

Параметры эндотелиальной функции и инсулинорезистентности больных метаболическим синдромом до и после снижения массы тела

А.М. Мкртумян, Е.В. Бирюкова, Н.В. Маркина, М.А. Гарбузова

МГМСУ

В клинической практике врачи различных специальностей довольно часто сталкиваются с метаболическим синдромом (МС), представляющим собой совокупность гормональных и метаболических нарушений, которые объединяет общий патофизиологический механизм – инсулинорезистентность (ИР) [1, 5, 11].

МС важен для клинициста не только как широко распространенная патология, но прежде всего как жизнеугрожающее состояние. Безусловно, этот синдром играет существенную роль в ускорении развития и прогрессирования заболеваний, связанных с атеросклерозом, которые, по оценкам экспертов ВОЗ, занимают первое место среди причин смертности населения индустриально развитых стран мира [12, 16, 19].

Эта ситуация особенно значима для России в связи с довольно высокой распространенностью рассматриваемого синдрома, составляющей, по данным ряда авторов, около 20% населения, и высокими показателями смертности от ИБС и мозгового инсульта в российской популяции [2, 4, 5].

Известно, что риск развития ишемической болезни сердца (ИБС), мозгового инсульта, общей и коронарной смертности возрастает по мере увеличения числа компонентов метаболического синдрома [14, 15, 20]. В исследовании J.H. Park и соавт., включавшем 478 пациентов с ишемическим инсультом, МС был выявлен у 53,4% больных (критерии NCEP АТР III), значение показателя толщины комплекса «интима–медия» сонных артерий повышалось прямо пропорционально увеличению числа имеющихся компонентов МС [20]. Связующим звеном между ИР и кардиоваскулярными заболеваниями, по видимому, является эндотелиальная дисфункция, изучению которой при различных метаболических заболеваниях уделяется большое внимание [9, 10, 22].

Дисфункция эндотелия, которая характерна для многих больных МС, является маркером метаболических и сосудистых нарушений [15, 22]. В начальный период развития атеросклеротического процесса, когда еще отсутствуют явные клинические проявления и видимые морфологические изменения сосудов, основную роль играет именно дисфункция эндотелия [9, 21]. Нарушение функции эндотелия также обсуждается в качестве одной из причин более быстрого развития, прогрессирования атеросклероза сосудов и его осложнений у больных МС [11,

18]. Так, недавние исследования показали, что надрывы бляшек, приводящих к инфаркту миокарда, не всегда происходят в зоне максимального стеноза коронарных артерий [13]. Напротив, они чаще возникают в местах небольших сужений – менее 50% по данным ангиографии. Исследование функции эндотелия у больных МС находится на этапах начального изучения [8, 15, 18]. Кроме того, особый интерес представляет изучение влияния снижения массы тела на состояние эндотелия при синдроме инсулинорезистентности.

Целью настоящей работы явилось изучение терапевтической эффективности сибутрамина (Редуксин) и влияния препарата на сердечно-сосудистые факторы риска, цитокиновый статус и эндотелиальную функцию у больных МС.

Материалы и методы

На клинической базе кафедры эндокринологии и диабетологии (ГКБ № 63) обследовано 20 пациентов (13 женщин и 7 мужчин) в возрасте от 20 до 47 лет (медиана 35 лет [30;37]) с индексом массы тела (ИМТ) более 27 кг/м². Диагностическими критериями МС являлись рабочие критерии, разработанные комитетом экспертов Национальной образовательной программы по холестерину (Adult Treatment Panel III, АТРИИ, 2001 г.). Критериями исключения из исследования являлись сахарный диабет, острые инфекции, тяжелая неконтролируемая артериальная гипертензия, острое нарушение мозгового кровообращения, инфаркт миокарда, перенесенные в течение последних 6 месяцев, прием глюкокортикоидов, булимия, наличие тяжелых соматических и психических заболеваний.

Исследование продолжалось в течение 13 недель (1 неделя – вводный период, 12 недель – период лечения). График исследования состоял из скринингового периода (за 1–2 недели до начала исследования – визит) и четырех визитов. Первый визит – стартовый (день 0), второй визит – через 4 недели, третий визит – через 8 недель и четвертый – через 12 недель от начала исследования.

На всех визитах проводился физикальный осмотр, оценивались антропометрические показатели (масса тела, индекс массы тела (ИМТ), окружность талии (ОТ), окружность бедер (ОБ), соотношение окружности талии и окружности бедер ОТ/ОБ), измерялось артериальное давление (АД), пульс. Лабораторные методы

Таблица

Динамика антропометрических показателей больных МС на фоне лечения сибутрамином

Параметр	Визит 0 Исходно	Визит 2 (через 4 нед.)	Визит 3 (через 8 нед.)	Визит 4 (через 12 нед.)	
Масса тела, кг	110,0 (106,0; 121,0)	108,2 (104,2; 116,4)	106,3 (96,4; 115,2)	103,0 (94,0; 113,0)	p=0,00010*
ИМТ, кг/м ²	32,3 (30,1; 35,3)	31,4 (29,3; 35,0)	30,8 (28,4; 34,1)	29,7 (27,6; 33,3)	p=0,000685*
ОТ, см	121 (110,0; 127)	119,8 (107,4; 125,1)	116,3 (104,6; 122,8)	114,4 (100,0; 120)	p=0,00010*
ОТ/ОБ	0,97 (0,95; 1,1)	0,95 (0,93; 1,0)	0,93 (0,91; 0,96)	0,89 (0,88; 0,92)	p=0,000104*

* По сравнению с исходным значением.

исследования, проводившиеся на первом и заключительном визитах, включали определение в сыворотке крови, взятой натощак после 12-часового голодания содержания С-реактивного белка, ФНО- α , метаболитов оксида азота, эндотелина-1 (ЭТ-1). Проводился пероральный глюкозотолерантный тест с 75 г глюкозы (ПГТТ), до и через 2 часа после нагрузки глюкозой (75 г) определяли уровни гликемии, иммунореактивного инсулина (ИРИ). ИР оценивалась с помощью гомеостатической модели определения или критерия HOMA-IR. Анализировалась сопутствующая терапия. Сибутрамин назначался в начальной дозе 10 мг, принимаемой однократно утром (день 0), на фоне гипокалорийного питания с дефицитом калорий 500–600 ккал по сравнению с расчетным индивидуальным показателем суточной калорийности и увеличения физической активности. В дальнейшем, если в течение 4-недель от начала лечения не достигалось снижения массы тела на 5% и более, то доза увеличивалась до 15 мг/сут.

Определение уровня лептина в сыворотке проводилось с помощью иммуноферментного анализа с использованием наборов HUMAN LEPTIN ELISA (DSL-10-23100) по стандартной методике. Заданный уровень нормальных значений для женщин составил до 23 нг/мл, для мужчин – 17 нг/мл. Уровень ФНО- α (нг/мл) определялся также методом иммуноферментного анализа с использованием наборов CYTELISA HUMAN TNF- α Cytimmune по стандартной методике. Эндогенную продукцию оксида азота (NO) оценивали по данным количественного анализа стойких метаболитов оксида

азота – ионов NO-2 + NO-3 (мкмоль/л) в сыворотке периферической крови. Концентрации последних определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре DU-50 (США) при длине волны 520 нм после предварительно проведенной аналитической реакции восстановления иона NO-3 в NO-2 («Экоаналитика»). Расчет результатов производили по калибровочному графику. Содержание ЭТ-1 (фмоль/мл) определяли с использованием коммерчески апробированного набора R&D Systems (Великобритания). Нормальным считали уровень до 0,35 фмоль/мл. С-реактивный протеин определяли высокочувствительным методом.

Статистическая обработка полученных данных проводилась на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для представления количественных данных приведены медиана и интерквартильный размах. Различия считались достоверными, если $p < 0,05$.

Результаты обследования и обсуждение

Как показали данные опроса больных, большинство, включенных в наше исследование, в прошлом имели неоднократные безуспешные попытки снижения массы тела (2–3 попытки – 30%, 3 и более – 70% больных). Среди пациентов более чем у половины отмечена контролируемая артериальная гипертензия (АГ), у 2 человек – НТГ. АГ имела место у 4 пациентов с анамнезом болезни более 5 лет и у 9 с анамнезом болезни менее 5 лет. Согласно данным антропометрического исследования на фоне терапии сибутрамином, у всех больных отмечалась положительная динамика со стороны антропометрических показателей (таблица). Разницы в динамике средних величин антропометрических параметров у мужчин и женщин не отмечалось. Снижение массы тела, наблюдаемое спустя одну неделю от начала терапии, продолжалось в течение всего периода лечения.

Через 12 недель лечения у всех больных наблюдали снижение массы тела, индивидуальные показатели которого колебались от 2,6 до 15 кг. За период наблюдения ОТ уменьшилась не менее чем на 4 см у 80% больных, у 20% – на 10 см и более по сравнению с исходным показателем (рис. 1). Также отмечено уменьшение окружности бедер.

У большинства больных снижение массы тела достигло клинически значимых величин (рис. 2). Так, к концу исследования 50% пациентов достигли снижения массы тела более 5% от исходной величины. У 40% масса тела снизилась на 10% и более от исходной величины, и только у 10% – менее 5%. В результате снижение массы тела

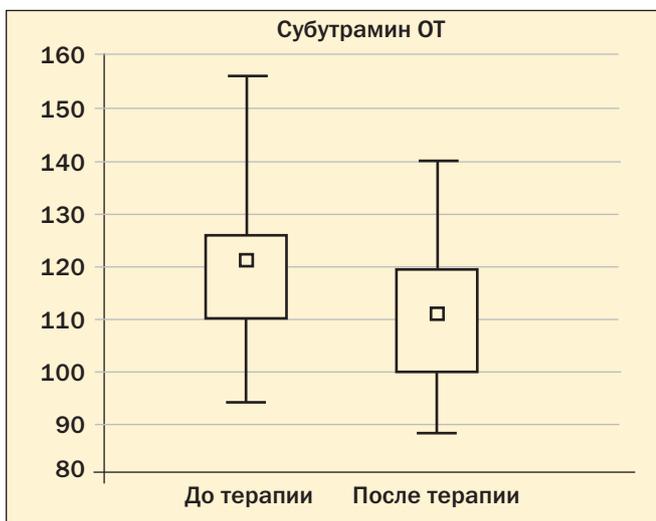


Рис. 1. Динамика окружности талии (ОТ, см) на фоне терапии сибутрамином у больных МС ($p=0,000104$)



Рис. 2. Количество больных МС (%), достигших клинически значимого снижения массы тела на терапии сибутрамином

сопровождалось закономерным уменьшением степени выраженности ожирения (рис. 3). Так, в начале исследования ожирение I степени наблюдалось у 20% больных, II степени – у 80% больных. В конце исследования частота избыточной массы тела у больных МС составила – 25%, ожирения I степени – 35%, II степени – 40%.

На фоне 3-месячной терапии сибутрамином не потребовалось изменения как суточных доз антигипертензивных препаратов, так и схемы гипотензивной терапии у пациентов с артериальной гипертензией. Кроме того, в течение всего периода лечения, у обследуемых пациентов не отмечалось резких колебаний АД. До лечения медиана и интерквартильный размах показателей САД и ДАД у больных МС составили соответственно: 140,0 мм рт. ст. [130,0; 150,0] и 132,0 мм рт. ст. [126,0; 134,0]. Через 12 недель терапии показатели САД и ДАД значительно снизились, медиана и интерквартильный размах составили соответственно 132,0 мм рт. ст. [126,0; 134,0] ($p=0,02$), 84,0 мм рт. ст. [80,0; 88,0] ($p=0,001$). Не было отмечено значимых изменений частоты сердечных сокращений, медиана и интерквартильный размах значений исходно составили 80,0 уд./мин [78,0; 82,0], после лечения – 80,0 уд./мин [74,0; 82,0] ($p=0,8$). Эти изменения свидетельствуют об улучшении функционального состояния сердечно-сосудистой системы у больных МС, наблюдаемом на фоне снижения массы тела под влиянием сибутрамина.

Снижение массы тела и висцеральной жировой ткани сопровождалось положительной динамикой и ряда других сердечно-сосудистых факторов риска. Показатели углеводного обмена улучшились, о чем свидетельствовало снижение уровня гликемии натощак, медиана и интерквартильный размах до лечения составили 5,6 ммоль/л [5,3; 6,1], после терапии 5,2 ммоль/л [5,1; 5,6], $p=0,01$. Позитивные изменения касались и показателей постпрандиальной гликемии, медиана и интерквартильный размах до лечения составили 6,5 ммоль/л [5,5; 7,2], после терапии – 4,9 ммоль/л [3,9; 5,6], $p=0,02$. Через 12 недель терапии сибутрамином у 2 пациентов с НТГ до лечения отмечена нормальная толерантность к глюкозе при проведении ОГТТ.

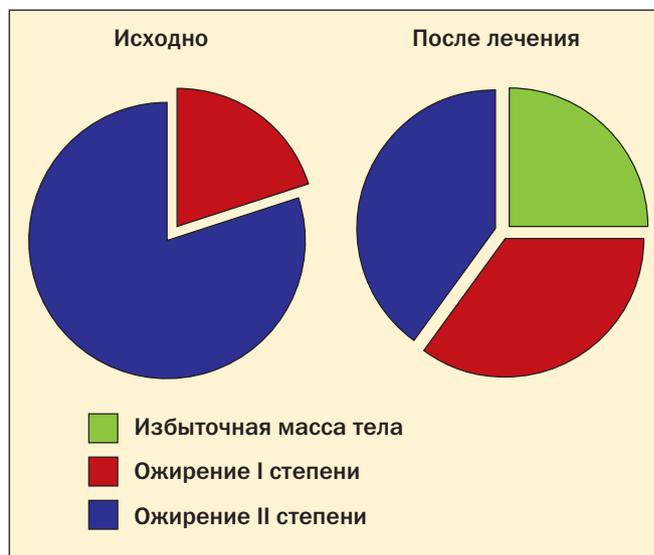


Рис. 3. Динамика массы тела больных МС в ходе исследования

В процессе наблюдения отмечено существенное снижение концентрации ИРИ, как базальной, так и стимулированной нагрузкой глюкозой (75 г). Так, медиана и интерквартильный размах базального ИРИ до лечения составили 15,0 мкЕД/мл [7,9; 23,3], после лечения – 10,4 мкЕД/мл [6,8; 14,5], $p=0,004$. Медиана и интерквартильный размах стимулированного ИРИ до лечения составили 34,0 мкЕД/мл [16,6; 44,0], после лечения – 25,1 мкЕД/мл [6,2; 44,0], различия статистически значимы, $p=0,049$. Одновременно с этим отмечалось значимое улучшение чувствительности тканей к инсулину (рис. 4). Повышение индекса НОМА IR исходно зарегистрировано у 90% больных. Медиана и интерквартильный размах НОМА IR до лечения составили 3,66 мкЕД/мл [1,97; 5,59], после лечения – 2,48 мкЕД/мл [1,72; 3,42], различия статистически значимы, $p=0,004$. Результатом лечения была нормализация чувствительности к инсулину у подавляющего большинства больных МС (85%).

Следовательно, описанные позитивные изменения в состоянии углеводного обмена отражают влияние сибутрамина на ИР, что приводит к улучшению чувствительности к инсулину при снижении массы тела у больных МС.

В настоящее время важная роль в развитии атеросклеротического процесса, начиная с ранних стадий, отводится эндотелиальной дисфункции [10, 14, 22]. Адгезия лейкоцитов и тромбоцитов, ангиогенез, тромбогенность, тонус и проницаемость сосудов являются эндотелийзависимыми процессами [6, 18, 22]. В ряде исследований показана обратимость эндотелиальной дисфункции под действием немедикаментозных методов и фармакотерапии [8, 15]. В связи с этим безусловный интерес представляло изучение влияния снижения массы тела в ходе терапии Редуксином на функцию эндотелия у больных МС, сопровождающегося высоким риском сердечно-сосудистых осложнений.

Одним из главных маркеров эндотелиальной дисфункции является концентрация в сыворотке крови мощного вазоконстриктора ЭТ-1, который уменьшает просвет сосудов и, соответственно, приводит к значи-

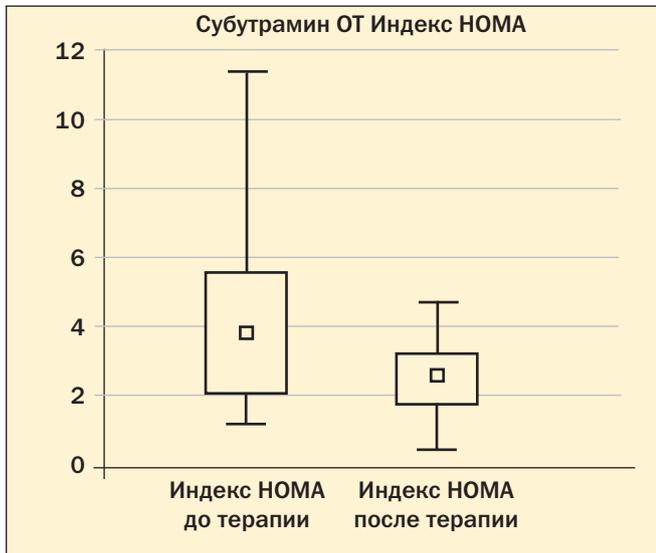


Рис. 4. Динамика индекса НОМА IR до и после терапии сибутрамином ($p=0,003609$)

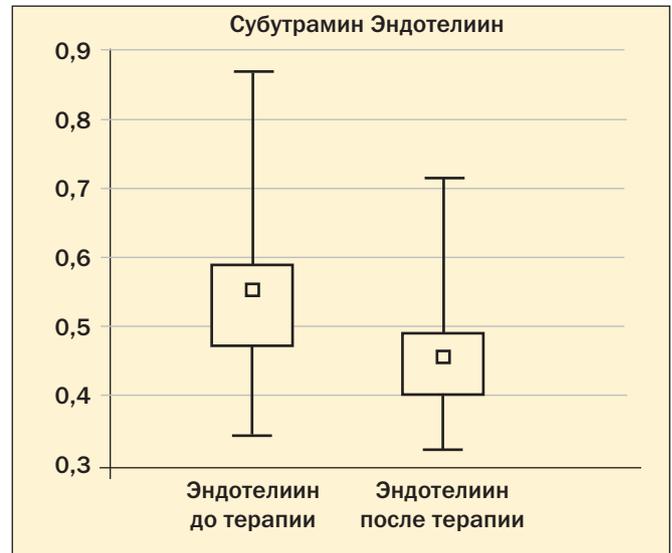


Рис. 5. Динамика концентрации ЭД-1 (фмоль/мл) на фоне терапии сибутрамином ($p=0,002569$)

тельному повышению периферического сопротивления [17]. В физиологических условиях концентрация ЭТ-1 в плазме очень мала, что связано прежде всего с ингибированием его синтеза NO и простаглицлином PGI₂ [19]. Секреция ЭТ-1 происходит в ответ на любое локальное изменение условий кровотока [17]. К стимулирующим факторам его секреции относятся механические стрессовые факторы, гипоксия, избыточная продукция ФНО- α , тромбина.

Изучение влияния терапии Редуксином на параметры эндотелиальной функции показало следующие результаты. У больных МС после лечения Редуксином достигнуто значимое уменьшение содержания ЭТ-1 (рис. 5). Медиана и интерквартильный размах ЭТ-1 до лечения составили 0,555 фмоль/мл [0,469; 0,588], после лечения – 0,463 фмоль/мл [0,404; 0,491], различия статистически значимы $p=0,03$.

Анализ динамики базального содержания метаболитов NO в крови при высоком исходном уровне на фоне лечения показал уменьшение продукции NO. Медиана и интерквартильный размах метаболитов NO в крови до лечения составили 58,24 мкмоль/л [48,88; 73,80], после лечения – 36,0 мкмоль/л [21,6; 44,6], различия статистически значимы, $p=0,0007$. Это дает возможность предположить адаптационное значение повышенной продукции NO у больных МС. Снижение базальной эндогенной продукции NO до нормальных показателей после лечения Редуксином, очевидно, обусловлено уменьшением метаболических расстройств, а главное – ИР.

Согласно современной концепции, ожирение рассматривается как провоспалительное состояние [6]. Жировая ткань, особенно висцеральной локализации, секретирует в кровь большое количество провоспалительных адипоцитокинов [7]. Можно полагать, что эндогенная продукция NO у больных МС увеличивается под действием ряда провоспалительных цитокинов и белков острой фазы, прежде всего ФНО- α , интерлейкина 6, С-реактивного протеина [9, 11]. Это носит, по-видимому, компенсаторный характер и направлено на подавление активности цитокинов с целью ограничения воспаления и повреждения сосудистого эндотелия.

С учетом вышесказанного избыточная продукция NO у больных МС может рассматриваться как защитный механизм, однако последствием могут быть и различные нарушения при высоких концентрациях. Известно, что биологический эффект NO зависит от его концентрации [3, 18]. Как избыток, так и дефицит NO крайне неблагоприятны для организма. В сравнительно небольшой концентрации, активируя растворимую гуанилатциклазу и вызывая тем самым повышение уровня цГМФ в клетках-мишенях, NO выполняет важнейшие регуляторные функции [6, 10, 15]. Однако высокие концентрации NO, обычно индуцируемые индуцибельной синтазой NO и в некоторых ситуациях другими изоформами, токсичны для различных клеток, ферментов, ионных каналов и генетического аппарата клетки (рис. 6). Главный патофизиологический механизм токсического действия избытка NO – это образование при взаимодействии NO с супероксид анион-радикалом высокотоксичного и стабильного пероксинитрита (ONOO-) [11]. Пероксинитрит способен интенсивно окислять NH- и SH-группы белков, ДНК, индуцировать процессы перекисного окисления липидов в мембранах клеток [21]. Кроме того, избыток NO нитрозилирует и тем самым ингибирует белки-ферменты дыхательной цепи митохондрий и цикла Кребса, в результате снижается синтез АТФ в клетках [8].

В последние годы большое внимание привлекает изучение цитокинового статуса при различных воспалительных состояниях, в том числе синдроме ИР [6]. Провоспалительные цитокины являются маркерами атеросклеротического риска и ЭД [7, 9, 22]. Результаты нашего исследования показали, что лечение сибутрамином привело к достоверному снижению концентрации ФНО- α . Так, медиана и интерквартильный размах ФНО- α до лечения составили 13,6 пг/мл [10,2; 17,8], после лечения – 9,1 пг/мл [7,7; 11,3], различия статистически значимы, $p=0,005$. Эффект Редуксина на ФНО- α в определенном смысле реализуется через влияние препарата на жировой обмен. ФНО- α экспрессируется в различных клетках, включая макрофаги, эндотелиоциты, фибробласты и адипоциты. Следовательно, уровень

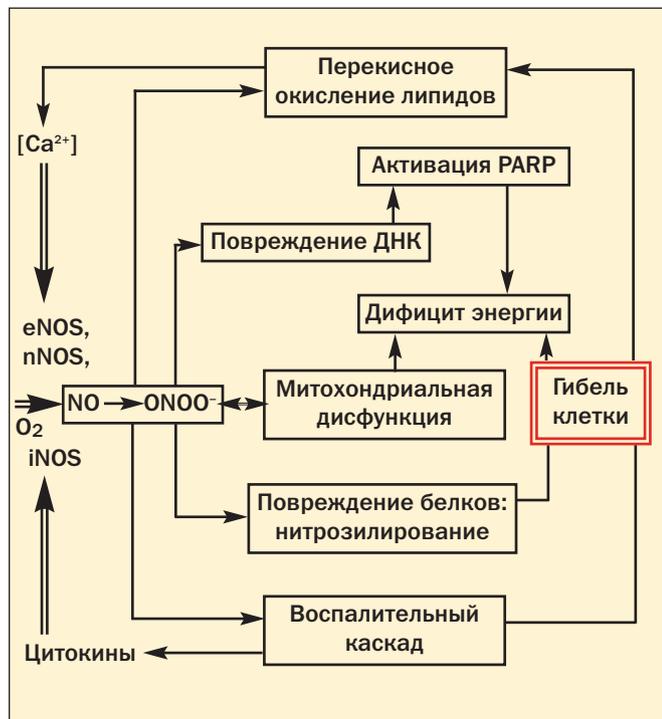


Рис. 6. Механизмы повреждения клеток при избыточной продукции NO

секреции ФНО- α чувствителен к изменению массы тела, и, вызывая потерю массы тела, Редуксин оказывает влияние на ФНО- α , снижая его концентрацию.

На фоне терапии Редуксином также отмечалось снижение уровня СРБ, медиана и интерквартильный размах до лечения – 1,11 мг/мл [0,6; 1,5], после лечения – 0,5 мг/мл [0,5; 1,2], однако наблюдаемые различия статистически не значимы, $p=0,1$. В содержании лептина в процессе наблюдения также произошли позитивные изменения, которые, однако, не достигли уровня достоверности. Медиана и интерквартильный размах лептина до лечения составили 39,2 [36,6; 73,4], после лечения – 21,8 [21,2; 22,5], различия статистически не значимы, $p=0,5$. Этот факт, по-видимому, связан с небольшой

продолжительностью нашего исследования. В целом максимальное уменьшение факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний было отмечено у пациентов с МС, которые снизили массу тела более чем на 10%.

Анализ данных индивидуального пищевого дневника и мнения пациентов свидетельствует, что регулярный прием Редуксина в дозе 15 мг/сут позволяет легко и эффективно соблюдать рекомендации врача по низкокалорийному питанию. В практическом плане важно подчеркнуть, что модификация пищевого поведения на фоне терапии сибутрамином привела к изменению мнения пациентов относительно количества потребляемой пищи. Так, до начала терапии большинство пациентов отмечали, что едят мало и аппетит у них не повышен. В процессе лечения на фоне снижения объема съеденной пищи большинство пациентов переоценили свои пищевые привычки и отметили, что все-таки до терапии, имея повышенный аппетит, они потребляли большое количество пищи. Переносимость препарата была хорошей, лишь у двух больных отмечалась сухость во рту, беспокоящая в течение первых 2–3 недель лечения.

Выводы

1. Регулярная терапия Редуксином в комбинации с немедикаментозными методами приводит к значительному снижению массы тела и висцеральной жировой ткани, не оказывая отрицательного влияния на артериальное давление у больных метаболическим синдромом с контролируемой артериальной гипертензией.

2. Лечение Редуксином сопровождается снижением базальной и стимулированной гиперинсулиемии, улучшением чувствительности тканей к инсулину и функции эндотелия.

3. При выборе препарата для фармакотерапии больных с метаболическим синдромом нужно помнить о преимуществах Редуксина, обладающего благоприятным воздействием на метаболические и сердечно-сосудистые факторы риска.

Литература

- Бутрова С.А. Метаболический синдром: патогенез, клиника, диагностика, подходы к лечению. // РМЖ 2001; 2 (9): 56-60.
- Карпов Р.С. Современные проблемы атеросклероза: взгляд клинициста. // Бюллетень сибирской медицины 2003; 3: 13-29.
- Манухина Е. Б., Дауни Х. Ф., Маллет Р. Т., Малышев И. Ю. Защитные и повреждающие эффекты периодической гипоксии: роль оксида азота. // Вестник Российской АМН 2007; 2: 25-33.
- Никитин Ю.П., Казека Г.Р., Симонова Г.И. Распространенность компонентов метаболического синдрома X в неорганизованной городской популяции (эпидемиологическое исследование). // Кардиология 2001; 19: 37-40.
- Чазова И.Е., Мычка В.Б. Метаболический синдром // Consilium medicum 2002; 4 (11): 587-92.
- Cersosimo E., DeFronzo R.A. Insulin resistance and endothelial dysfunction: the road map to cardiovascular diseases. // Diabetes Metab Res Rev 2006; 22 (6): 423-36.
- Chan J.C.N., Cheung J.C.K., Stehouwer C.D.A., et al. The central roles of obesity-associated dyslipidemia, endothelial activation and cytokines in the Metabolic Syndrome - an analysis by structural equation modeling. // Int J Obes Relat Metab Disord. 2002; 26: 994-1008.
- Dallaire P., Marette A. Obesity-linked insulin resistance: is nitric oxide the missing link? // Canadian J of diabetes 2004; 28(1):59-66.
- De Caterina R. Endothelial dysfunctions: common denominators in vascular disease. // Curr Opin Lipidol. 2000; 11:9-23.
- Engeli S., Janke J., Gorzelnik K. et al. et al. Regulation of the nitric oxide system in human adipose tissue. // J Lipid Research 2004; 45: 1640-8.
- Frustaci A., Kajstura J., Chimenti C. et al. Myocardial cell death in human diabetes // Circ Res 2000; 87: 1123 – 32.
- Gami A.S., Witt B.J., Howard D.E. et al. Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies // J Am Coll Cardiol. 2007; 49(4):403-14.
- Hackett D., Davies G., Maseri A. Pre-existing coronary stenosis in patients with first myocardial infarction are not necessary severe. // Europ. Heart J. 1988; 9: 1317-23.
- Hong Y., Jin X., Mo J. Metabolic syndrome, its preeminent clusters, incident coronary heart disease and all-cause mortality – results of prospective analysis for the Atherosclerosis Risk in Communities study. // J Intern Med 2007; 262 (1):113-23.
- Irving R. J., Noon J.P., Watt G.C.M et al. Activation of the endothelin system in insulin resistance. // Q J Med 2001; 94:312-26.
- Isomaa B., Almgren P., Tuomi T. et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. // Diabetes Care 2001; 24:683-9.
- Juan C.C., Chuang T.Y., Chang C.L., Endothelin -1 regulates adiponectin gene expression and secretion in 3T3-L1 adipocytes via endothelin signaling pathways. // Endocrinology 2007; 148(4): 1835 – 42.
- Noronha B.T., Li J.-M., Wheatcroft S. B. et al. Inducible Nitric Oxide Synthase Has Divergent Effects on Vascular and Metabolic Function in Obesity . // Diabetes 2005; 54 (4): 1082-9.
- Park J.H., Kwon H.M., Roh J.K. Metabolic syndrome is more associated with intracranial atherosclerosis than extracranial atherosclerosis // Eur J Neurol. 2007; 14 (4): 379-86.
- Piatti P.M., Monti L.D., Galli I. Et al. Relationship between endothelin-1 concentration and metabolic alteration typical of the insulin resistance syndrom. // Metabolism. 2000, 49: 748-52.
- Van der Vliet A., Smith D., O'Neill C.A. et al. Interactions of peroxynitrite with human plasma and its constituents: oxidative damage and antioxidant depletion. // Biochem J. 1994; 303: 295–301.
- Widlansky M.E., Gokce N., Keaney J.F. et al. The clinical implications of endothelial dysfunction. // J Am Coll Cardiol 2003; 42:1149–60.