

С.В. Шевчук
І.П. Кувікова

НДІ реабілітації інвалідів
Вінницького національного
медичного університету
ім. М.І. Пирогова

Ключові слова:

антифосфоліпідний синдром,
гіпергомоцистеїнемія,
генетичний поліморфізм
С677Т, ураження судин.

ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЯ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ АНТИ- ФОСФОЛІПІДНИМ СИНДРОМОМ. ЗВ'ЯЗОК ІЗ ПЕРЕБІГОМ ЗАХВОРЮВАННЯ ТА СТАНОМ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМИ

У статті проаналізовано частоту гіпергомоцистеїнемії у пацієнтів із різними варіантами антифосфоліпідного синдрому (АФС). Виявлена значна поширеність гіпергомоцистеїнемії серед осіб з АФС та її тісний зв'язок із маркерами дисфункції ендотелію (ендотелін-1, тромбомодулін) і структурно-функціональним станом серця та судин. Встановлено, що рівень гомоцистеїну в сироватці крові пацієнтів із АФС асоціюється з генетичним дефектом, що пов'язаний із заміною цитозину на тимін у нуклеотиді 677 (677С→Т), дефіцитом вітамінів В₉ та В₁₂, маркерами активності запального процесу (С-реактивний протеїн, інтерлейкін-6); меншою мірою — з високими титрами антитіл до кардіоліпіну та β₂-глікопротеїну-1, наявністю артеріальної гіпертензії, тютюнопалінням та чоловічою статтю — і практично не залежить від порушень ліпідного обміну, ожиріння, віку і тривалості захворювання.

Виникнення, становлення та прогресування кардіоваскулярної патології не завжди пов'язано з наявністю добре відомих традиційних факторів ризику (Towfighi A. et al., 2010). У частини пацієнтів такі захворювання, як інфаркт міокарда, інсульт, ураження периферичних судин, можуть виникати і за відсутності генетичних та відомих середовищних факторів ризику, що свідчить про необхідність пошуку інших чинників, спроможних викликати ураження серця та судин (Pearson T.A., 2002). Одним із таких чинників є гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ), яка визнана незалежним фактором ризику серцево-судинних захворювань та причетна до патологічного ремоделювання серця і судин, активації системного запалення і тромбоутворення (Шевчук С.В., Пентюк О.О., 2008; Towfighi A. et al., 2010; Vyssoulis G. et al., 2010). В Україні ГГЦ виявляють у 10% здорових дорослих осіб, 2% юнаків та підлітків та 43% пацієнтів із серцево-судинною патологією (Пентюк О.О., 2007; Андрушко І.І., 2008). У більшості випадків підвищення вмісту гомоцистеїну (ГЦ) у плазмі крові викликають хронічна ниркова недостатність, нутрієнтний дефіцит вітамінів В₆, В₉ та В₁₂, генетичні дефекти щодо метіонінсинтетази, метилентетрагідрофолатредуктази (МТГФР), цистатіонін-бета-синтетази та інших ферментів обміну ГЦ. Зокрема, хронічна ниркова недостатність пов'язана з 20-разовим зростанням ризику серцево-судинної смерті, зокрема і внаслідок прискорення атерогенезу, зумовленого ГГЦ (Li H., Goligorsky M.S., 2002). Причинами помірної ГГЦ можуть бути похилий вік, чоловіча стать, постменопаузальний період, тютюнопаління, вживання алкоголю

та кави (Refsum H., Ueland M.D., 1998; Cattaneo M., 1999), малорухомих спосіб життя, дієтичні фактори (вживання тваринного білка, який містить багато метіоніну), застосування кортикостероїдів та циклоспорину (Fijnheer R. et al., 1998; Langman L.J., Cole D.E., 1999). Природа підвищення цієї сірковмісної сполуки в сироватці крові у пацієнтів із антифосфоліпідним синдромом (АФС) не з'ясована. Досі відсутні дані щодо поширеності ГГЦ в українській популяції хворих із АФС. Не досліджено роль ГГЦ у формуванні кола несприятливих патогенетичних чинників ураження ендотелію та, власне, серцево-судинних уражень у хворих із АФС.

Мета дослідження — вивчити частоту ГГЦ у хворих із різними варіантами АФС, оцінити її зв'язок з генетичним поліморфізмом С677Т у гені 5,10-МТГФР, забезпеченістю вітамінами В₉ та В₁₂ та перебігом захворювання і визначити її місце у формуванні атеросклеротичного ураження судин.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Під нашим спостереженням перебували 82 хворих, серед яких 34 (41,6%) пацієнти із первинним АФС (ПАФС) та 48 (58,4%) — із вторинним АФС (ВАФС). Групи хворих були зіставні за віком і тривалістю захворювання. Контрольну групу становили 37 практично здорових осіб.

Діагноз АФС встановлювали на основі Міжнародних класифікаційних критеріїв 2006 р. (Myakis S. et al., 2006). Системний червоний вовчак (СЧВ) верифікували на основі критеріїв Американського коледжу ревматологів (ACR, 1997) і формулювали згідно

з класифікацією, рекомендованою Асоціацією ревматологів України (2002). Лабораторна оцінка антифосфоліпідних антитіл (АФЛ-АТ) включала визначення антитіл до кардіоліпіну ізо типу IgG та сумарних антитіл до β_2 -глікопротеїну-1. Вміст антикардіоліпінних антитіл ізо типу IgG визначали імуноферментним методом з використанням комерційного набору фірми «Trinity Biotech Cartia», США — Ірландія. Вміст антитіл до β_2 -глікопротеїну-1 класів IgG, IgA, IgM визначали імуноферментним методом з використанням комерційного набору фірми «ORGenTec GmbH», Німеччина.

Вміст загального ГЦ, розчинного тромбомодуліну (sCD141), С-реактивного протеїну (СРП), інтерлейкіну (ІЛ)-6 та ендотеліну-1 визначали імуноферментними методами за наборами «Homocysteine EIA» (Axis-Shield, Англія), «Human CD141 ELISA» (Diaclone, France), «hsCRP ELISA» (DRG, США), «ІЛ-6 ELISA» (Diaclone, Франція), «Endothelin-1» («Cormay», Англія) відповідно до інструкцій фірм-виробників на аналізаторі «Stat Fax 303 Plus».

Вміст фолієвої кислоти в сироватці крові визначали мікробіологічним методом за набором «Folic Acid Vitamin B₉ Microbiological Test Kit» («Alpco Diagnostics»). Рівень фолієвої кислоти >6 мкг/л вважали нормальним, у межах 3–6 мкг/л — гранично зниженим, <3 мкг/л — дефіцитним (Спиричев В.Б., 1984; Carmel R. et al., 2003).

Вміст кобаламіну (вітаміну В₁₂) в сироватці крові визначали імунохімічним методом з електрохемілюмінісцентною детекцією (ECLIA) (референтний інтервал — 191–663 пг/мл). Рівень кобаламіну >200 пг/мл вважали нормальним, у межах 200–300 пг/мл — гранично зниженим, <200 пг/мл — дефіцитним (Спиричев В.Б., 1984; Penninger L.C. et al., 1992; Carmel R. et al., 2003).

Генотипування МТГФР проводили за допомогою ампліфікації фрагмента гена МТГФР, який містить поліморфний нуклеотид, із подальшим рестрикційним аналізом продукту ампліфікації. Для контролю проходження реакції рестрикції разом із фрагментом МТГФР ампліфікували фрагмент гена фібриногену А α , який містить сайт рестрикції для рестриктази, яка використовується в рестрикційному аналізі гена МТГФР. Ампліфікацію за допомогою полімеразної ланцюгової реакції та рестрикцію проводили за модифікованим методом P. Frosst та співавторів (1995).

Для ампліфікації обох фрагментів використано дві пари праймерів:

МТГФР	A: 5'-TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA-3'
	B: 5'-AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG-3'
Фібриноген А α	C: 5'-CTC CCT TCA CTT TCA GAA CTA CA-3'
	D: 5'-GAC CTC TCA GTT TTC ACC TTT A-3'

Показники загального холестерину (ЗХС), холестерину (ХС) ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) та тригліцеридів (ТГ) у сироватці крові досліджувалися за стандартно прийнятою методикою. Значення ХС ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ) розраховували за формулою Friedwald:

$$ХС\ ЛПНЩ = ЗХС - ХС\ ЛПВЩ - (0,45 \cdot ТГ).$$

Для вивчення функції ендотелію використовували ехолокацію високого розрізнення та доплерографію плечової артерії (ПА), яку виконували як

описано D. Celermajer та співавторами (1992). Товщину комплексу інтими-медіа загальної сонної артерії (КІМ ЗСА) визначали під час сканування ЗСА у В-режимі ехолакації на відстані 2 см від біфуркації в діастолу при максимальному збільшенні. Ступінь атеросклеротичного ураження судин та наявність атеросклеротичної бляшки (АБ) оцінювали за I. Wendelhag та співавторами (1993). Статистичну обробку отриманих результатів проводили на персональному комп'ютері за допомогою стандартних статистичних програм «Microsoft Excel» для Windows-2000. Оцінювали середнє значення, стандартні помилки, достовірність відмінностей за критерієм Стьюдента, проводили парний кореляційний аналіз. Результати представлено як $M \pm m$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведених нами досліджень свідчать, що у практично здорових осіб рівень ГЦ у сироватці крові в середньому становив $10,1 \pm 0,46$ мкмоль/л (95% довірчий інтервал (СІ) 7,36–15,9 мкмоль/л) (табл. 1). У групі контролю виявлено 24,3% осіб з аберантними рівнями ГЦ, у тому числі у 10,8% осіб реестрували легку ГЦ (рівень ГЦ — 15–25 мкмоль/л). Отримані результати в цілому узгоджуються з даними літератури щодо поширеності ГЦ серед здорових дорослих осіб в Україні (Андрушко І.І., 2008).

Таблиця 1

Вміст ГЦ у сироватці крові та його ранжирування у практично здорових осіб та пацієнтів із ПАФС та ВАФС

Характеристика групи	ГЦ, мкмоль/л M ± m	Частота виявлення рівня ГЦ, n (%)		
		оптимальний <10 мкмоль/л	гранично високий 10–15 мкмоль/л	високий >15 мкмоль/л
1 Контроль (n=37)	10,1±0,46	28 (75,7)	5 (13,5)	4 (10,8)
2 Хворі з АФС (n=82)	15,4±0,54	12 (14,6)	34 (41,5)	36 (43,9)
	$P_{1,2} < 0,001$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,01$
У тому числі				
3 Хворі з ВАФС (n=48)	15,7±0,85	5 (10,4)	18 (37,5)	25 (52,1)
4 Хворі з ПАФС (n=34)	13,8±0,61	7 (20,6)	16 (47,1)	11 (32,4)
	$P_{3,1} < 0,001$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$
	$P_{4,1} < 0,001$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,01$
	$P_{3,4} < 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$< 0,05$

У хворих із АФС вміст ГЦ за середніми величинами був достовірно вищим на 52,5% (95% СІ 8,61–25,0 мкмоль/л), ніж у групі контролю. При цьому частка осіб з оптимальним рівнем ГЦ (<10 мкмоль/л) була значно меншою (в 5,2 раза), а частки осіб із гранично високим (10–15 мкмоль/л) та високим рівнем ГЦ (>15 мкмоль/л) — в 3,0 та 4,1 раза вищими, ніж

серед осіб контрольної групи. На відміну від групи контролю, серед пацієнтів з АФС виявлялись особи не лише з легкою ГГЦ (до 25 мкмоль/л), а й середньою ГГЦ (25–50 мкмоль/л) — 6,1% (5 хворих). У проведеному дослідженні хворих із тяжкою ГГЦ (>50 мкмоль/л) не було.

Аналіз рівня ГЦ залежно від типу АФС виявив достовірні відмінності між пацієнтами з ПАФС та ВАФС. У хворих із ВАФС за середніми величинами рівень ГЦ перевищував на 13,7% такий у хворих із ПАФС. При ВАФС інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ становив 13,6–19,2 мкмоль/л, в той час як при ПАФС — 11,7–15,3 мкмоль/л. Серед хворих з ВАФС частка осіб з оптимальним рівнем ГЦ виявилася вдвічі меншою, а частка з ГГЦ, навпаки, в 1,6 раза вищою, ніж серед хворих із ПАФС. Слід відзначити, що всі особи з ГГЦ середньої тяжкості (25–50 мкмоль/л) відносилися до групи з ВАФС.

Аналіз вмісту ГЦ у сироватці крові у хворих із АФС залежно від генотипу MTHFR C677T засвідчив, що наявність мінорного Т-алелю є вагомим детермінантою розвитку ГГЦ у цього контингенту осіб (табл. 2). За середніми величинами вміст ГЦ у хворих із АФС — гомозигот 677-ТТ був достовірно вищим на 36,7 та 21,0%, ніж у гомозигот 677-СС та гетерозигот 677-СТ відповідно.

(<10 мкмоль/л) вміст СРП був меншим на 35,2%, ніж у хворих із рівнем ГЦ 10–15 мкмоль/л. При ГГЦ вміст СРП та ІЛ-6 достовірно на 54,0 та 50,9% перевищував такий у хворих з оптимальним рівнем ГЦ і був на 13,9 та 39,3% вищим, ніж у хворих із гранично підвищеним рівнем ГЦ.

Таблиця 2
Рівень та частота ГГЦ у хворих із АФС (n=82) залежно від генотипу MTHFR C677T

Генотип MTHFR C677T	ГЦ, мкмоль/л	
	М±m	ГЦ >15 мкмоль/л n (%)
1 Гомозиготи 677-СС (n=37)	13,9±0,70	12 (32,4)
2 Гетерозиготи 677-СТ (n=32)	15,7±0,87	14 (43,8)
$P_{1,2}$	>0,05	>0,05
3 Гомозиготи 677-ТТ (n=13)	19,0±1,24	10 (76,9)
$P_{3,1}$	<0,01	<0,01
$P_{3,2}$	<0,05	<0,05

Частка осіб з ГГЦ серед гомозигот 677-ТТ достовірно перевищувала в 2,4 та 1,8 раза частки осіб із ГГЦ серед нормальних гомозигот 677-СС та гетерозигот 677-СТ. Слід відзначити, що у гетерозигот 677-СТ вміст ГЦ в середньому був вищим (на 12,9%), ніж у нормальних гомозигот, і, відповідно, частіше реєструвалася ГГЦ, однак виявлені відмінності не сягали межі вірогідності.

Порушення статусу вітамінів B_9 та B_{12} асоціювалось із формуванням ГГЦ у >60% випадків (табл. 3). За середніми величинами вміст ГЦ у хворих на АФС з недостатністю фолієвої кислоти та кобаламіну виявився достовірно вищим на 27,5 та 35,0%, ніж у хворих із оптимальною забезпеченістю цими вітамінами. Кореляційний аналіз засвідчив наявність достовірних обернених зв'язків середньої сили між рівнем ГЦ та вмістом вітамінів B_9 та B_{12} в сироватці крові ($r=-0,40$ та $-0,35$ відповідно). Слід відзначити, що у хворих із ПАФС між рівнем ГЦ та вмістом фолату виявлявся більш тісний зв'язок, ніж у хворих із ВАФС — коефіцієнти кореляції $r_{ПАФС}=-0,49$ та $r_{ВАФС}=-0,34$ відповідно.

Розвиток ГГЦ у хворих із АФС асоціювався із посиленням ознак запального процесу (табл. 4). Зокрема, в осіб з оптимальним рівнем ГЦ

Таблиця 3
Рівень та частота ГГЦ у хворих із АФС (n=82) залежно від забезпеченості фолатом та кобаламіном

Характеристика групи	ГЦ, мкмоль/л		Коефіцієнт кореляції
	М±m	ГЦ >15 мкмоль/л n (%)	
Рівень фолієвої кислоти (нг/мл)			
1 Оптимальний (>6 нг/мл), n=49	13,8±0,61	15 (30,6)	$r=-0,40$; $p<0,01$ $r_{ВАФС}=-0,34$; $p<0,05$
2 Недостатність (≤6 нг/мл), n=33	17,6±0,85	21 (63,6)	$r_{ПАФС}=-0,49$; $p<0,01$
$P_{1,2}$	<0,01	<0,01	
Рівень кобаламіну (нг/мл)			
3 Оптимальний (>300 нг/мл), n=53	13,7±0,61	14 (26,4)	$r=-0,35$; $p<0,01$ $r_{ВАФС}=-0,33$; $p<0,05$
4 Недостатність (≤300 нг/мл), n=29	18,5±0,75	22 (75,8)	$r_{ПАФС}=-0,27$; $p<0,05$
$P_{4,3}$	<0,01	<0,01	

Таблиця 4
Вміст маркерів запалення в сироватці крові у хворих із АФС (n=82) залежно від рівня ГЦ

Характеристика групи за рівнем ГЦ	СРП, мг/л		ІЛ-6, пг/мл	
	М±m	>5,0 мг/л, n (%)	М±m	>9 пг/мл, n (%)
1 Оптимальний (ГЦ <10 мкмоль/л), n=12	4,72±0,50	3 (25,0)	10,8±1,97	5 (41,7)
2 Гранично високий (ГЦ 10–15 мкмоль/л), n=34	6,38±0,43	22 (64,7)	11,7±0,98	21 (61,8)
$P_{1,2}$	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
3 ГГЦ (>15 мкмоль/л), n=36	7,27±0,40	29 (80,6)	16,3±1,29	29 (80,6)
$P_{3,1}$	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05
$P_{3,2}$	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
Коефіцієнт кореляції	$r=0,24$; $p<0,05$ $r_{ВАФС}=-0,34$; $p<0,05$ $r_{ПАФС}=-0,27$; $p<0,05$		$r=0,45$; $p<0,01$ $r_{ВАФС}=-0,40$; $p<0,01$ $r_{ПАФС}=-0,27$; $p<0,05$	

Кореляційний аналіз засвідчив наявність достовірних прямих зв'язків між рівнем ГЦ та вмістом маркерів запалення (більш тісний зв'язок реєструвався з рівнем ІЛ-6) у хворих із АФС. У пацієнтів із ВАФС зростання вмісту ГЦ більш тісно асоціювалося з підвищенням вмісту СРП та ІЛ-6 ($r_{ВАФС}=0,34-0,40$), ніж у хворих із ПАФС ($r_{ПАФС}=0,27$).

ГГЦ у хворих із АФС не асоціювалася з ліпідним спектром крові (табл. 5). Зокрема середні рівні ЗХС, ХС ЛПВЩ та ХС ЛПНЩ, ТГ у хворих із ГГЦ, суттєво не відрізнялися від хворих з оптимальним рівнем ГЦ.

Натомість у хворих із АФС з ГГЦ порівняно з пацієнтами з нормальним рівнем ГЦ виявляли вірогідно вищі рівні різного класу АФЛ-АТ. Зокрема, у групі з ВАФС з рівнем ГЦ >15 мкмоль/л показники антикардіоліпінових антитіл класу IgG та антитіл до β_2 -глікопротеїну-1 були вищими на 13,8 та 46,9% відповідно, ніж у групі з рівнем ГЦ <15 мкмоль/л.

Таблиця 5

Взаємозв'язок рівнів ГЦ із ліпідним спектром сироватки крові та концентрацією АФЛ-АТ у хворих із різними варіантами АФС (M±m)

Показник	ГЦ, мкмоль/л			
	Хворі з ВАФС		Хворі з ПАФС	
	<15 мкмоль/л	>15 мкмоль/л	<15 мкмоль/л	>15 мкмоль/л
Число спостережень	n=20	n=24	n=21	n=11
ХС, ммоль/л	6,03±0,20	6,34±0,23	5,56±0,20	5,87±0,26
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	1,06±1,08	1,06±0,06	1,10±0,06	0,91±0,08
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	3,91±0,19	4,20±0,20	3,67±0,17	4,07±0,27
ТГ, ммоль/л	2,37±0,16	2,41±0,16	1,77±0,23	2,0±0,21
Взаємозв'язок із рівнями антитіл до кардіоліпіну класу IgG та антитіл до β ₂ -глікопротеїну-1 класів IgG, IgA, IgM				
Антикардіоліпінові антитіла класу IgG	11,58±0,80	13,23±1,30	12,64±0,90	17,08±1,93*
Антитіла до β ₂ -глікопротеїну-1	55,03 ±8,97	80,84±9,07*	63,68±9,11	90,92±12,2

*Вірогідні відмінності стосовно осіб з нормальним рівнем ГЦ.

Порівняльний аналіз рівнів ГЦ у хворих із АФС залежно від статі, віку, тривалості захворювання та інших (артеріальна гіпертензія (АГ), тютюнопаління, ожиріння) традиційних факторів ризику наведено в табл. 6. Значимих вікових відмінностей у рівнях ГЦ досліджуваних груп не виявлено. Визначалася чітка тенденція до підвищення рівнів ГЦ серед осіб чоловічої статі. Не виявлено чітких асоціативних залежностей рівнів досліджуваної сірковмісної амінокислоти із тривалістю захворювання та надмірною масою тіла.

Таблиця 6

Взаємозв'язок концентрації ГЦ із традиційними факторами ризику у хворих із АФС (M±m)

Показник	ГЦ, мкмоль/л	
	ПАФС	ВАФС
Жінки	12,9±0,68	15,9±0,78
Чоловіки	15,6±1,15*	21,1±2,29*
Вік	<30 років	13,5±3,13
	30–45 років	13,6±0,66
	>45 років	14,9±1,86
Тривалість захворювання	<5 років	12,7±3,53
	5–10 років	13,1±1,03
	>10 років	14,9±1,45
Без АГ	13,5±0,85	14,5±0,91
З АГ	14,0±0,88	17,8±1,07*
Не палять	13,1±0,61	16,5±0,79
Палять	16,4±1,52*	16,8±2,79
Індекс маси тіла (ІМТ) >30 кг/м ²	13,8±0,68	15,8±0,90
ІМТ <30 кг/м ²	13,4±1,50	18,3±1,58

*Достовірні відмінності між групами.

Концентрація ГЦ у сироватці крові у хворих з АФС асоціювалася з АГ. Так, в осіб з АГ рівень ГЦ був на 22,7% вищим за такий без АГ. Також виявилось, що тютюнопаління в осіб із ПАФС має помірної сили вплив на рівень ГЦ в сироватці крові. Зокрема, середні рівні ГЦ курців виявилися на 25,2% вищими, ніж в осіб, які не палять.

Розвиток ГЦ у хворих із АФС асоціювався із достовірним посиленням ознак ендотеліальної дис-

функції (табл. 7). У пацієнтів з оптимальним рівнем ГЦ (<10 мкмоль/л) вміст тромбомодуліну та ендотеліну-1 був нижчим у 1,5 та 1,7 раза, ніж у осіб із рівнем ГЦ 10–15 мкмоль/л.

Таблиця 7

Вміст маркерів ендотеліальної дисфункції в сироватці крові у хворих з АФС (n=82) залежно від рівня ГЦ

Характеристика групи за рівнем ГЦ	sCD141, нг/мл		Ендотелін-1, пг/мл	
	M±m	>5,0 нг/мл, n (%)	M±m	>10 пг/мл, n (%)
Оптимальний (<10 мкмоль/л), n=12	3,27±0,32	1 (8,3)	4,96±0,45	0 (0,0)
Гранично високий (10–15 мкмоль/л), n=34	4,88±0,31	18 (52,8)	8,55±0,71	14 (41,2)
p _{1,2} ГЦ (>15 мкмоль/л), n=36	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
p _{3,1}	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
p _{3,2}	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
Коефіцієнт кореляції	r=0,44; p<0,01	r _{ВАФС} =0,45; p<0,01	r=0,45; p<0,01	r _{ПАФС} =0,33; p<0,05

У хворих із ГЦ вміст тромбомодуліну та ендотеліну-1 достовірно перевищував у 1,6 та 2,2 раза такий у хворих із оптимальним рівнем ГЦ та в 1,2–1,3 раза у осіб із гранично підвищеним рівнем ГЦ. Кореляційний аналіз засвідчив наявність достовірного зв'язку між рівнем маркерів ендотеліального пошкодження та вмістом ГЦ у сироватці крові у хворих з АФС. Слід відзначити, що при ВАФС зростання вмісту ГЦ більш тісно асоціювалося з підвищенням вмісту тромбомодуліну та ендотеліну-1 (r_{ВАФС}=0,45; 0,44), ніж при ПАФС (r_{ПАФС}=0,38; 0,33).

Формування ГЦ асоціювалося також із суттєвим потовщенням інтими-медіа ЗСА та погіршенням ендотеліальної функції. Так, товщина КІМ ЗСА у групах хворих із ВАФС та ПАФС із ГЦ була на 12,6 та 7,7% відповідно більшою, а ендотеліозалежна вазодилатація (ЕЗВД) ПА — на 46 та 32% відповідно меншою, ніж у хворих із нормальним рівнем ГЦ у сироватці крові. Число осіб з наявністю АБ, перенесеними транзитною ішемічною атакою (ТІА), інсультом, інфарктом міокарда (ІМ) та стенокардією у групі з ГЦ було вищим від таких осіб з оптимальним рівнем ГЦ (табл. 8).

Таким чином, проведене вперше в українській популяції пацієнтів із АФС дослідження концентрації ГЦ у сироватці крові показало, що оптимальні рівні ГЦ реєструвались у 20,6% хворих із ПАФС і у 10,4% на ВАФС, а гранично високі рівні — у 47,1 та 37,5% відповідно. ГЦ була виявлена у 32,4% пацієнтів із ПАФС та у 52,1% — із ВАФС. За даними літератури, ГЦ виявляли у 25,0–76% (Avivi I. et al., 2002; Reshetniak T.M. et al., 2006; de Carvalho J.F. et al., 2009) хворих із ПАФС та 67–70,5% — із ВАФС (Onetti L. et al., 2005; Reshetniak T.M. et al., 2006).

Встановлено, що ГЦ у пацієнтів із АФС тісно асоціюється з генетичним дефектом, що пов'язаний із заміною цитозину на тимін у нуклеотиді 677 (677C→T) у відкритій рамці зчитування гена МТГФР. Зокрема, середній вміст ГЦ у хворих із АФС — гомозигот 677-

ТТ був достовірно вищим на 36,7 та 21,0%, ніж у гомозигот 677-СС і гетерозигот 677-СТ відповідно, а частка осіб із ГГЦ серед гомозигот 677-ТТ достовірно перевищувала в 2,4 та 1,8 раза частки осіб із ГГЦ серед нормальних гомозигот 677-СС і гетерозигот 677-СТ. Дані літератури також свідчать про те, що мутація МТГФР має патогенетичне значення у формуванні ГГЦ, особливо за умов вітамінного дефіциту і, можливо, синергічної дії інших чинників (Ueland P.M. et al., 2001). В іншому дослідженні тісний зв'язок ГГЦ із генотипом Т677Т за МТГФР у пацієнтів із АФС заперечується (Lee Richard M. et al., 2004). МТГФР забезпечує численні перетворення в організмі, тому знижена активність цього ферменту супроводжується накопиченням ГЦ, порушеннями синтезу нуклеїнових кислот та їх метилювання. Отже, цілком очевидно, що розвиток ГГЦ при АФС хоча б частково може бути пов'язаним із поліморфізмом за геном МТГФР.

Таблиця 8

Взаємозв'язок рівнів ГЦ з ЕЗВД ПА, товщиною КІМ ЗСА, наявністю АБ і тромботичними ускладненнями у пацієнтів із АФС (М±m)

Показник	ГЦ, мкмоль/л			
	Хворі з ВАФС		Хворі з ПАФС	
	<15 мкмоль/л	>15 мкмоль/л	<15 мкмоль/л	>15 мкмоль/л
Число спостережень	n=20	n=24	n=21	n=11
КІМ ЗСА, мм	0,87±0,04	0,98±0,03*	0,78±0,03	0,84±0,05
Число осіб з КІМ ЗСА >0,90 мм, n (%)	7 (35,0)	16 (66,6)*	3 (14,3)	6 (54,5)*
ЕЗВД ПА, %	7,10±0,61	5,01±0,63*	8,91±0,54	6,77±0,69*
Число осіб з ЕЗВД ПА <8,0%, n (%)	7 (35,0)	16 (66,6)*	6 (28,6)	6 (54,5)
Наявність АБ	7 (35,0)	12 (50,0)	4 (19,0)	3 (27,3)
ТІА + ішемічний інсульт	5 (25,0)	13 (54,2)*	9 (42,8)	8 (72,7)*
ІМ + стенокардія	5 (25,0)	10 (41,7)	5 (23,8)	4 (36,4)
Зв'язок із тромботичними ускладненнями				
Частка осіб з артеріальним тромбозом	6 (30,0)	9 (37,5)	5 (23,8)	5 (23,8)
Частка осіб з венозним тромбозом	7 (35,0)	13 (54,2)	9 (42,8)	7 (63,6)

*Вірогідні відмінності стосовно осіб з нормальним рівнем ГЦ.

Іншою причиною ГГЦ у пацієнтів із АФС, на нашу думку, може стати виявлене накопичення у групі пацієнтів із ГГЦ осіб із дефіцитом вітамінів В₉ та В₁₂. Зокрема, концентрація ГЦ у пацієнтів із АФС із недостатністю фолієвої кислоти та кобаламіну виявилася достовірно вищою на 27,5 та 35,0%, ніж у таких з оптимальною їх забезпеченістю. Кореляційний аналіз засвідчив наявність достовірних обернених зв'язків середньої сили між рівнем ГЦ та вмістом вітамінів В₉ та В₁₂ у сироватці крові у пацієнтів з АФС (r=-0,40 та -0,35 відповідно). У хворих із ПАФС між рівнем ГЦ та вмістом фолату виявлено більш тісний зв'язок, ніж у хворих із ВАФС — коефіцієнти кореляції r_{ПАФС}=-0,49 та r_{ВАФС}=-0,34 відповідно. Дані літератури також чітко підтверджують отримані результати. Так, статус вітамінів В₁₂ та фолату потенційно впливає на метаболізм ГЦ, оскільки синтез деново-

метильних груп метіоніну потребує метилкобаламіну і метилфолату, а утилізація ГЦ через синтез цистатіоніну потребує піридоксаль-5-фосфату (Medina M. et al., 2001; Selhub J., 2002). Цікавими виявилися дані (Selhub J., 1999), які свідчать, що у Фремінгемській популяції 67% випадків ГГЦ пов'язано з неадекватним забезпеченням вітамінами В₉ та В₁₂.

Проведені дослідження дають підставу стверджувати, що ГГЦ у пацієнтів із АФС (більше при ВАФС) асоціюється з активністю запального процесу. Так, в осіб із ГГЦ вміст СРП та ІЛ-6 достовірно на 54,0 та 50,9% перевищував такий у хворих з оптимальним рівнем ГЦ і був вищим на 13,9 та 39,3%, ніж у хворих із гранично підвищеним рівнем ГЦ. Кореляційний аналіз засвідчив наявність достовірних прямих зв'язків між рівнем ГЦ та вмістом маркерів запалення (більш тісний зв'язок реєстрували з рівнем ІЛ-6) у хворих із АФС. Здатність ГЦ індукувати розвиток системного запалення продемонстрована і раніше (Jakubowski H., 2007).

Отримані результати свідчать, що формування ГГЦ, можливо, має і генетичну природу, підтвердженням чого було підвищення рівнів антикардіоліпінових антитіл класу IgG та антитіл до β₂-глікопротеїну-1 у групах осіб із ГГЦ порівняно з пацієнтами, в яких виявлявся оптимальний рівень ГЦ. Отримані нами дані щодо превалювання більш високих рівнів антикардіоліпінових антитіл класу IgG та антитіл до β₂-глікопротеїну-1 в осіб із ГГЦ знаходять підтвердження і в інших дослідженнях (Martínez-Berriotoxa A. et al., 2004; Ruffatti Amelia et al., 2006).

Нами отримані чіткі докази того, що у хворих із АФС ГГЦ суттєво не асоціюється з ліпідними факторами ризику. Зокрема середні рівні ЗХС, ХС ЛПВЩ, ХС ЛПНЩ і ТГ у хворих із ГГЦ суттєво не відрізняються від таких у пацієнтів з оптимальним вмістом ГЦ. Рівень останнього виявляв слабку залежність від віку хворих. Ожиріння і тривалість захворювання також відносно мало впливають на рівень ГЦ.

Встановлено, що рівень ГЦ у сироватці крові хворих із АФС виявляє певну залежність від величини артеріального тиску. Так, в осіб з АГ реєстрували вірогідно вищі рівні ГЦ, ніж у хворих без АГ. Отримані нами дані узгоджуються з результатами інших досліджень, які засвідчили тісний зв'язок ГГЦ з АГ. Так, за даними R.A. Karatela (2009) рівень ГЦ у сироватці крові тісно асоціювався з величиною систолічного і діастолічного тиску у дорослих пацієнтів з есенціальною АГ з нормальною чи надмірною масою тіла. В іншому дослідженні (Vyssoulis G. et al., 2010) показано, що ГГЦ є незалежним чинником зростання пульсового тиску. Про наявність тісних асоціативних залежностей між рівнями систолічного і діастолічного артеріального тиску з рівнем ГЦ повідомляється і в дослідженнях, проведених у хворих з АФС (Ruffatti Amelia et al., 2006).

З'ясовано, що зростання ГЦ у крові хворих із АФС асоціюється з тютюнопалінням. Зокрема, рівень ГЦ у курців практично на чверть виявився вищим порівняно з тими, які не палять. Залежність обміну ГЦ від тютюнопаління не викликає здивування, адже відомо, що нікотин сприяє зниженню концентрації фолата-

ту в сироватці крові, що призводить до порушень процесів транссульфування ГЦ та власне ГЦ (Vermaak W. et al., 1990). Доведена роль тютюнопаління в розвитку дефіциту фолевої кислоти, яка також викликає ГЦ (Lewis D.R. et al., 1998). Проведений аналіз, що включав 18 043 пацієнти, показав, що концентрація ГЦ у сироватці крові підвищується пропорційно кількості випалених за добу цигарок (Nygard O. et al., 1995).

Наведені дані дозволяють вважати, що ГЦ у хворих із АФС є несприятливим метаболічним чинником впливу на стан судин. У дослідженні встановлено, що навіть при гранично високих рівнях ГЦ вміст тромбомодуліну та ендотеліну-1 був вірогідно вищим від такого у хворих з оптимальними рівнями ГЦ. Найбільші рівні маркерів дисфункції ендотелію реєстрували в осіб з ГЦ. Наведені нами дані дозволяють вважати, що ГЦ є несприятливим чинником прогресування структурно-функціональних змін серця і судин у хворих із АФС. Зокрема, в осіб із ГЦ реєструвалося вірогідне зростання КІМ ЗСА, а також зниження ЕЗВД ПА порівняно з таким в осіб з оптимальним рівнем. Дані інших авторів також свідчать про зв'язок ГЦ зі структурними змінами в судинах, зокрема, ГЦ є фактором ризику гіпертрофії міокарда лівого шлуночка (Pieretti J. et al., 2007), жорсткості аорти (Vyssoulis G. et al., 2010) та дисфункції ендотелію (Endemann D.H., Schiffrin E.L., 2004; Hassan A. et al., 2004).

Точні молекулярні механізми несприятливої дії ГЦ на серцево-судинну систему до кінця не з'ясовані, однак найчастіше обговорюється зниження інтенсивності процесів метилювання (гіпометилювання), модифікація (гомоцистеїнування) білків, які забезпечують епігенетичну регуляцію функції білків та експресії генів, наслідками яких є розвиток ендотеліальної дисфункції, зниження чутливості судин до дії вазорелаксантів, патологічного ремоделювання серця і судин тощо (Selhub J., 1999; Hultberg B. et al., 2000; Brustolin S. et al., 2010). Токсична дія надлишку ГЦ також може реалізовуватись і через ініціювання оксидативного стресу та розвиток системного запалення (Brustolin S. et al., 2010).

Таким чином, рівень ГЦ у сироватці крові пацієнтів із АФС асоціюється з генетичним дефектом, що пов'язаний із заміною цитозину на тимін у нуклеотиді 677 (677C→T), дефіцитом вітамінів B₉ та B₁₂, маркерами активності запального процесу СРП, ІЛ-6, високими титрами антитіл до кардіоліпіну та β₂-глікопротеїну-1, наявністю АГ, тютюнопалінням та чоловічою статтю і практично не залежить від порушень ліпідного обміну, ожиріння, віку і тривалості захворювання. Значна поширеність ГЦ серед пацієнтів із АФС і тісний зв'язок її з маркерами дисфункції ендотелію (ендотелін-1, тромбомодулін) та структурно-функціональним станом серця і судин (ЕЗВД ПА, КІМ ЗСА, наявність АБ), на нашу думку, диктує необхідність постійного контролю концентрації ГЦ у сироватці крові та застосування у пацієнтів із ГЦ вітамінних препаратів.

ВИСНОВКИ

1. ГЦ виявляють у 32,4% пацієнтів із ПАФС та у 52,1% — із ВАФС. Концентрація ГЦ у сироватці

кріві у пацієнтів із АФС асоціюється з наявністю АГ, тютюнопалінням, високими рівнями СРП та ІЛ-6, антитіл до кардіоліпіну та β₂-глікопротеїну-1, чоловічою статтю і не має тісного зв'язку з ліпідними факторами ризику, віком і тривалістю захворювання.

2. Серед причин високої частоти ГЦ у пацієнтів із АФС слід відзначити генетичний поліморфізм С677Т у гені 5, 10-МТГФР та дефіцит вітамінів B₉ та B₁₂.

3. ГЦ асоціюється з розвитком дисфункції ендотелію (ендотелін-1, тромбомодулін, ЕЗВД ПА) і структурно-функціональним станом судин (КІМ ЗСА).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Андрушко І.І.** (2008) Рівні гомоцистеїну, цистеїну та аргініну у практично здорових осіб: вікові та статеві особливості. Укр. кардіол. журн., 5: 89–95.
- Пентюк О.О.** (2007) Вітаміни B₉, B₁₂ та B₆, поліморфізм ферментів їх обміну, зв'язок з метаболізмом гомоцистеїну, роль в патології. Рене-санс клінічної вітамінології. Мед. хімія, 9(1): 122–127.
- Спиричев В.Б.** (1984) Методы оценки и контроля витаминной обеспеченности населения. Наука, Москва, 170 с.
- Шевчук С.В., Пентюк О.О.** (2008) Гіпергомоцистеїнемія у хворих на системний червоний вовчак як фактор ризику розвитку дисфункції ендотелію, атеросклеротичного ураження судин та порушень функціональної здатності міокарда. Укр. кардіол. журн., 1: 97–103.
- Avivi I., Lanir N., Hoffman R. et al.** (2002) Hyperhomocysteinemia is common in patients with antiphospholipid syndrome and may contribute to expression of major thrombotic events. Blood Coagul. Fibrinolysis, 13(2): 169–172.
- Brustolin S., Giugliani R., Félix T.M.** (2010) Genetics of homocysteine metabolism and associated disorders. Braz. J. Med. Biol. Res., 43: 1–7.
- Carmel R., Green R., Rosenblatt D.S. et al.** (2003) Update on cobalamin, folate, and homocysteine. Hematology (Am. Soc. Hematol. Educ. Program), 1: 62–81.
- Cattaneo M.** (1999) Hyperhomocysteinemia, atherosclerosis and thrombosis. Thromb. Haemost., 81: 165–176.
- Celermajer D., Sorensen K., Gooch V. et al.** (1992) Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet, 340: 1111–1115.
- de Carvalho J.F., Correia Caleiro M.T., Bonfá E.** (2009) Hyperhomocysteinemia and primary antiphospholipid syndrome Rev. Bras. Reumatol., 49(4): 4042.
- Endemann D.H., Schiffrin E.L.** (2004) Endothelial dysfunction. J. Am. Soc. Nephrol., 15(8): 1983–1992.
- Fijnheer R., Roest M., Haas F.J. et al.** (1998) Homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, antiphospholipid antibodies, and thromboembolic events in systemic lupus erythematosus: a retrospective cohort study. J. Rheumatol., 25: 1737–1742.
- Frosst P., Blom H.J., Milos R. et al.** (1995) A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat. Genet., 10: 111–113.
- Hassan A., Hunt B.J., O'Sullivan M. et al.** (2004) Homocysteine is a risk factor for cerebral small vessel disease, acting via endothelial dysfunction. Brain, 127(1): 212–219.
- Hultberg B., Andersson A., Isaksson A.** (2000) Hypomethylation as a cause of homocysteine-induced cell damage in human cell lines. Toxicology, 147(2): 69–75.
- Jakubowski H.** (2007) The molecular basis of homocysteine thiolactone-mediated vascular disease. Clin. Chem. Lab. Med., 45(12): 1704–1716.
- Karatela R.A.** (2009) Plasma homocysteine in obese, overweight and normal weight hypertensives and normotensives. Indian Heart J., 61(2): 156–159.
- Langman L.J., Cole D.E.** (1999) Homocysteine: cholesterol of the 90s. Clin. Chim. Acta., 286(1–2): 63–80.
- Lee Richard M. et al.** (2004) Homocysteine levels in women with antiphospholipid syndrome and normal fertile controls. J. Reproduc. Immunology, 63(1): 23–30.

Lewis D. R., van Dyke D. C., Stumbo P. G. et al. (1998) Drug and environmental factors associates with adverse pregnancy outcomes. Part 1 :antiepileptic drugs, contraceptives, smoking and folate. *Ann. Pharmacother.*, 32: 802–817.

Li H., Goligorsky M. S. (2002) Endothelial gene responses to homocysteine: relation to atherosclerosis. *Exp. Nephrol.*, 10(2): 164–169.

Martínez-Berriotxo A., Ruiz-Irastorza G., Egurbide M. V. et al. (2004) Homocysteine, antiphospholipid antibodies and risk of thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 13(12): 927–933.

Medina M., Urdiales J. L., Amores-Sanchez M. I. (2001) Roles of homocysteine in cell metabolism: old and new functions. *Eur. J. Biochem.*, 268(14): 3871–3882.

Myakis S., Lockshin M. D., Atsumi A. et al. (2006) International consensus statement on an updated of the classification criteria for the definite antiphospholipid syndrome. *J. Thromb. Haemost.*, 4: 295–306.

Nygaard O., Vollset S. E., Refsum H. et al. (1995) Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study. *JAMA*, 274: 1526–1533.

Onetti L., Villafane S., Menso E. et al. (2005) Hyperhomocysteinemia like thrombotic risk factor in patient with systemic lupus erythematosus with antiphospholipid syndrome. *Rev. Fac. Cien. Med. Univ. Nac. Cordoba. Spanish*, 62(1): 21–25.

Pearson T. A. (2002) New tools for coronary risk assessment: what are their advantages and limitations? *Circulation*, 105(7): 886–892.

Pennypacker L. C., Allen R. H., Kelly J. P. et al. (1992) High prevalence of cobalamin deficiency in elderly outpatients. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 40(12): 1197–1204.

Pieretti J., Roman M. J., Devereux R. B. et al. (2007) Systemic lupus erythematosus predicts increased left ventricular mass. *Circulation*, 116(4): 419–426.

Refsum H., Ueland M. D. (1998) Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu. Rev. Medicine*, 49: 31–62.

Reshetniak T. M., Shirokova I. E., Lisitskaia T. L. (2006) The role of hyperhomocysteinemia in systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Ter. Arkh.*, 78(6): 24–30.

Ruffatti Amelia et al. (2006) Antibody profile and clinical course in primary antiphospholipid syndrome with pregnancy morbidity. *Trombosis and haemostasis. Stuttgart*, 96(3): 337.

Selhub J. (1999) Homocysteine metabolism. *Annu. Rev. Nutr.*, 19: 217–246.

Selhub J. (2002) Folate, vitamin B₁₂ and vitamin B₉ and one carbon metabolism. *J. Nutr. Health Aging*, 6(1): 39–42.

Towfighi A., Markovic D., Ovbiagele B. (2010) Pronounced association of elevated serum homocysteine with stroke in subgroups of individuals: a nationwide study. *J. Neurol. Sci.*, 298(1–2): 153–157.

Ueland P. M., Hustad S., Schneede J. et al. (2001) Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *Trends Pharmacol. Sci.*, 22(4): 195–201.

Vermaak W. G., Ubbink J. B., Barnard H. C. et al. (1990) Vitamin B6 nutrition status and cigarette smoking. *Am. J. Clin. Nutr.*, 51: 1058–1061.

Vyssoulis G., Karpanou E., Kyvelou S. M. et al. (2010) Associations between plasma homocysteine levels, aortic stiffness and wave reflection in patients with arterial hypertension, isolated office hypertension and normotensive controls, *J. Hum. Hypertens.*, 24(3): 183–189.

Wendelhag I., Wiklund O., Wikstrand J. (1993) Atherosclerotic changes in the femoral and carotid arteries in familial hypercholesterolemia. Ultrasonographic assessment of intima-media thickness and plaque occurrence. *Arterioscler. Thromb.*, 13: 1404–1411.

**ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЯ
У ПАЦИЕНТОВ
С АНТИФОСФОЛИПИДНЫМ
СИНДРОМОМ. СВЯЗЬ С ТЕЧЕНИЕМ
ЗАБОЛЕВАНИЯ И СОСТОЯНИЕМ
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ**

С. В. Шевчук, И. П. Кувикова

Резюме. В статье проанализирована частота гипергомоцистеинемии у пациентов с различ-

ными вариантами антифосфолипидного синдрома (АФС). Выявлена значительная распространенность гипергомоцистеинемии среди пациентов с АФС и ее тесная связь с маркерами дисфункции эндотелия (эндотелин-1, тромбомодулин) и структурно-функциональным состоянием сердца и сосудов. Установлено, что уровень гомоцистеина в сыворотке крови пациентов с АФС ассоциируется с генетическим дефектом, связанным с заменой цитозина на тимин в нуклеотиде 677 (677C→T), дефицитом витаминов B₉ и B₁₂, маркерами активности воспалительного процесса (С-реактивный протеин, интерлейкин-6), в меньшей степени — с высокими титрами антител к кардиолипину и β₂-гликопротеину-1, наличием артериальной гипертензии, курением и мужским полом — практически не зависит от нарушений липидного обмена, ожирения, возраста и длительности заболевания.

Ключевые слова: антифосфолипидный синдром, гипергомоцистеинемия, генетический полиморфизм С677Т, поражение сосудов.

**HYPERHOMOCYSTEINEMIA IN PATIENTS
WITH ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME,
ITS ASSOCIATIONS WITH DISEASE
COURSE AND CARDIOVASCULAR SYSTEM
CONDITION**

S. V. Shevchuk, I. P. Kuvikiva

Summary. In the article we analyzed the frequency hyperhomocysteinemia in patients with different types of APS. It was revealed the significant homocystein prevalence among patients with antiphospholipid syndrome and its close relationship with markers of endothelial dysfunction (endothelin-1, thrombomodulin) and structural and functional state of the heart and vessels. We explored that the level of homocystein in the serum of patients with antiphospholipid syndrome was associated with a genetic defect such as the replacement of cytosine to thymine at nucleotide 677 (677C → T), deficiency of vitamins B₉ and B₁₂, markers of inflammatory activity (CRP, IL-6). Also the level of homocystein was associated with high titers of anticardiolipin antibodies and antibeta-2 glycoprotein-1 antibodies, arterial hypertension, smoking, male gender and did not depend on the lipid metabolism, obesity, age and disease duration.

Key words: antiphospholipid syndrome, hyperhomocysteinemia, genetic polymorphism S677T, vascular lesions.

Адреса для листування:

Шевчук Сергій Вікторович
21100, Вінниця, Хмельницьке шосе, 104
НДІ реабілітації інвалідів ВНМУ
ім. М.І. Пирогова,
відділ клінічної ревматології
E-mail: shev_sv2@mail.ru