

ОЦЕНКА ВАЗОМОТОРНОЙ ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ С ПЕРЕНЕСЕННЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА И РАЗЛИЧНЫМ ФОЛАТ-ГОМОЦИСТЕИНОВЫМ СТАТУСОМ

ЛИС М.А., ПЫРОЧКИН А.В.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Резюме. Проведена оценка функционального состояния эндотелия при помощи ультразвука высокого разрешения у больных с перенесенным инфарктом миокарда. Концентрация фолатов плазмы крови положительно, а гомоцистеина - отрицательно коррелирует со степенью эндотелий-зависимой вазодилатации плечевой артерии и показателем чувствительности эндотелия к напряжению сдвига. Необходимо проводить коррекцию фолат-гомоцистеинового обмена и дисфункции эндотелия у больных с перенесенным инфарктом миокарда.

Ключевые слова: фолат, гипергомоцистеинемия, дисфункция эндотелия, инфаркт миокарда.

Abstract. We have evaluated the functional condition of endothelium in patients who suffered myocardial infarction with the help of high resolution ultrasound. We found the positive correlation between plasma folate concentration and negative – between that of homocysteine and the degree of endothelium-dependent vasodilatation of brachial artery, index of endothelial sensitivity to pressure shift. It is important to perform the correction of folate-homocysteine metabolism and endothelial dysfunction in patients with suffered myocardial infarction.

Key words: folate, hyperhomocysteinemia, endothelial dysfunction, myocardial infarction

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 230025, г. Гродно, ул. Свердлова д.6, кв. 5, моб. тел. 7822095 (МТС) – Пырочкин А.В.

Введение. В настоящее время проведена серия когортных эпидемиологических исследований с целью выявления повышенного риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) при низком фолатном статусе, результаты которых неоднозначны. По данным одних исследовательских групп низкие концентрации фолатов (ФТ) плазмы были связаны с увеличенной за последние 15 лет смертностью от ИБС [4], 40% ростом риска развития ИМ [5].

Другие исследователи не выявили подобных закономерностей [6, 7] или фактором риска считали только наличие гипергомоцистеинемии (ГГЦ), которая чаще всего и развивается при дефиците ФТ [8]. Низкий уровень ФТ в пище и/или низкая концентрация ФТ в сыворотке крови ассоциировались с повышенным риском развития ИБС [1], а риск развития ИБС оказался значительно ниже у женщин с высоким потреблением ФТ с пищей [9].

По данным различных авторов минимальная концентрация ФТ плазмы в общей популяции, необходимая для достижения «нормального» для здоровых лиц уровня гомоцистеина (ГЦ) (<14 мкмоль/л) составляет от 8 до 10-15 нмоль/л [10]. В Беларуси и странах СНГ подобные исследования не проводились, и мы вынуждены руководствоваться имеющимися зарубежными данными. Поскольку фактическое потребление ФТ у большей части населения СНГ значительно ниже нормы (200 мг/сутки) [3], представляется необходимым провести исследование, включающее оценку фолатного статуса у больных ИБС и здоровых лиц, а также оценить функциональное состояние эндотелия в зависимости от показателей ФТ и гомоцистеина (ГЦ) плазмы крови.

Методы

Обследовано 116 больных ИБС, перенесших ИМ в возрасте от 40 до 60 лет. Средний возраст составил $50 \pm 6,84$ года. Среди них было 105 мужчин и 11 женщин. 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 месяц от начала ИМ, у 31 человека (27%) был постинфарктный кардиосклероз (ПИКЗ). У 84 пациентов (72%) сопутствовала артериальная гипертензия (АГ) I-II степени по классификации ВОЗ. Критериями исключения из исследования были: возраст старше 60 лет, АГ III ст., хроническая сердечная недостаточность выше ФК II по NYHA, наличие сахарного диабета, хронической обструктивной болезни легких, почечной недостаточности и анемического синдрома. В качестве контрольной группы обследовано 45 практически здоровых лиц. Клиническая характеристика больных ИМ и здоровых лиц представлена в таблице 1.

Таблица 1

Клиническая характеристика больных с перенесенным инфарктом миокарда и практически здоровых лиц

Показатели\Группы	Больные ИМ, n=116	Контроль, n=45	p
Возраст, годы	50±6,84	49±7,41	0,26
Пол (М/Ж)	105/11	37/9	0,08**
Курение в анамнезе, n	89 (77%)	24(52%)	0,02**
Индекс массы тела, кг/м ²	29±5,5	26±3,4	<0,001*
Вч СРБ, мг/л	3,89±4,32	1,44±1,64	<0,001*
Фибриноген	2,81±0,80	2,26±0,43	0,02*
Общий холестерин, ммоль/л	5,58±1,19	5,60±0,89	0,58
ХЛНП, ммоль/л	2,76±0,87	1,10±0,37	<0,001*
ХЛВП, ммоль/л	1,35±0,36	1,64±0,47	<0,001*
Гиперхолестеринемия, n	77(89%)	30(65%)	0,89**
ГЦ, мкмоль/л	12,23±3,25	9,32±2,41	<0,001*
ГГЦ, n (%)	84(73%)	15(33%)	<0,001**
ФТ, нмоль/л	10,79±5,78	17,91±12,72	<0,001*

Примечание: * – статистически значимо, $p < 0,05$; ** – статистическая значимость проверки гипотез по χ^2 Пирсона.

Пациенты были разделены на группы по тертили концентрации ФТ в плазме крови (таблицу 2).

Кроме того, больные были разделены на 4 подгруппы в соответствии с квантилями распределения концентрации ГЦ. При изучении функции эндотелия использовалась проба с реактивной гиперемией по методике, описанной D. Celermajer [11].

Таблица 2

Клиническая характеристика больных с перенесенным инфарктом миокарда в зависимости от тертили распределения концентрации фолатов плазмы крови

Показатели\Группы	1 тертиль ФТ, n=39	2 тертиль ФТ, n=40	3 тертиль ФТ, n=37	p
Возраст, годы	51±6,2	50±5,9	48±7,9	0,07
Пол (М/Ж)	35/3	37/3	33/5	0,62**
Инфаркт миокарда, n (%)	28 (32%)	28 (32%)	28 (32%)	0,85**
ПИКЗ, n (%)	10 (11%)	12 (14%)	9 (10%)	0,85**
АГ, n (%)	24(28%)	31(36%)	29(33%)	0,24**
Курение в анамнезе, n	28 (32%)	33(38%)	28(32%)	0,75**
Индекс массы тела, кг/м ²	29,52±7,85	28,0±3,83	29,1±3,88	0,5
Вч СРБ, мг/л	4,08±4,05	4,09±5,11	3,48±3,75	0,30
Фибриноген	2,86±0,87	2,90±0,74	2,52±0,75	0,32
Общий холестерин, ммоль/л	5,46±1,02	5,68±1,48	5,58±0,97	0,34
ХЛОНП, ммоль/л	1,29±0,51	1,38±1,0	1,05±0,60	0,07
ХЛНП, ммоль/л	2,67±0,73	2,76±0,89	2,85±0,96	0,42
ХЛВП, ммоль/л	1,36±0,30	1,39±0,43	1,29±0,35	0,12
ТГ, ммоль/л	2,26±1,27	1,96±0,97	2,33±1,12	0,73
КА	3,82±1,15	3,44±1,52	3,75±1,36	1,02
Гиперхолестеринемия, n	21(24%)	28 (32%)	27(31%)	0,16**
ГЦ, мкмоль/л	14,2±3,39	11,9±2,31	10,45±2,87	<0,001*
ГГЦ, n (%)	36(41%)	31(36%)	17(20%)	<0,001**
ФТ, нмоль/л	5,69±1,19	9,35±1,17	17,71±4,89	<0,001*

Примечание: * – статистически значимо при попарном сравнении 1 и 3 тертиль ФТ, p<0,05; ** – статистическая значимость проверки гипотез по χ^2 Пирсона.

Перед оценкой функционального состояния эндотелия пациентам отменялись вазоактивные препараты за 48 часов. Изменения диаметра плечевой артерии (ПА) измеряли с помощью линейного датчика 7,5 Мгц ультразвуковой системы Philips P700, устанавливая его на 2-5 см выше локтевого сгиба. В исходном положении измеряли диаметр и максимальную линейную скорость кровотока.

Манжетку накачивали на 5 минут до давления, превышающего систолическое на 50 мм рт. ст. 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.

Нормальной реакцией плечевой артерии (ПА) принято считать ее расширение на фоне реактивной гиперемии на 10% и более от исходного

диаметра. Меньшая степень вазодилатации или парадоксальная вазоконстрикция считается патологической и свидетельствует о наличии дисфункции эндотелия (ДЭ). Кроме того, были рассчитаны показатели напряжения сдвига на эндотелии по формуле 1) $\phi = 4 \cdot \eta \cdot V / D$, где η – вязкость крови (в среднем 0,05 Пз), V – максимальная линейная скорость кровотока, D – диаметр ПА, и чувствительность ПА к напряжению сдвига 2) $K = (DD/D0) / (\phi/\phi0)$. Чем выше показатель K , тем лучше чувствительность ПА к напряжению сдвига.

Образцы крови обследованных лиц были стабилизированы ЭДТА, полученная плазма замораживалась при -70°C . Уровень общего ГЦ плазмы определяли SBD-F-реагентом (ammonium-7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazole-4-sulfonate) и сепарацией на высокоэффективной жидкостной хроматографии с небольшими модификациями [12].

Для анализа количества ФТ плазмы использовали наборы радиоиммунного исследования SimulTRAC-SNB (MP Biomedicals, Orangeburg, США). Высокочувствительный С-реактивный белок (вч СРБ) определялся иммунотурбидиметрическим методом на анализаторе Architect CI-8200 (Abbott Laboratories, США). Исследование параметров липидного обмена проводилось в сыворотке, полученной сразу же после взятия крови из вены на автоматизированном фотометре РА 2660 ЗАО «СОЛАР».

Статистический анализ полученных данных проводился с помощью программного обеспечения STATISTICA 6.0, StatSoft Corp., США. Значения изучаемых показателей представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения. Непрерывные переменные были проверены на соответствие нормальному распределению при помощи критерия Шапиро-Уилка.

Поскольку биохимические и инструментальные показатели не удовлетворяли требованиям нормального распределения, то сравнение двух независимых групп проводилось путем проверки статистических гипотез с применением непараметрического критерия Манна-Уитни, а трех и более –

ANOVA по Краскелу-Уоллису с последующими попарным сравнением по Манну-Уитни. Для сравнения групп по качественному признаку использовался χ^2 Пирсона. Проводился непараметрический корреляционный анализ по Спирмену. Достоверность различий в группах была принята при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования

Обследованные контрольной группы не отличались от больных, перенесших ИМ по возрасту, половому составу и уровню общего холестерина (таблица 1). В группе больных ИБС было больше лиц, куривших в анамнезе, с избыточным весом, высоким уровнем вч СРБ, как маркера воспаления сосудистой стенки, фибриногена, как показателя повышенной склонности к тромбообразованию, и ГЦ плазмы крови.

Уровень ЛПВП был выше в группе здоровых лиц, уровень ФТ более чем в 1,6 раза превышал таковой у больных ИБС, а частота встречаемости ГГЦ была значительно меньше, 33% и 73% соответственно. Если за ГГЦ для здоровых лиц принять превышение уровня ГЦ плазмы в 14 мкмоль/л, то среди обследованных в группе контроля ГГЦ оказалось всего у 2 человек.

По клинической характеристике больных ИМ (таблица 2) все 3 группы пациентов были сопоставимы по всем изучаемым показателям и частоте курения, наличия гиперхолестеринемии и АГ.

Однако, выявлена тенденция к снижению уровней вч СРБ и фибриногена с ростом концентрации ФТ плазмы. Среди пациентов в 3 тертили ФТ статистически значимо реже встречались лица с ГГЦ, уровни ГЦ приближались к значениям группы контроля.

Показатели вазомоторной функции эндотелия плечевой артерии отражены в таблице 3. Все изучаемые показатели статистически значимо не отличались между собой при попарном сравнении 1 и 2, а также 2 и 3 групп. Среднее значение ЭЗВД в 3 группе пациентов в 1,53 раза превышало таковое в 1, а чувствительность ПА к напряжению сдвига в группе больных с низкими

ФТ плазмы оказалась в 2,52 раза ниже, чем с высокими. Наличие ДЭ часто выявлялось во всех трех группах пациентов, но реже у лиц с высоким фолатным статусом. Показатели вазомоторной функции эндотелия высокодостоверно отличались между группами больных ИБС и здоровых лиц.

Таблица 3

Функциональное состояние эндотелия у здоровых лиц и больных ИБС с различной концентрацией фолатов плазмы крови

Параметры /Группы	Здоровый контроль, n=45	1 тертиль ФТ, n=39	2 тертиль ФТ, n=40	3 тертиль ФТ, n=37	p
Диаметр ПА, см	0,378±0,067	0,40±0,041	0,38±0,053	0,39±0,062	0,43
ЭЗВД, %	13,81±6,50***	3,65±3,14	4,62±3,51	5,57±3,89	0,029*
Прирост скорости кровотока, %	45±32***	78±53	72±48	71±52	0,53
К, условные единицы	0,345±0,37***	0,087±0,141	0,102±0,105	0,222±0,486	0,044*
ДЭ, n (%)	7(15%)***	37 (43%)	37 (42%)	31 (36%)	0,22**

Примечание: * – статистически значимо при попарном сравнении 1 и 3 тертили ФТ, $p < 0,05$; ** – статистическая значимость проверки гипотез по χ^2 Пирсона; ***– $p < 0,001$ в сравнении группы ИБС и здоровых лиц.

В зависимости от уровня ГЦ плазмы крови (таблица 4), в 1-4 подгруппах пациентов статистически значимо отличались степень ЭЗВД.

Таблица 4

Функциональное состояние эндотелия в зависимости от квантиля содержания гомоцистеина в плазме крови

Показатели\ Номера подгрупп	Подгруппа 1, n=29	Подгруппа 2, n=29	Подгруппа 3, n=29	Подгруппа 4, n=29	Н по Краскеллу-Уоллису, p
Исходный диаметр ПА, см	0,38±0,06	0,39±0,05	0,39±0,05	0,40±0,03	1,43 $p = 0,27$
ЭЗВД, %	5,88±3,56	4,9±3,79	4,69±3,64	2,90±2,73	10,26 $p = 0,016^*$
Прирост скорости кровотока, %	74±53	74±43	72±62	73±45	0,69 $p = 0,87$
К, условные единицы	0,129±0,24	0,120±0,15	0,112±0,13	0,061±0,08	6,97 $p = 0,07$
ДЭ, n	24	26	26	29	

Примечание: * – статистически значимо, $p < 0,05$.

В последующем попарном сравнении 1 и 4 подгрупп по Манну-Уитни чувствительность плечевой артерии к напряжению сдвига К также достоверно различалась ($U=194$, $p=0,008$). ДЭ была выявлена у 24 человек (82%) первой подгруппы, у 26 (89%) второй и третьей, у 29 (100%) четвертой подгруппы.

Результаты корреляционного анализа представлены в таблице 5.

Таблица 5

Результаты корреляционного анализа изучаемых показателей

Показатели	Коэффициент ранговой корреляции Спирмена r	p
ФТ и ГЦ	-0,47	<0,001*
ФТ и ЭЗВД	0,25	0,007*
ФТ и К	0,13	0,16
ГЦ и ЭЗВД	-0,30	0,001*
ГЦ и К	-0,27	0,004*
ГЦ и САД	0,10	0,27
ГЦ и ДАД	0,19	0,042*
ГЦ и возраст	-0,05	0,57
ГЦ и фибриноген	0,25	0,07
ГЦ и ЛПОНП	0,27	0,014*
Вч СРБ и фибриноген	0,39	0,004*
Вч СРБ и холестерин	0,23	0,014*
Вч СРБ и ЭЗВД	-0,26	0,006*
ИМТ и ЛПВП	-0,21	0,023*
ИМТ и ТГ	0,20	0,033*

Примечание: * – статистически значимо, $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Доказано, что ДЭ вносит вклад в развитие ИБС, АГ, ХСН, СД, патологии периферических артерий, а также увеличивает риск осложнений при данных заболеваниях [13], что определяет отношение к ДЭ как к самостоятельному объекту терапевтического воздействия. Существует тесная взаимосвязь между наличием ряда факторов риска атеросклероза и повреждением эндотелия. К ним относятся: повышение АД, курение, нарушение углеводного обмена, возраст. Наиболее хорошо изучена роль дислипидемии.

Низкий фолатный статус способствует развитию ГГЦ. ГЦ является чрезвычайно активным веществом, способным вступать во взаимодействие напрямую с NO с образованием нитрозогомоцистеина и последующим запуском каскада свободнорадикальных процессов, результатом которых является развитие ДЭ, а в последствии - структурных изменений сосудистой стенки [14]. В нашем исследовании выявлена отрицательная корреляционная связь средней степени между уровнями ФТ и ГЦ плазмы крови, что согласуется

с данными других авторов [2], и объясняется участием ФТ в метаболизме ГЦ. Концентрация ФТ прямо пропорционально, а ГЦ – обратно пропорционально коррелируют со степенью ЭЗВД и чувствительностью эндотелия ПА к напряжению сдвига, что подтверждается процентильным анализом при разделении пациентов на подгруппы в соответствии с концентрациями ФТ и ГЦ плазмы крови (таблица 3). Эти данные согласуются с результатами других исследователей []. Между тем, ряд авторов не выявили зависимости ЭЗВД и концентрацией ГЦ в плазме крови [15].

Однако, показано, что ГЦ имеет более выраженную ассоциацию с функциональным состоянием эндотелия, чем ФТ. Это можно объяснить непосредственной активностью ГЦ в отношении эндотелия и тем фактом, что повышенный ГЦ, в отличие от ФТ плазмы, является более точным функциональным маркером дефицита ФТ на тканевом уровне и отражает либо низкое потребление ФТ с пищей, либо его функциональную недостаточность при полиморфизме ферментов метаболизма ФТ и ГЦ [10].

У обследованных больных уровень ФТ <8 нмоль/л оказался у 34%, а <15 нмоль/л – у 81%, ГГЦ была выявлена у 73% пациентов (n=84), ДЭ – у 90% (n=105) больных. В нашем исследовании не было обнаружено значимых корреляций между наличием ДЭ, содержанием ГЦ, ФТ плазмы и возрастом, что вероятно связано с узкими возрастными рамками, принятыми в протоколе исследования. Не были выявлены достоверные связи между наличием гиперхолестеринемии и ДЭ, содержанием ГЦ, хотя ГЦ прямо коррелировал с ЛПОНП.

Мы объясняем это достаточно невысокими цифрами холестерина у обследованных больных в сравнении с аналогичными исследованиями других авторов, а также тем, что большинство пациентов непродолжительно (от 2 до 4 недель) получали в стационаре липидоснижающую терапию в небольших дозировках. Больные с нормальным и повышенным уровнем ГЦ, а также с различным фолатным статусом, не различались по факту курения, индексу

массы тела, уровню систолического и диастолического АД, наличию АГ. Эти данные согласуются с результатами исследований, в которых установлено, что низкий уровень ФТ и/или ГГЦ являются факторами риска ССЗ, независимыми от возраста, массы тела, курения и уровня АД [16]. Из статистически значимых взаимосвязей следует обратить внимание на положительную ассоциацию концентраций вч СРБ и фибриногена, общего холестерина, и на отрицательную – со степенью ЭЗВД, что указывает на определенную роль процессов воспаления в патогенезе атеросклероза.

Уровень фибриногена у больных ИМ был достоверно выше, чем у здоровых лиц. Выявленная тенденция повышения уровня фибриногена при высоком ГЦ плазмы подтверждает, что ГГЦ способствует тромбообразованию. По результатам проведенной работы можно сделать следующие выводы:

У больных ИБС с перенесенным инфарктом миокарда дефицит фолата плазмы крови (<5 нмоль/л) выявлен у 6 % обследованных. Количество больных с субоптимальным фолатным статусом варьирует от 34% при уровне ФТ свыше 8 нмоль/л до 81% при уровне больше 15 нмоль/л.

Концентрация гомоцистеина плазмы крови выше 10 мкмоль/л определена у 73% больных ИБС с перенесенным ИМ и у 33% здоровых лиц.

Наличие дисфункции эндотелия выявлено у 90% больных с перенесенным инфарктом миокарда и у 15% практически здоровых лиц.

Концентрация фолатов плазмы крови положительно, а гомоцистеина – отрицательно коррелирует со степенью эндотелий-зависимой вазодилатации и показателем чувствительности эндотелия плечевой артерии к напряжению сдвига.

Литература

1. Низкое потребление фолатов с пищей ассоциируется с повышенной частотой острых коронарных событий: КИНТ исследование / Войтилайнен С. [и др.] // Питание и обмен веществ: сб. научных статей / Ин-т биохимии НАН Беларуси; под науч. ред. А. Г. Мойсеенка. – Гродно, 2002. – С. 13 – 28.

2. Сосудодвигательная функция эндотелия у больных ишемической болезнью сердца с различной концентрацией гомоцистеина в крови / И. В. Черникова [и др.] // Ультразвуковая и функциональная диагностика. – 2006. – № 3. – С. 52 – 57.

3. Спиричев, В. Б. Биологически активные добавки как дополнительный источник витаминов в питании здорового и больного человека / Здоровоохранение. – 2006. – № 10. – С. 46-52.

4. Serum folate and risk of fatal coronary heart disease / Morrison H. I. [et al.] // JAMA. – 1996. – Vol. 275. – P. 1893 – 1896.

5. A prospective study of folate and vitamin B6 and risk of infarction in US physicians / L. Chasan-Taber [et al.] // J. Am. Coll. Nutr. – 1996. – № 15. – P. 136 – 142.

6. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study / A. R. Folsom [et al.] // Circulation. – 1998. – Vol. 98. – P. 204 – 210.

7. Folate and vitamin B-12 and risk of fatal cardiovascular disease: cohort study from Busselton, Western Australia / J. Hung [et al.] // BMJ. – 2003. – Vol. 326. – P. 131 – 137.

8. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease / C. Boushey [et al.] // JAMA. – 1995. – Vol. 274. – P. 1049 – 1057.

9. Folate acid, vitamin B6 from diet and supplements in relation to risk of coronary heart disease among women / E. Rimm [et al.] // JAMA. – 1998. – Vol. 279. – P. 359 – 364.

10. Folate intake, plasma folate and homocysteine status in random Finnish population / G. Alfthan [et al.] // Eur.J.Clin.Nutrition. – 2003. – Vol. 57. – P. 81 – 88.

11. Celermajer, D. S. Tensing endothelial function using ultrasound / D. S. Celermajer // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1998. – Vol. 32 (suppl. 3). – P. 29 - 32.

12. 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. 441-446.

13. The clinical implications of endothelial dysfunction / M. E. Widlansky [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2003. – Vol. 42. – P. 1149-1160.

14. Effects of homocysteine on smooth muscle cell proliferation in both cell culture and artery perfusion culture models / C. Chen [et al.] // J. Surg. Res. – 2000. – Vol. 881. – P. 26-33.

15. Folic acid improves endothelial function in coronary artery disease via mechanisms largely independent of homocysteine lowering / Doshi S. N. [et al.] // Circulation. – 2002. – Vol. 105, № 1. – P. 22-26.

16. 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.