86)	815,36 (654,64 – 863,6)
Всего	104	146,06* (118,13 – 188,25)	808,49 (664,97 – 1035,24)
Группа сравнения «А»	52	130,49 (99,99 – 156,48)	919,03 (661,05 – 1246,82)

Более наглядно особенности транссульфирования характеризуются при изучении соотношений концентраций гомоцистеина, цистеина и глутатиона между собой в плазме крови и отмытых эритроцитах, что представлено в таблице 7.8.

Таблица 7.8 – Оценка соотношения продуктов транссульфурирования в плазме крови и отмытых эритроцитах беременных основной группы и группы сравнения

Исследуемая группа	N	Cys/Hcy в плазме крови	Cys/Hcy в отмытых эритроцитах	GSH/ Hcy в отмытых эритроцитах
Гидроцефалия	12	18,49	2,64	618,57
Пороки нервной трубки	8	20,87	1,96	649,39
Пороки брюшной стенки	8	17,50	2,54	721,39
Хромосомные аномалии	5	15,35*	1,52	529,79
ВПС	17	21,84	1,85	445,03*
Диафрагмальная грыжа	4	19,07	1,33	745,44
Шейная гигрома	4	22,91	2,76	419,91
Скелетные дисплазии	11	24,90	2,51	614,27
Пороки легких	6	21,94	6,74*	966,53
Поликистоз почек	6	16,22	1,18	722,87
Расщелины лица	6	32,46*	17,38	646,26
Перинатальные опухоли	4	20,21	1,39	597,10
Атрезия пищевода	3	16,34	2,58	533,44
МВПП	10	15,82	1,35	435,39*
Всего	104	20,30	1,99	565,00
Группа сравнения «А»	52	22,97	1,88	684,83

Примечание – \* – различия с группой сравнения достоверны ( $p < 0,05$ ).

Достоверное снижение соотношения цистеин/гомоцистеин в плазме крови при хромосомных аномалиях ( $p < 0,05$ ) может свидетельствовать о нарушении процесса транссульфурирования. Имеется явная тенденция к снижению этого соотношения при МВПП, атрезиях пищевода, поликистозе почек и пороках передней брюшной стенки. Выявлено также достоверное повышение обсуждаемого коэффициента в подгруппе беременных с расщелинами лица у плода ( $p < 0,05$ ).

Подобное наблюдение может свидетельствовать о токсичности цистеина при наличии его в больших количествах. Роль цистеина в генезе пороков развития плода изучена крайне недостаточно. Имеются единичные работы, в которых указывается связь повышенных концентраций цистеина и осложнений беременности [73, 74], в том числе обнаружена и ассоциация с возникновением врожденных аномалий. Если учесть, что основными ферментами транссульфурирования являются  $V_6$ -зависимые энзимы, для профилактики врожден-

ной патологии в качестве прекоцептивной подготовки можно рекомендовать не только прием фолиевой кислоты, но и обязательный прием пиридоксина в обычных дозировках.

На основании изучения соотношения различных метаболитов транссульфурирования в эритроцитах нами показано повышение содержания цистеина в эритроцитах при пороках развития легких, на что указывает коэффициент цистеин/гомоцистеин. Полученные данные опять же могут свидетельствовать о токсичности цистеина.

Как снижение внутриклеточного содержания глутатиона, так и снижение коэффициента глутатион/гомоцистеин в отмытых эритроцитах свидетельствует о нарушении антиоксидантной защиты клетки. Снижение соотношения глутатион/гомоцистеин в отмытых эритроцитах отмечено практически у всех беременных с различными пороками развития плода, и это оказалось достоверным при множественных врожденных пороках развития плода и врожденных пороках сердца ( $p < 0,05$ ). Это может быть показателем оксидативного стресса.

Нами рассчитаны чувствительность, специфичность и прогностическая ценность положительного результата теста для выявления врожденных пороков сердца на основании изучения соотношения «глутатион/гомоцистеин» в отмытых эритроцитах. Установлено, что при значениях указанного коэффициента в пределах 300-500 диагностическая чувствительность теста составляет 41,6%, диагностическая специфичность – 70,7%, а прогностическая ценность положительного результата – 22,6%, что может служить дополнительным диагностическим критерием для выявления врожденных пороков сердца и МВПР плода [75].

Среди продуктов транссульфурирования гомоцистеина, содержащихся в околоплодных водах (таблица 7.9) отмечена тенденция к повышению уровня цистеина при гидроцефалии, хромосомных аномалиях и МВПР, а также достоверное снижение его при расщелинах лица ( $p < 0,05$ ). Механизм снижения уровня гомоцистеина в околоплодных водах при некоторых видах врожденных аномалий развития у плода, что указывалось ранее, неизвестен, как неизвестен и механизм сни-

Таблица 7.9 – Содержание цистеина в околоплодных водах беременных женщин основной группы и группы сравнения

Исследуемая группа	N	Цистеин
Гидроцефалия	12	32,49 (19,97 – 45,55)
Пороки нервной трубки	8	24,62 (20,84 – 32,42)
Пороки передней брюшной стенки	8	20,53 (12,65 – 28,18)
Хромосомные аномалии	5	33,15 (25,82 – 44,93)
Врожденные пороки сердца	17	20,44 (14,29 – 40,90)
Шейная гигрома	4	26,39 (11,39 – 32,23)
Скелетные дисплазии	11	19,33 (12,68 – 37,01)
Пороки легких	6	18,37 (8,31 – 29,65)
Расщелины лица	6	7,72* (6,92 – 8,82)
Множественные пороки развития	10	28,06 (15,35 – 37,50)
Всего:	87	22,87 (13,84 – 34,98)
Группа сравнения	18	20,49 (16,27 – 40,71)

\* – различия с группой сравнения достоверны ( $p < 0,05$ )

жения содержания цистеина при расщелинах верхней губы и твердого неба. Эта проблема требует дальнейшего углубленного изучения.

Показатель соотношения цистеин/гомоцистеин в околоплодных водах основной группы и группы сравнения составил 6,44 и 5,05, соответственно. При хромосомных аномалиях это соотношение составило 12,87 и было статистически достоверным ( $p = 0,013$ ).

Выявленные особенности указывают на многообразие патогенетических звеньев, приводящих к формированию различных видов врожденных аномалий у плода, что требует дальнейшего изучения для разработки соответствующих профилактических мер и способов коррекции имеющихся метаболических нарушений.

Нами выявлен ряд корреляционных связей между метаболитами процесса транссульфурирования гомоцистеина как в плазме крови и отмытых эритроцитах, так и в околоплодных водах пациенток основной группы.

Таблица 7.10 – Корреляционные связи между различными метаболитами процесса транссульфурирования гомоцистеина среди беременных основной группы

Показатели	R	p
Cys – Hcy в плазме	0,3	0,0019
Cys – CysGly в плазме	0,33	0,005
Cys – GSH в плазме	0,32	0,022
GSH–CysGly в плазме	0,47	0,006
Hcy – CysGly в плазме	0,244	0,012
Cys – Hcy в отмытых эритроцитах	-0,3	0,011
Cys – GSH в отмытых эритроцитах	-0,328	0,005
Cys эритроцитов – Cys околоплодных вод	-0,34	0,015
Hcy – GSH в эритроцитах	0,54	0,0001
Hcy эритроцитов – Cys околоплодных вод	0,39	0,004
Cys – Hcy околоплодных вод	0,48	0,0001
GSH эритроцитов – Hcy околоплодных вод	0,28	0,045

В группе сравнения прослеживались подобные корреляционные связи, а при различных пороках эти корреляции не отмечены, что, вероятно, указывает на метаболические нарушения при определенных состояниях. Например, обнаруженная корреляционная связь между содержанием гомоцистеина и глутатиона в отмытых эритроцитах не выявлена в подгруппе с врожденными пороками сердца у плода, при которых, как было показано, имеет место снижение наработки глутатиона.

#### 7.4 Выводы

Значительное количество врожденных аномалий развития у плода сопровождается повышенным уровнем гомоцистеина в плазме крови матери, что характерно для таких аномалий развития как пороки центральной нервной системы, пороки передней брюшной стенки, диафрагмальные грыжи, атрезии пищевода, поликистоз почек, шейная гигрома и множественные врожденные аномалии плода. При возникновении у плода расщелины лица, пороков развития легких и врожденных пороков сердца не установлено различий в кон-

центрации гомоцистеина в плазме крови беременных женщин.

Уровень гомоцистеина в околоплодных водах достоверно повышен при множественных врожденных пороках развития плода. Установлено достоверное снижение концентрации гомоцистеина в амниотической жидкости при расщелинах лица, шейной гигроме и пороках передней брюшной стенки, а также достоверное снижение уровня цистеина в околоплодных водах при расщелинах лица.

Определение уровня гомоцистеина в плазме крови и околоплодных водах, а также продуктов его метаболизма является диагностическим критерием врожденных аномалий развития плода. При концентрации гомоцистеина в плазме крови 7,91 мкмоль/л, чувствительность метода составляет 26,9%, специфичность – 96,1%, прогностическая ценность положительного результата – 93,3%, что позволяет формировать группы женщин на ранних сроках беременности для проведения углубленной диагностики с целью выявления ВПР плода.

Достоверное снижение уровня внутриклеточного глутатиона и снижение соотношения «глутатион/гомоцистеин» в отмытых эритроцитах может служить диагностическим критерием для выявления ВПС и МВПР у плода.

Показатели уровня гомоцистеина в плазме крови беременных могут быть использованы в качестве диагностического маркера ВПР плода. Это позволит провести углубленную диагностику с использованием ультразвуковой аппаратуры высокого или экспертного класса либо с применением инвазивных методов пренатальной диагностики, что будет способствовать снижению перинатальных потерь. Целесообразно также определять уровень глутатиона в отмытых эритроцитах и соотношение глутатион/гомоцистеин для выявления врожденных пороков сердца.

Определение уровня гомоцистеина в околоплодных водах необходимо использовать в медико-генетических центрах, занимающихся инвазивными методами пренатальной диагностики в качестве дополнительного диагностического критерия для выявления некоторых врожденных пороков

развития у плода (шейная гигрома, пороки передней брюшной стенки, расщелины лица).

### Литература

1. Управление системой перинатальных технологий на региональном уровне / Р.А. Часнойть [и др.]. – Гродно, 2000. – 376 с.

2. Суханова, Л.П. Динамика перинатальной смертности в акушерских стационарах России / Л.П. Суханова // Акушерство и гинекология. – 2005. – № 4. – С. 46-48.

3. Пренатальная диагностика врожденных пороков развития плода / Р. Ромеро [и др.]; под общ. ред. Р.Ромеро. – Москва. Медицина, 1994. – 448.

4. Шарыкин, А.С. Современные возможности пренатальной диагностики пороков сердца / А.С. Шарыкин // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2003. – № 6. – С. 9-15.

5. Состояние здоровья женщин и детей Республики Беларусь / Жарко В.И., [и др.] // Здоровая мать – здоровый ребенок: сборник материалов VIII съезда педиатров Республики Беларусь Сборник материалов 8 съезда педиатров Республики Беларусь, Минск, 23 – 24 ноября 2006 г. / МЗ РБ, ГУ «РНПЦ «Мать и дитя»; редкол.: Жарко В.И. [и др.]. – Минск, 2006. – С. 8-12.

6. Прибушеня, О.В. Сравнительная характеристика инвазивных методов пренатальной диагностики генетических аномалий у плода: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. 14.00.01 .О.В. Прибушеня. – Минск, 2006. – 116 л.

7. Дородовое консультирование / Дж.М. Харлей [и др.]; под общ. ред. Дж.М. Харлей. – Москва: Медицина, 1985. – 288 с.

8. Folate, homocysteine and neural tube defects: an overview / N.M. van der Put [et al.] // Exp Biol Med. – 2001. – Vol. 226, № 4. – P. 243-270.

9. Roles of homocysteine in cell metabolism: old and new functions / M. Medina [et al.] // Eur J Biochem. – 2001. – Vol. 268, № 14. – P. 3871-3882.

10. Michie, C.A. Neural tube defects in 18<sup>th</sup> century / C.A. Michie // Lancet. – 1991. – Vol. 337, № 8739. – P. 504.

11. Neural tube defects in hurricane aftermath / E. M. Duff [et al.] // Lancet. – 1991. – Vol. 337, № 8739. – P. 120-121.

12. Marginal maternal vitamin B<sub>12</sub> status increases the risk of offspring with spina bifida / P.M. Groenen [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2004. – Vol. 191, № 1. – P. 11-17.
13. Neural tube defects in Victoria, Australia: potential contributing factors and public health implications / T.J. Owen [et al.] // *Aust N Z J Public Health.* – 2000. – Vol. 24, № 6. – P. 584-589.
14. Reduced vitamin B<sub>12</sub> binding by transcobalamin II increases the risk of neural tube defects / L.A. Afman [et al.] // *QJM.* – 2001. – Vol. 94, № 3. – P. 159-166.
15. Fenech, M. The role of folic acid and Vitamin B<sub>12</sub> in genomic stability of human cells / M. Fenech // *Mutat Res.* – 2001. – Vol. 18, № 475 (1 – 2). – P. 57-67.
16. Genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase, folate levels in red blood cells, and risk of neural tube defects / B. Christensen [et al.] // *Am J Med Genet.* – 1999. – Vol. 21, № 2. – P. 151-157.
17. Methylenetetrahydrofolate reductase and spina bifida: evaluation of level of defect and maternal genotypic risk in Hispanics / K.A. Volcik [et al.] // *Am J Med Genet.* – 2000. – Vol. 6, № 1. – P. 21-27.
18. The effect of C677T mutation of methylene tetrahydrofolate reductase gene and plasma folate level on hyperhomocysteinemia in patients with meningomyelocele / B.H. Lee [et al.] // *Childs Nerv Syst.* – 2000. – Vol. 16, № 9. – P. 229-233.
19. Are the betaine-homocysteine methyltransferase (BHMT and BHMT2) genes risk factors for spina bifida and orofacial clefts? / H. Zhu [et al.] // *Am J Med Genet A.* – 2005. – Vol. 15, № 3. – P. 274-277.
20. Analysis of methionine synthase reductase polymorphisms for neural tube defects risk association . V.B. O’Leary [et al.] // *Mol Genet Metab.* – 2005. – Vol. 85, № 3. – P. 220-227.
21. Is mutated serine hydroxymethyltransferase (SHMT) involved in the etiology of neural tube defects / S.G. Heil [et al.] // *Mol Genet Metab.* – 2001. – Vol. 73, № 2. – P. 164-172.
22. S-adenosylhomocysteine hydrolase is localized at the front of chemotaxing cells, suggesting a role for transmethylation during migration / S. Shu [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2006. – Vol. 103, № 52. – P. 19788-19793.
23. Morphogenetic movements during cranial neural tube closure in the chick embryo and the effect of homocysteine / M.R. Brouns [et al.] // *Anat Embryol.* – 2005. – Vol. 210, № 2. – P. 81-90.

24. Oxidative stress in mothers who have conceived fetus with neural tube defects: the role of aminothiols and selenium / I. Martin [et al.] // *Clin Nutr.* – 2004. – Vol. 23, № 4. – P. 507-514.

25. Neural tube closure depends on nitric oxide synthase activity / A. Nachmany [et al.] // *J Neurochem.* – 2006. – Vol. 2006, № 3. – P. 247-253.

26. Latacha, K.S. Homocysteine inhibits extra-embryonic vascular development in the avian embryo / K.S. Latacha, T.H. Rosenquist // *Dev Dyn.* – 2005. – Vol. 234, № 2. – P. 323-331.

27. Biochemical indicators of B vitamin status in the US population after folic acid fortification: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2000 / C.M. Pfeiffer [et al.] // *Am J Clin Nutr.* – 2005. – Vol. 82, № 2. – P. 442-450.

28. Improvements in the status of folate and cobalamin in pregnant Newfoundland women are consistent with observed reductions in the incidence of neural tube defects / J.D. House [et al.] // *Can J Public Health.* – 2006. – Vol. 97, № 2. – P. 132-135.

29. Congenital heart defects and abnormal maternal biomarkers of methionine and homocysteine metabolism / C.A. Hobbs [et al.] // *Am J Clin Nutr.* – 2005. – Vol 81, № 1. – P. 147-153.

30. Maternal methylenetetrahydrofolate reductase deficiency and low dietary folate lead to adverse reproductive outcomes and congenital heart defects in mice / D. Li [et al.] // *Am J Clin Nutr.* – 2005. – Vol. 85, № 1. – P. 188-195.

31. Relationship between polymorphism of methylenetetrahydrofolate dehydrogenase and congenital heart defect / J. Cheng [et al.] // *Biomed Environ Sci.* – 2005. – Vol. 18, № 1. – P. 58-64.

32. Risks of human conotruncal heart defects associated with 32 single nucleotide polymorphisms of selected cardiovascular disease-related genes / G.M. Shaw [et al.] // *Am J Med Genet A.* – 2005. – Vol. 138, № 1. – P. 21-26.

33. Congenital heart defects and maternal biomarkers of oxidative stress / C.A. Hobbs [et al.] // *Am J Clin Nutr.* – 2005. – Vol. 82. – P. 598-604.

34. Analysis of seven maternal polymorphisms of genes involved in homocysteine/folate metabolism and risk of Down syndrome offspring / I. Scala [et al.] // *Genet Med.* – 2006. – Vol. 8, № 7. – P. 409-416.

35. Homocysteine metabolism in children with Down syndrome: in vitro modulation / M. Pogribna [et al.] // *Am J Hum Genet.* – 2001. – Vol. 61, № 1. – P. 88-95.

36. Rosenblatt, D.S. Folate and homocysteine metabolism and gene polymorphisms in the etiology of Down syndrome / D.S. Rosenblatt // *Am J Clin Nutr.* – 1999. – Vol. 70. – P. 429-430.
37. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome / S.J. James [et al.] // *Am J Clin Nutr.* – 1999. – Vol. 70 (4). – P. 495-501.
38. Abnormal folic acid-homocysteine metabolism as maternal risk factors for Down syndrome in Japan / N. Takamura [et al.] // *Eur J Nutr.* – 2004. – Vol. 43, № 5. – P. 285-287.
39. Eskes, T.K. Abnormal folate metabolism in mothers with Down syndrome offspring: review of the literature / T.K.Eskes // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2006. – Vol. 214, № 2. – P. 130-133.
40. Tamura, T. Folate and human reproduction / T. Tamura, F. Picciano // *Am J Clin Nutr.* – 2006. – Vol.83. – P. 993-1016.
41. Homocysteine concentrations in adults with trisomy 21: effect of B vitamins and genetic polymorphisms / N. Fillpon-Emery [et al.] // *Am J Clin Nutr.* – 2004. – Vol. 80, № 6. – P. 1551-1557.
42. Homocysteine and related genetic polymorphisms in Down's syndrome IQ / J.L. Gueant [et al.] // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 2005. – Vol. 76, № 5. – P. 706-709.
43. One carbon metabolism and trisomy 21: analysis of the genetic polymorphism / A. Chango [et al.] // *Ann Biol Clin.* – 2002. – Vol. 60, № 6. – P. 647-653.
44. Secondary palatal closure in rats in association with relative maternofetal levels of folic acid, vitamin B<sub>12</sub>, and homocysteine / J. Weingartner [et al.] // *Ann Anat.* – 2007. – Vol.189, № 3. – P. 229-233.
45. Nonsyndromic orofacial clefts: association with maternal hyperhomocysteinemia / W. Y. Wong [et al.] // *Teratology.* – 1999. – Vol. 60, № 5. – P. 253-257.
46. Study of four genes belonging to the folate pathway: transcobalamin 2 is involved in the onset of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate / M. Martinelli [et al.] // *Hum Mutat.* – 2006. – Vol. 27, № 3. – P. 294.
47. Endothelial nitric oxide synthase (NOS3) genetic variants, maternal smoking, vitamin use, and risk of human orofacial clefts / G.M. Shaw [et al.] // *Am J Epidemiol.* – 2005. – Vol. 162, № 12. – P. 1207-1214.
48. Initial findings on teratological and developmental relationships and differences between neural tube defects and facial clefting.

First experimental results / J. Weingaertner [et al.] // J Cranimaxillofac Surg. – 2005. – Vol. 33, № 5. – P. 297-300.

49. Cystathionine beta-synthase c.844ins68 gene variant and non-syndromic cleft lip and palate / M. Rubini [et al.] // Am J Med Genet A. – 2005. – Vol. 136, № 4. – P. 368-372.

50. Disruption of imprinted gene methylation and expression in cloned preimplantation stage mouse embryos / M.R. W. Mann [et al.] // Biology of Reproduction. – 2003. – Vol. 69. – P. 902-914.

51. Homocysteine oxidation and apoptosis: a potential cause of cleft palate / L. Knott [et al.] // In Vitro Cell Dev Biol Anim. – 2003. – Vol. 39, № 1-2. – P. 98-105.

52. Hunter, A.G. A pilot study of the possible role of familial defects in anticoagulation as a cause for terminal limb reduction malformations / A.G. Hunter // Clin Genet. – 2000. – Vol. 57, № 3. – P. 197-204.

53. Maternal homozygosity for the common MTHFR mutation as a potential risk factor for offspring with limb defects / V. Shashi [et al.] // Am J Med Genet. – 2001. – Vol. 15, № 1. – P. 25-29.

54. Plasma total homocysteine level in mothers of children with clubfoot / L. Karakurt [et al.] // J Pediatr Orthop. – 2003. – Vol. 23, № 5. – P. 658-660.

55. Risks of human limb deficiency anomalies associated with 29 SNPs of genes involved in homocysteine metabolism, coagulation, cell-cell interactions, inflammatory response, and blood pressure regulation / S.L. Carmichael [et al.] // Am J Med Genet A. – 2006. – Vol. 15, № 22. – P. 2433-2440.

56. Парентеральное и энтеральное питание у новорожденных с врожденными пороками развития верхних отделов пищеварительного тракта в раннем послеоперационном периоде / В.П.Ковальчук [и др.] // Здоровая мать – здоровый ребенок: сборник материалов VIII съезда педиатров Республики Беларусь Сборник материалов 8 съезда педиатров Республики Беларусь, Минск, 23 – 24 ноября 2006 г. / МЗ РБ, ГУ «РНПЦ «Мать и дитя»; редкол.: Жарко В.И. [и др.]. – Минск, 2006. – С. 204-205.

57. Байко, С. В. Почечная недостаточность у детей. Проблемы и перспективы почечно-заместительной терапии в Республике Беларусь / С. В. Байко // Здоровая мать – здоровый ребенок: сборник материалов VIII съезда педиатров Республики Беларусь Сборник материалов 8 съезда педиатров Республики Беларусь, Минск, 23 – 24 ноября 2006 г. / МЗ РБ, ГУ «РНПЦ «Мать и дитя»; редкол.: Жарко В.И. [и др.]. – Минск, 2006. – С. 31-33.

58. Homocysteinemia – its significance in gynecology and obstetrics / J. Hyanek et al.] // *Ceska Gynecol.* – 2000. – Vol. 65, № 6. – P. 406-412.

59. Amniotic fluid homocysteine levels, 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase genotypes, and neural tube closure sites / K.D. Wenstrom [et al.] // *Am J Med Genet.* – 2000. – Vol. 3, № 1. – P. 6-11.

60. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – Москва: Медиа Сфера, 2006. – 312 с.

61. Флетчер, Р. Клиническая эпидемиология / Р. Флетчер, С. Флетчер, Э. Вагнер. – Москва: Медиа Сфера, 1998. – 352 с.

62. Камышников В.С. Методы клинических лабораторных исследований: учебник по специальности «Лабораторная диагностика», Минск, Бел. наука, 2002.

63. Novel reductant for determination of total plasma homocysteine / В.М. Gilfix [et al.] // *Clin Chem.* – 1997. – Vol.43, № 4. – P. 687-688/

64. Папаян А.В., Стяжкина И.С. Неонатальная нефрология: руководство. – СПб: Питер, 2002. – 448 с.

65. Marshall, N.D. Cervical dysplasia: early intervention / N.D. Marshall // *Alternative Medicine Review.* – 2003. – Vol. 8, № 2. – P. 156-170.

66. Global DNA hypomethylation increases progressively in cervical dysplasia and carcinoma / Y.I. Kim [et al.] // *Cancer.* – 1994. – Vol. 74, № 3. – P. 893-899.

67. Homocysteine induces congenital defects of the heart and neural tube: effect of folic acid / Т.Н. Rosenquist [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1996. – Vol. 93, № 26. – P. 15227-15232.

68. Способ прогнозирования врожденного порока развития плода: патент №12891 / А.Р.Плоцкий, Т.Ю.Егорова, А.В.Наумов; заявитель Гродненский медуниверситет. – № а 20070583; заявл. 18.05.07; опубл. 30.12.2008.

69. Способ прогнозирования вероятности формирования у плода врожденного порока развития: патент № 12750 / А.Р.Плоцкий, Т.Ю.Егорова, А.В.Наумов, Е.М.Дорошенко; заявитель Гродненский медуниверситет. – № а 20080192; заявл. 21.02.08; опубл. 30.12.2008.

70. Fowler, В. Disorder of homocysteine metabolism / В. Fowler // *J Inter Metab.* – 1997. – Vol. 20, № 2. – P. 270-285.

71. Pearce, B.D. Schizophrenia and viral infection during neurodevelopment: a focus on mechanisms / B.D. Pearce // *Mol Psychiatry*. – 2001. – Vol. 6, № 6. – P. 634-646.

72. Maternal infections and subsequent psychosis among offspring / S.L. Buka [et al.] // *Arch Gen Psychiatry*. – 2001. – Vol. 58, № 11. – P. 1032-1037.

73. Plasma total cysteine, pregnancy complication, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine Study / L. El-Khairi [et al.] // *Am J Clin Nutr*. – 2003. – Vol. 77, № 2. – P. 467-472.

74. Stipanuk, M.H. Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine / M.H. Stipanuk // *Annu Rev Nutr*. – 2004. – Vol. 24. – P. 537-577.

75. Способ прогнозирования врожденного порока сердца у плода: пат № 13111 / А.Р.Плоцкий, Т.Ю.Егорова, А.В.Наумов, Е.М.Дорошенко; заявитель Гродненский медуниверситет. – № а 20080191; заявл. 21.02.08; опубл. 30.12.2008.

## Глава 8

### МЕТАБОЛИЗМ ГОМОЦИСТЕИНА ПРИ СЕПСИСЕ

Сепсис в современном обществе в связи с неуклонным ростом заболеваемости становится все более актуальной и пока не достаточно изученной проблемой медицинской науки. Обусловлено это объективными факторами, такими как увеличение количества инвазивных вмешательств, постарение населения, увеличение числа людей с хроническими заболеваниями, нарушения в иммунной системе и многие другие. Многочисленные исследования по изучению патогенеза и поиску новых путей решения этой проблемы не привели к снижению летальности от сепсиса, которая остается стабильно высокой – от 30 до 80%. [5].

Патогенез сепсиса включает изменения, возникающие в организме в результате неконтролируемого выброса цитокинов и других эндогенных медиаторов воспаления [13].

Для патогенеза сепсиса характерно также нарушение функционирования многих регулирующих гомеостаз систем. Это проявляется образованием токсических соединений и накоплением в аномально высоких концентрациях продуктов метаболизма, таких как лактат, пируват, креатинин, различных альдегидов, кетонов, биогенных аминов, лизосомальных белков и ферментов, цитокинов, продуктов перекисного окисления липидов, оксида азота, протеаз, свободных радикалов, иммунных комплексов, иммуноглобулинов и многих других [13, 16].

Сепсис имеет сходные звенья в патогенезе с сердечно-сосудистыми заболеваниями, так как в обоих случаях развивается эндотелиальная дисфункция, оксидативный стресс, нарушение гемостаза и обмена веществ [10, 12, 15, 19, 21]. О роли гомоцистеина при кардиоваскулярной патологии написано много статей и книг, а об изменении данной аминокислоты и ее метаболитов при сепсисе имеются лишь единичные публикации. В одном из немногочисленных исследований у пациентов с политравмой, которая осложнялась сепсисом,

было выявлено увеличение уровня гомоцистеина. Интересная закономерность прослеживалась относительно исхода сепсиса и концентрации гомоцистеина. У умерших пациентов уровень гомоцистеина был выше, чем у выживших [7].

При сепсисе происходит изменение обмена метионина и нарушение процессов трансметилирования [16]. Одним из образующихся при этом цитотоксичных метаболитов является гомоцистеин (Hcy). Накопление гомоцистеина в организме происходит как следствие дисбаланса между уровнем его наработки (S-аденозилметионин(SAM)-зависимые реакции) и удаления (реметилирование или транссульфуривание, выделение почками) [2, 16]. При сепсисе имеет место наработка в высоких количествах оксида азота, который является одним из известных ингибиторов ферментов транссульфуривания [13, 23].

Повышение гомоцистеина относят к факторам риска, участвующим в формировании дисфункции эндотелия сосудов, активации пролиферации гладкомышечных клеток, а также активации тромбоцитов и лейкоцитов [12]. В опытах, проведенных на животных, отмечено усиление гиперплазии неоинтимы после повреждения сосуда при высоком уровне гомоцистеина [10]. Некоторые исследователи указывают на то, что гомоцистеин влияет на функцию тканевого активатора плазминогена, стимулирует факторы свертывания (V, X, XII) и агрегацию тромбоцитов, а также ингибирует функцию естественных антикоагулянтов, таких как антитромбин III и протеин C [21].

На клеточном уровне гомоцистеин оказывает воздействие на активность процессов метилирования ДНК и протеинов, повышает экспрессию провоспалительных цитокинов, индуцирует оксидативный стресс [2].

Оксидативный стресс при гипергомоцистеинемии возникает в силу нескольких причин, во-первых, вследствие подавления ферментов-антиоксидантов (супероксид дисмутаза, глутатион пероксидазы, тиоредоксина) [19]. Во-вторых, из-за ингибирования Zn(II) содержащего фермента  $N^G, N^G$ -диметиларгинин диметиламиногидролазы (DDAH, EC 3.5.3.18), расщепляющего асимметричный диметиларгинин (aDMA),

избыток которого ведет к ингибированию NO-синтаз (NOS) и способствует выработке большого количества свободных радикалов кислорода. Кроме того, гомоцистеин повышает чувствительность клетки к цитотоксическому действию агентов, способных генерировать свободные радикалы [19]. В-третьих, при гипергомоцистеинемии имеет место активация экспрессии прооксидантных ферментов, в том числе – НАДФН-оксидазы (Nox).

Повышенные концентрации гомоцистеина при отсутствии достаточной антиокислительной защиты приводят к накоплению активных форм кислорода, следствием чего является дегенерация и фрагментация ДНК, активация поли-(АДФ)-рибоза-полимеразы, истощение энергетических запасов клетки, высвобождение цитохрома С из митохондрий и активация проапоптозного каскада семейства каспаз, и в итоге – апоптоз / некроз клетки [2].

Общая концентрация гомоцистеина в плазме крови состоит из свободного (< 1%), связанного с белками (~ 80% связано с альбумином) и представленного в форме дисульфидов (цистин, Hcy-Cys и проч.), поэтому элиминация связанного гомоцистеина представляет некоторые трудности [9].

Так как гипергомоцистеинемия является повреждающим фактором при многих состояниях, активно изучаются возможности ее коррекции. Наиболее доступными факторами снижения уровня гомоцистеина являются витамины В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub> и фолиевая кислота [2]. В ряде случаев это ведет к улучшению течения заболеваний, в частности ИБС [2]. Что же касается сепсиса, то в ответ на патогенетическое изменение пролиферативной активности лейкоцитов, в эксперименте, наблюдается дозозависимый рост концентрации гомоцистеина в среде инкубации, достигая 600% по сравнению с базовой величиной [11]. Интересно, что этот эффект подавляют противовоспалительные препараты – ацетилсалициловая кислота и ингибитор 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзим А редуктазы – аторвастатин [3, 4]. Других, не экспериментальных методов снижения гомоцистеина за короткий промежуток времени при сепсисе в литературе нами не найдено.

Элиминация гомоцистеина изучалась при проведении программного гемодиализа (ГД) у пациентов с хронической почечной недостаточностью. При этом, несмотря на то, что содержание гомоцистеина в крови после сеанса стандартного ГД снижалось на 20-40%, общепризнанной является неэффективность диализной коррекции гипергомоцистеинемии, поскольку за 4-5-часовой сеанс ГД выводится лишь около 100 мкмоль гомоцистеина. Низкий уровень экскреции гомоцистеина при ГД обусловлен главным образом тем, что основная часть (примерно 80%) гомоцистеина плазмы циркулирует в связанном с белками виде [9].

Следует иметь в виду, что существует прямая положительная корреляция между концентрациями гомоцистеина, креатинина и мочевой кислоты в плазме крови, что, по всей вероятности, отражает тесное взаимодействие их обмена [15]. Если сравнить  $K_m$  ферментов, метаболизирующих гомоцистеин, то он гораздо выше для транссульфурирования, чем ре- и транс-метилования. Например,  $K_m$  цистатионин  $\beta$ -синтазы (CBS) на порядок выше  $K_m$  обеих гомоцистеин метилтрансфераз. Следовательно, реметилование преимущественно протекает при низких концентрациях Hcy, в то время как CBS утилизирует гомоцистеин при высоких концентрациях [8].

Одним из продуктов реакции трансметилирования гомоцистеина является цистеин, повышенное содержание которого также оказывает цитотоксическое воздействие.

Таким образом, данных по обмену гомоцистеина при сепсисе немного. В данной главе мы приведем данные нашего открытого рандомизированного исследования пациентов с сепсисом, которое включало 139 человек. Целью было изучение состояния обмена гомоцистеина при сепсисе и поиск методов его коррекции.

### **Материалы и методы**

В ходе исследования обследовано 139 пациентов, проходивших лечение в отделении анестезиологии-реанимации и интенсивной терапии Учреждения здравоохранения «Гродненская областная клиническая больница». При поступлении

пациентов с клиническими проявлениями сепсиса, отвечавшим критериям включения в исследование и не имевшим противопоказаний к участию (критерии исключения), проводилась рандомизация с использованием программы-генератора случайных чисел [20] по 4 группам с использованием разных экстракорпоральных методов или без них. Пациентам с тяжелым сепсисом, при тяжести состояния по шкале APACHE II более 30 баллов, исходя из данных литературы, проводили операцию плазмафереза, как «терапию отчаянья» [22].

Критериями включения пациентов были: наличие диагноза «сепсис» различной степени тяжести (сепсис, тяжелый сепсис, септический шок или сепсис с полиорганной недостаточностью) и любой этиологии (абдоминальный, панкреатогенный, акушерский, менингеальный, тонзиллогенный, одонтогенный и др.) согласно критериям Согласительной Конференции Американского колледжа пульмонологов и специалистов критической медицины (1992 г.); возраст от 17 до 85 лет. Пациент исключался из исследования при наличии любого из следующих критериев: беременность; острое нарушение мозгового кровообращения, инфаркт миокарда, коронарная ангиопластика или шунтирование в течение последних 6 месяцев до исследования; наличие злокачественной опухоли в организме; наличие ВИЧ-инфекции или хронического вирусного гепатита В или С; туберкулез легких или внутренних органов; эпилепсия с клонико-тоническими судорогами; неконтролируемая артериальная гипертензия, определяемая как 2 значения диастолического давления более 110 мм рт. ст. или 2 значения систолического артериального давления более 180 мм рт. ст.; наличие хронической почечной недостаточности любой стадии, цирроза печени, хронического алкоголизма и наркомании.

Все больные получали традиционное лечение: антибиотики, инфузионная терапия, парентеральная и иммунокорригирующая терапия, респираторная и инотропная поддержка (при необходимости).

В группу 1 вошли 28 пациентов, которых лечили согласно стандартным протоколам лечения сепсиса без использования экстракорпоральных методов гемокоррекции.

Группу 2 составили 10 пациентов: стандартные протоколы лечения сепсиса с использованием плазмафереза.

Группа 3 включала 49 пациентов: стандартные протоколы лечения сепсиса с использованием гемосорбции через гемосорбент «Овосорб».

Группа 4 – 37 пациентов: стандартные протоколы лечения сепсиса с применением гемосорбции через гемосорбент «Овосорб» с экстракорпоральной аутогемомагнитотерапией.

Группа 5 – 15 пациентов: стандартные протоколы лечения сепсиса с применением гемосорбции через гемосорбент «Симплекс-Ф» с экстракорпоральной аутогемомагнитотерапией.

Исследуемые параметры изучали в 6 этапов – при поступлении (до проведения 1-й процедуры), затем через 1 час после 1-й процедуры, через 24 часа после 1-й процедуры, до 3-й процедуры, через 1 час после 3 процедуры и после всего курса терапии. В группе 1 показатели определяли при поступлении в отделение реанимации и после всего курса терапии.

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием программы «Statistica 5.5». Медианой (Me), верхней и нижней квартилями представлены величины, не имеющие приближенно нормальное распределение. Для принятия решения о виде распределения применялся критерий Шапиро-Уилка. Уровень значимости принят 5%. При сравнении независимых групп с ненормальным распределением значений одного или двух количественных признаков использовался непараметрический метод – критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферонни. При сравнении зависимых групп с ненормальным распределением значений использовался непараметрический метод – критерий Вилкоксона.

Гомоцистеин, цистеин, глутатион, цистеин-глицин определяли в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC – high-performance liquid chromatography) на аппарате «Agilent 1100» (Германия) с флуоресцентной детекцией с использованием высокорее-

гентного восстановителя Tris(2-carboxyethyl)phosphin (ТСЕР) с последующей дериватизацией 7-флюоробензо-2-оксо-1,3-дiazол-4-сульфонатом аммония (SBD-F, ammonium 7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazole-4-sulfonate) фирмы «Fluca» (Германия) [6]. В качестве внутреннего стандарта использовали N-ацетилцистеин (НАС) [14].

### **Результаты и их обсуждение**

В группе, которая включала 28 здоровых доноров станции переливания крови, уровень общего гомоцистеина составил 5,3 (4,4; 6,1) мкмоль/л, цистеина (Cys) 270 (224; 296) мкмоль/л, цистеин-глицина (CysGly)  $23,7 \pm 4,9$  мкмоль/л, глутатиона (GSH)  $2,4 \pm 1$  мкмоль/л, нитратов/нитритов 27 (25,6; 29) ммоль/л.

Первоначально было изучено содержание гомоцистеина в плазме крови пациентов с сепсисом. Данные по изменению уровня гомоцистеина представлены в таблице 8.1.

При поступлении у всех пациентов с сепсисом отмечается статистически значимое повышение содержания гомоцистеина в плазме крови по сравнению со здоровыми донорами ( $p < 0,001$ , критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони (U)).

В ходе проведения и при завершении интенсивной терапии в группе 1, группе 2, группе 5, изменения количества цитотоксичной аминокислоты не происходит – сохраняется ее повышенный уровень.

У пациентов группы 3 через 24 часа после проведения первой гемосорбции отмечается тенденция к снижению уровня гомоцистеина с 9,4 мкмол/л до 7,26 мкмол/л. Через 1 час после третьей процедуры наблюдается противоположная тенденция – увеличение уровня гомоцистеина с 7,15 до 8,14 мкмол/л ( $p > 0,05$ , критерий Вилкоксона). В группе 4 также отмечается тенденция к увеличению гомоцистеина через 1 час после проведения первой и третьей процедур. Но через 24 часа наблюдается сходная тенденция, как и в группе 3, снижение гомоцистеина.

Таблица 8.1 – Динамика изменения гомоцистеина у пациентов с сепсисом

Этапы исследования	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5
Гомоцистеин, мкмоль/л	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)
При поступлении или до 1-й процедуры	11,03 (8,7; 12,5)	12,2 (7,1;20) 0,5**	9,7 (6,7; 14,1) 0,7**	9,5 (6,1;14,23) 0,4**	9,4 (6,7;13,2) 0,71**
После 1-й процедуры через 1 час	-	14,1 (10;17) 0,7*	9,4 (6,6; 12,1) 0,3*	9,9 (7;15) 0,7*	9,2 (7;12,8) 0,5*
После 1-й процедуры через 24 часа	-	16,3 (11;20) 0,9*	7,26 (5,17; 12,3) 0,6*	8,49 (6,3;12,7) 0,6*	9,7 (7,1;15,8) 0,43*
До 3-й процедуры	-	-	7,15 (6,3; 9,5) 0,2*	6,8 (4,8;8,3) 0,09*	-
После 3-й процедуры через 1 час	-	-	8,14 (5,29; 10,1) 0,22*	7,8 (5;14,6) 0,1*	-
При переводе или после всех процедур	10,9 (7,3; 18,8) 0,78*	17,3 (12,24) 0,1*	5,6 (4,3; 9,5) 0,05* 0,008**	5,6 (4,3;7,2) 0,05* 0,04**	10,2 (7,3;15,3) 0,8**

Примечания:

1. (-) – показатель не изучали;
- 2.\* – уровень р (критерий Вилкоксона по отношению к началу лечения);
- 3.\*\* – уровень р (критерий Манна-Уитни (U)) по отношению к сходному этапу лечения группы 1).

После завершения курса лечения в группе 3 и группе 4 при сравнении с начальным этапом отмечается достоверное снижение гомоцистеина до 5,6 мкмоль/л, что соответствует содержанию аминокислоты у здоровых доноров.

Выявлено статистически значимое различие концентрации гомоцистеина между группой 1 и группой 3, а также между группой 1 и группой 4 на конечном этапе исследования ( $p < 0,05$ , критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферони(U)).

В группе 5 при проведении гемокарбоперфузии не выявлено изменения количества гомоцистеина в плазме пациентов с сепсисом.

Одним из продуктов реакции трансметилирования гомоцистеина является цистеин, повышенное содержание которого также оказывает цитотоксическое воздействие. Его количество определяли в плазме крови. Данные по изменению уровня цистеина у пациентов с сепсисом представлены в таблице 8.2.

Таблица 8.2 – Динамика изменения цистеина у пациентов с сепсисом

Этапы исследования	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5
Цистеин, мкмоль/л	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)
При поступлении или до 1-й процедуры	292 (222; 371)	296,6 (201;470) 0,5**	287,8 (161; 425) 0,9**	307,3 (159; 446,9) 0,6**	290 (180;387) 0,9**
После 1-й процедуры через 1 час	-	383,8 (305,4; 462,3) 0,09*	299 (191; 376) 0,5*	318,2 (170,7;376) 0,9*	337 (267;448) 0,5*
После 1-й процедуры через 24 часа	-	483,3 (236,7;624) 0,07*	269,9 (200; 425) 0,7*	274,4 (197,9; 40,5) 0,7*	302 (189;412) 0,3*
До 3-й процедуры	-	-	317 (249;383) 0,2*	295,7 (229,2 390,6) 0,4*	-
После 3-й процедуры через 1 час	-	-	451 (271; 531) 0,02*	461,7 (280,8;515,) 0,01*	-
При переводе или после всех процедур	389 (309; 561) 0,1*	309,9 (215,9; 378,4) 0,05**	276 (181; 299) 0,04* 0,02**	282,1 (176;311) 0,03* 0,04**	310 (205;370) 0,05**

Примечания:

1. (-) – показатель не изучали;
2. \* – уровень р (критерий Вилкоксона по отношению к началу лечения);
3. \*\* – уровень р (критерий Манна-Уитни (U) по отношению к сходному этапу лечения группы 1).

При сравнении уровня цистеина у пациентов с сепсисом при поступлении в ОАРИТ со здоровыми донорами значимого увеличения этой аминокислоты не выявлено ( $p > 0,05$  критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферонни (U)).

После проведения консервативной терапии в группе 1 отмечается тенденция к нарастанию количества цистеина в плазме крови пациентов с 292 до 389 мкмол/л.

В группе 2 отмечается тенденция к увеличению цистеина с 296,6 до 383,8 мкмол/л через 1 час после проведения первого плазмафереза. Через 24 часа после плазмообмена содержание аминокислоты увеличилось до 483,3 мкмол/л ( $p > 0,05$  критерий Вилкоксона). Затем при исследовании после всего курса терапии у пациентов группы 2 и группы 1 наблюдалось статистически достоверное различие по содержанию цистеина (группа 2 – 309,9 мкмол/л, группа 1 – 389 мкмол/л ( $p = 0,05$ , критерий Манна-Уитни (U))).

В группе 3 и группе 4 после проводимых процедур наметилась тенденция к увеличению уровня цистеина, которая полностью исчезла через 24 часа. Статистически значимое увеличение цистеина выявлено после проведения трех гемосорбций в группе 3 с 317 до 451 мкмол/л, а в группе 4 с 295,7 до 461,7 мкмол/л. Но на следующие сутки количество аминокислоты приближалось к уровню здоровых доноров, и после всей комплексной терапии полностью нормализовалось (группа 3 – 276 мкмол/л, группа 4 – 282,1 мкмол/л). В конце терапии наблюдалось статистически достоверное различие между группой 1 (389 мкмол/л) и группой 3 (276 мкмол/л), а также группой 1 и группой 4 (282,1 мкмол/л) по содержанию цистеина ( $p < 0,05$ , критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферонни (U)).

В группе 5 существенного изменения в содержании цистеина не происходило. После первой гемокарбоперфузии отмечено статистически недостоверное увеличение аминокислоты. При завершении терапии отмечается статистически значимое различие между уровнем цистеина в группе 1 и группе 5.

Изменение цистеина взаимосвязано с изменением гомоцистеина. После проведения первой и третьей гемосорбций

как с магнитной обработкой крови, так и без неё, отмечается тенденция к увеличению аминокислот – гомоцистеина и цистеина. Также отмечается еще одна сходная закономерность, которая заключается в том, что через 24 часа после проведения сеанса гемосорбции происходит снижение уровня этих двух цитотоксичных аминокислот. На процессы изменения клеточного метаболизма гомоцистеина оказывает влияние ишемия и реперфузия тканей и органов. Первоначальный рост гомоцистеина и цистеина, возможно, связан с включением в кровоток тканей и органов, у которых отмечалась гипоперфузия, так как одним из эффектов гемосорбции через гемосорбент «Овосорб» является стабилизация гемодинамики улучшения микроциркуляции [1]. А затем в течение суток восстанавливается активность ферментов транссульфурирования, и происходит нормализация содержания гомоцистеина и цистеина.

При сепсисе нарушаются механизмы антиоксидантной защиты. При сравнении концентрации глутатиона у пациентов с сепсисом во всех 5 группах отмечается достоверное ее увеличение по сравнению со здоровыми донорами ( $p < 0,05$ ). Данные по изменению уровня глутатиона у пациентов с сепсисом представлены в таблице 8.3.

В группе 1 без экстракорпоральной детоксикации не наблюдается изменения глутатиона в плазме крови при проведении консервативной терапии, а сохраняется его повышенное количество в сравнении со здоровыми донорами на всех этапах исследования ( $p = 0,1$ ).

В группе 2 отмечается статистически недостоверное снижение глутатиона после первой операции плазмафереза. На дальнейших этапах уровень был одинаковым – 3,4 мкмоль/л.

При использовании гемосорбента «Овосорб» (группа 3) и в комбинации с магнитной обработкой крови (группа 4) отмечается тенденция к снижению глутатиона после первой процедуры с 4,25 до 2,9 мкмоль/л и с 3,6 до 3,2 мкмоль/л, соответственно. Через 24 часа происходит статистически недостоверное увеличение глутатиона (группа 3 – 3,4 мкмоль/л,

Таблица 8.3 – Динамика изменения глутатиона у пациентов с сепсисом

Этапы исследования	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5
Глутатион, мкмоль/л	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)
При поступлении или до 1-й процедуры	4,4 (2,7; 10)	3,9 (2,2;5) 0,5**	4,25 (2,8; 5,6) 0,9**	3,6 (2,3; 5) 0,6**	4,3 (2,4;5,7) 0,87**
После 1-й процедуры через 1 час	-	3,2 (2,31;4,8) 0,7*	2,9 (2,17; 4,6) 0,5*	3,2 (2,4; 4,6) 0,46*	4,07 (2,7;5,8) 0,67*
После 1-й процедуры через 24 часа	-	3,4 (2,3;5,2) 0,9*	3,4 (2,2; 5) 0,7*	3,6 (2,4; 4,7) 0,7*	3,97 (2,5;5,61) 0,9*
До 3-й процедуры	-	-	3 (1,9; 4,4) 0,2*	3 (1,9; 4,6) 0,08*	-
После 3-й процедуры через 1 час	-	-	2,9 (2; 3,5) 0,02*	3,1 (2,4; 4,6) 0,07*	-
При переводе или после всех процедур	4,6 (3,3;8) 0,1*	3,4 (2,5; 5,7) 0,07* 0,5**	3,6 (2,6; 5,38) 0,05* 0,8**	3,3 (2,6;5,9) 0,049* 0,52**	3,8 (2,5;5,7) 0,069* 0,05**

Примечания:

1. (-) – показатель не изучали;
2. \* – уровень p (критерий Вилкоксона по отношению к началу лечения);
3. \*\* – уровень p (критерий Манна-Уитни (U) по отношению к сходному этапу лечения группы 1).

группа 4 – 3,6 мкмоль/л) в плазме пациентов. При завершении интенсивной терапии с использованием гемосорбции уровень глутатиона имеет тенденцию к снижению в группе 3 до 3,6 мкмоль/л и в группе 4 с использованием МОК до 3,3 мкмоль/л при сравнении с начальным этапом исследования. Возможно, снижение глутатиона после проведения гемоперфузии обусловлено его избыточным потреблением в результате компенсаторной реакции окислительного стресса, при ликвидации явлений нарушения микроциркуляции. Дальнейшая нормализация содержания глутатиона в группе 3 и группе 4 также связана со снижением концентрации его предшественника цистеина.

В группе 5 статистически значимых изменений глутатиона в ходе исследования не было выявлено. После окончания интенсивной терапии уровень глутатиона был достоверно выше при сравнении группы 1, в которой не применяли методы экстракорпоральной гемокоррекции, со всеми остальными группами.

Данные по изменению уровня цистеин-глицина у пациентов с сепсисом представлены в таблице 8.4.

Таблица 8.4 – Динамика изменения цистеин-глицина у пациентов с сепсисом

Этапы исследования	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5
Цистеин-глицин, мкмоль/л	Ме (25;75)	Ме (25;75)	Ме (25;75)	Ме (25;75)	Ме (25;75)
При поступлении или до 1-й процедуры	34 (23; 42)	40 (20,2; 50) 0,87**	32 (18; 38) 0,7 0,5**	28,9 (21,6; 77,1) 0,2**	36,2 (18,2; 43) 0,7**
После 1-й процедуры через 1 час	-	45 (28; 78) 0,09*	26 (20; 32) 0,078*	27,8 (24,6; 86,2) 0,3*	42,6 (20; 66) 0,067*
После 1-й процедуры через 24 часа	-	60 (37;90) 0,04*	29,5 (20; 50) 0,7*	32,6 (21,5; 43,55) 0,2*	42,2 (25; 61) 0,09*
До 3-й процедуры	-	-	28 (20; 39) 0,2*	30,8 (23,6; 42,8) 0,4*	-
После 3-й процедуры через 1 час	-	-	25 (20; 32) 0,02*	27,4 (21,5; 43,5) 0,7*	-
При переводе или после всех процедур	56 (34; 41) 0,08*	33,6 (21;42) 0,07* 0,06**	29,4 (19; 38) 0,5* 0,05**	25,9 (20,9; 36,3) 0,03* 0,05**	33,2 (24;37) 0,6* 0,07**

Примечания:

1. (-) – показатель не изучали;
2. \* – уровень р (критерий Вилкоксона по отношению к началу лечения);
3. \*\* – уровень р (критерий Манна-Уитни (U) по отношению к сходному этапу лечения группы 1).

При дальнейшем изучении обмена глутатиона было также выявлено, что при поступлении у пациентов группы 1, группы 2, группы 3, группы 4 и группы 5 наблюдается повышенное содержание цистеин-глицина по сравнению со здоровыми донорами ( $p < 0,05$ , критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферони). При дальнейшем проведении консервативной терапии без использования методов экстракорпоральной детоксикации в группе 1 наблюдается тенденция к росту этого метаболита в плазме крови.

В группе 2 после плазмафереза наблюдается тенденция к росту цистеин-глицина, что проявляется в достоверном его увеличении через 24 часа после процедуры. После всей комплексной терапии уровень составил 33,6 мкмоль/л, что выше уровня здоровых доноров.

У пациентов в группе 3 и группе 4 происходит после 1-й процедуры статистически незначимое уменьшение цистеин-глицина после первой и после третьей процедуры. Через 24 часа после первой процедуры отмечается тенденция к росту данного метаболита. После проведения всех процедур наблюдается снижение цистеин-глицина до 29 мкмоль/л в группе 3 и до 25,9 мкмоль/л в группе 4, что достоверно ниже, чем содержание у пациентов группы 1 – 56 мкмоль/л. В группе 4 отмечается достоверное снижение уровня цистин-глицина в сравнении с начальным этапом лечения.

В группе 5 отмечается тенденция к увеличению цистеин-глицина после гемокарбоперфузии как через 1 час, так и через 24 часа. В конце терапии не получено различия между показателем цистеин-глицина в сравнении с начальным этапом лечения.

Полученные данные свидетельствуют о нормализации процессов обмена гомоцистеина при применении гемосорбции через антипротеиназный гемосорбент «Овосорб». Возможно, существует несколько путей достижения вышесказанного. Во-первых, увеличение концентрации гомоцистеина и цистеина после проведения сеанса экстракорпоральной детоксикации с применением гемосорбента «Овосорб» связано с улучшением микроциркуляции, что в дальнейшем и приводит к нормализации метаболизма и обмена метионина. Во-

вторых, одним из механизмов может быть изменение пролиферативной активности лейкоцитов после гемосорбции, что способствует также нормализации оксидоредуктазных процессов в клетках, приводит к повышению уровня и активности цистатионин  $\beta$ -синтетазы (CBS) – скорость-лимитирующего фермента пути транссульфурирования Hcy, что позволяет спустя некоторое время (через 24 часа после процедуры) снизить уровень цитотоксичных аминокислот – цистеина и гомоцистеина. Уровень антиоксидантов глутатиона и его плазменного предшественника цистеин-глицина повышен. При этом снижается концентрация этих веществ к нормальным показателям только при проведении гемоперфузии через гемосорбент «Овосорб».

Отмечена важная закономерность в связи уровня гомоцистеина и тяжести состояния больных по шкале APACHE II. Данные представлены в таблице 8.6. При поступлении отмечается положительная корреляционная связь между сравниваемыми показателями, но только статистически не значимая при анализе уровня тяжести пациентов по APACHE II. Таким образом, выяснилось несколько закономерностей: чем больше количество баллов по шкале APACHE II и SOFA, тем выше уровень гомоцистеина.

Таблица 8.6 – Корреляция тяжести состояния больных по шкале APACHE II, SOFA и уровня гомоцистеина

Сравниваемые параметры	Коэффициент Spearman, r	P
APACHE II и уровень гомоцистеина	0,54	0,02
SOFA и уровень гомоцистеина	0,51	0,001

Также было изучено влияние на выживаемость уровня гомоцистеина в плазме крови. Анализ проводился с помощью регрессионной модели Кокса.

В результате выявлено, что выживаемость ассоциирована с уровнем гомоцистеина как при поступлении, так и при завершении терапии. Данные анализа представлены в таблице 8.7.

Таблица 8.7 – Регрессионная модель Кокса выживаемости и уровня гомоцистеина

Независимые признаки	Коэффициент бета	Стандартная ошибка	P
Уровень гомоцистеина при поступлении	0,035147	0,018496	0,05
Уровень гомоцистеина при завершении терапии	0,125005	0,053414	0,019

Таким образом, в зависимости от концентрации гомоцистеина наступает время летального исхода пациентов. Данные модели подтверждают ассоциации.

### Выводы

1. Уровень гомоцистеина и цистеина в плазме крови пациентов с сепсисом повышен.
2. В процессе интенсивной терапии без применения экстракорпоральной гемокоррекции уровни гомоцистеина и цистеина в плазме крови не снижаются.
3. Применение гемоперфузии через антипротеиназный гемосорбент «Овосорб» позволяет нормализовать обмен гомоцистеина, его количество и содержание цистеина в плазме крови септических пациентов снижается до нормальных показателей.
4. Уровень гомоцистеина коррелирует с оценкой тяжести состояния больных по шкалам APACHE II и SOFA.
5. Концентрация гомоцистеина влияет на выживаемость пациентов с сепсисом.

### Литература

1. Кирковский, В.В. Детоксикационная терапия при перитоните / В.В. Кирковский. – Минск, 1997. – 190 с.
2. Наумов, А.В. Роль нарушений процессов метилирования и обмена метионина в патогенезе заболеваний человека / А.В. Наумов // Журнал ГрГМУ. – 2007. – №1. – С. 4-7.
3. Aspirin downregulates homocysteine formation in stimulated human peripheral blood mononuclear cells / K. Schroecksadel [et al.] // Scand J Immunol. – 2005. – Vol. 62 (2). – P. 155-160.

4. Atorvastatin suppresses homocysteine formation in stimulated human peripheral blood mononuclear cells / K. Schroecksnadel [et al.] // *Clin Chem Lab Med.* – 2005. – Vol. 43 (12). – P. 1373-1376.
5. Baron, R.M. Pathobiology of Sepsis Are We Still Asking the Same Questions? /RM Baron, MJ Baron, MA Perrella // *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology.* – 2006. – Vol. 34. – P. 129-134.
6. Determination of plasma and serum homocysteine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection/ G. Minniti [et al.] / *J Chromatogr A.* – 1998. – Vol. 828(1-2). – P. 401-405.
7. Early Increase of Plasma Homocysteine in Sepsis Patients with Poor Outcome / M. Ploder [et al.] // *Mol Med.* – 2010. – Vol. 26. – P. 123-129.
8. Finkelstein, JD. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation / JD. Finkelstein // *Eur J Pediatr.* – 1998. – Vol. 157, Suppl 2. – P. S40-S44.
9. Glushchenko, AV. Molecular targeting of proteins by L-homocysteine: mechanistic implications for vascular disease/ AV. Glushchenko, DW. Jacobsen // *Antioxid Redox Signal.* – 2007 – Vol. 9, № 11. – P. 1883-1898.
10. Hansrani, M. Homocysteine in myointimal hyperplasia / M. Hansrani, J. Gillespie, G. Stansby // *Eur J Vasc Endovasc Surg.* – 2000. – Vol. 23. – P. 3-10.
11. Homocysteine accumulates in supernatants of stimulated human peripheral blood mononuclear cells / K. Schroecksnadel [et al.] // *Clin Exp Immunol.* – 2003. – Vol. 134 (1). – P. 53-56.
12. Homocysteinemia: vascular injury and arterial thrombosis / L. Harker [et al.] // *N Engl J Med.* – 1974. – Vol. 291. – P. 537-543.
13. Hotchkis, R.S. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis/ R.S. Hotchkis, I. Karl // *N Engl J Med.* – 2003. – Vol. 348. – P. 138-150.
14. Hyperhomocysteinemia induced by folic acid deficiency and methionine load--applications of a modified HPLC method. /Durand P [et al.] // *Clin Chim Acta.* – 1996. – Vol. 252, № 16 – P. 83-93.
15. Jacobsen, DW. Determinants of hyperhomocysteinemia: a matter of nature and nurture / DW. Jacobsen // *Am J Clin Nutr.* – 1996. – Vol. 64, № 4. – P.641-642.

16. Methionine metabolism in an animal model of sepsis / A. Semmler [et al.] // Clin Chem Lab Med. – 2008. – Vol. 46. – P. 1398-1402.

17. Moderate hyperhomocysteinemia and immune activation / K. Schroecksadel [et al.] // Curr Pharm Biotechnol. – 2004. – Vol. 5 (1). – P. 107-118.

18. Navumau, A.V. Plasma homocysteine levels in pregnant women with birth defects fetuses / A.V. Navumau, M.M. Zolotukhin, A.R. Plotski // Acta Biochem. Pol. – 2006. – Vol. 53, Suppl. 1. – P. 195.

19. Papatheodorou, L. Vascular oxidant stress and inflammation in hyperhomocysteinemia / L. Papatheodorou, N. Weiss // Antioxid Redox Signal. – 2007. – Vol 9, № 11. – P. 1941-1958.

20. Random generator source [Электронный ресурс]. – 2008. – Режим доступа: <http://www.grsmu.by/show.php?n=134.htm>. – Дата доступа: 21.02.2009.

21. Rodiono, RN. The homocysteine paradox/ RN Rodionov, SR Lentz // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2008. – Vol. 28, № 6. – P. 1031-1033.

22. Stegmayr, B.G. Apheresis of Plasma Compounds as a Therapeutic Principle in Severe Sepsis and Multiorgan Dysfunction Syndrome./ B.G. Stegmayr // Clin. Chem. Lab. Med. – 1999. – Vol 37, N 3. – P. 327-332] [Stegmayr, B.G. Is There a Place For Apheresis in Patients with Severe Sepsis or Multi Organ Dysfunction Syndrome?/ B.G. Stegmayr // Turk. J. Haematol. – 2000. – Vol 17, N 1. – P. 5-11

23. Taoka, S. Characterization of NO binding to human cystathionine beta-synthase: possible implications of the effects of CO and NO binding to the human enzyme / S. Taoka, R. Banerjee // J Inorg Biochem. – 2001. – Dec 15; 87 (4). – P. 245-251.

24. Welch, G. Homocysteine and atherosclerosis/ G.Welch, J. Loscalo//New Engl J Med. – 1998. – Vol. 338 (15). – P. 1042.

**Для заметок**

Научное издание

**Снежицкий Виктор Александрович  
Пырочкин Владимир Михайлович  
Спас Владимир Владимирович и др.**

**КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ  
ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ**

Монография

*Под общей редакцией  
В.А. Снежицкого, В.М. Пырочкина*

Ответственный за выпуск В.В.Зинчук

Компьютерная верстка А.В.Яроцкая  
Корректор Л.С.Засельская  
Дизайн обложки О.В.Снежицкая

Подписано в печать 21.10.2011. Формат 60x84/16. Бумага офсетная.

Гарнитура Таймс. Ризография.

Усл. печ. л. 17,0. Уч.-изд. л. 12,2. Тираж 100 экз. Заказ 202.

Издатель и полиграфическое исполнение  
учреждение образования

«Гродненский государственный медицинский университет».  
ЛИ № 02330/0548511 от 16.06.2009. Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.