

# Влияние гомоцистеина на показатели конечных метаболитов оксида азота у больных на гемодиализе

У.В. Харламова, О.Е. Ильичева, Н.Н. Нездоймина, А.В. Щербаков  
ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Городская клиническая больница № 8, г. Челябинск

## Influence of homocysteine on final metabolites of oxide nitrogen in hemodialysis patients

U.V. Kharlamova, O.E. Ilyicheva, N.N. Nezdojmina, A.V. Scherbakov

Ключевые слова: программный гемодиализ, гомоцистеин, эндотелиальная дисфункция.

Целью исследования явилось определение взаимосвязи между уровнем гомоцистеина и показателями эндотелиальной дисфункции у пациентов, находящихся на лечении программным гемодиализом. В ходе обследования у 89 пациентов, находящихся на лечении программным гемодиализом, определяли концентрации гомоцистеина, стабильных метаболитов оксида азота, показателей липидограммы. В результате исследования выявлено, что средние концентрации гомоцистеина у гемодиализных больных были выше, чем в группе сравнения ( $p < 0,001$ ). Концентрация стабильных метаболитов оксида азота в обследуемых группах была достоверно ниже, чем у практически здоровых лиц; выявлено достоверное повышение атерогенных липопротеинов у пациентов, находящихся на программном гемодиализе. При проведении корреляционного анализа выявлены отрицательные взаимосвязи между концентрацией гомоцистеина и стабильных метаболитов оксида азота сыворотки крови: нитратов ( $r = -0,21, p < 0,05$ ), нитритов ( $r = -0,3, p < 0,01$ ), суммарных метаболитов оксида азота ( $r = -0,34, p < 0,05$ ). Вместе с тем отмечена положительная взаимосвязь между концентрацией гомоцистеина и ОХС ( $r = 0,28, p < 0,04$ ), концентрацией ХС ЛПНП ( $r = 0,26, p < 0,04$ ), триглицеридов ( $r = 0,22, p = 0,05$ ). Выявлена положительная взаимосвязь между концентрацией нитритов сыворотки крови и суммарной концентрацией стабильных метаболитов оксида азота ( $r = 0,8, p < 0,0001$ ), нитратов ( $r = 0,4, p < 0,0001$ ). По данным множественного пошагового регрессионного анализа, концентрация нитритов имеет обратную связь с концентрацией гомоцистеина ( $\beta = -0,198, p = 0,008$ ) и прямую связь с суммарной концентрацией стабильных метаболитов оксида азота сыворотки крови ( $\beta = 1,05, p < 0,00001$ ).

Выводы: 1. У пациентов, находящихся на гемодиализе, выявлено достоверное повышение уровней гомоцистеина, атерогенных показателей липидного спектра по сравнению с практически здоровыми лицами. 2. Концентрация конечных метаболитов оксида азота сыворотки крови у диализных пациентов достоверно ниже, чем в группе сравнения. 3. Выявлена статистически достоверная обратная связь между концентрацией метаболитов оксида азота и уровнем гомоцистеина. 4. Гипергомоцистеинемия может расцениваться как дополнительный маркер эндотелиальной дисфункции у больных на гемодиализе.

The aim of the study was to determine relations between homocysteine level and indicators of endothelial dysfunctions in patients treated with program hemodialysis. During inspection of 89 program hemodialysis patients concentrations of homocysteine, stable metabolites of oxide nitrogen and lipidogram indicators were determined. It was found that average homocysteine concentration in hemodialysis patients was higher than in control group ( $p < 0,001$ ). Concentration of stable metabolites of oxide nitrogen in surveyed groups was also lower than in practically healthy people; increase in atherogenic lipoproteins in program hemodialysis patients was also revealed. Correlation analysis revealed negative relations between homocysteine concentration and stable metabolites of oxide nitrogen: nitrates ( $r = -0,21, p < 0,05$ ), nitrites ( $r = -0,3, p < 0,01$ ), total metabolites of oxide nitrogen ( $r = -0,34, p < 0,05$ ). A positive correlation between homocysteine concentration and the total cholesterol ( $r = 0,28, p < 0,04$ ), low density cholesterol ( $r = 0,26, p < 0,04$ ), triglycerides ( $r = 0,22, p = 0,05$ ) were found. Also positive correlation between serum nitrites and the total concentration of stable metabolites of oxide nitrogen ( $r = 0,8, p < 0,0001$ ), nitrates ( $r = 0,4, p < 0,0001$ ) was revealed. Multiple regression analysis revealed a negative relation of concentration of nitrites and homocysteine concentration ( $\beta = -0,198, p = 0,008$ ) and its direct relation with the total concentration stable metabolites of oxide nitrogen in blood serum ( $\beta = 1,05, p < 0,00001$ ).

Conclusions: 1. In hemodialysis patients the levels of homocysteine, atherogenic indicators lipid's spectrum are higher than in practically healthy people. 2. Concentration of final metabolites of oxide nitrogen in blood serum is in hemodialysis patients authentically lower than in the control group. 3. Statistically significant correlation between concentration of metabolites of oxide nitrogen and homocysteine level is revealed. 4. Hyperhomocysteinemia can be regarded as an additional marker of endothelial dysfunction in hemodialysis patients.

Key words: program hemodialysis, homocysteine, endothelial dysfunction.

Адрес для переписки: 454007, г. Челябинск, просп. Ленина, д. 19, кв. 4. Харламова Ульяна Владимировна  
Телефон: 8 (912) 472-38-20  
E-mail: top120@yandex.ru

## Введение

В настоящее время имеются многочисленные литературные данные, свидетельствующие о том, что основные факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний тесно связаны с нарушением функции почек. Даже небольшое повышение уровня креатинина крови влечет за собой существенное увеличение 5-летней смертности по сравнению с таковой у больных с низкой креатининемией [2]. В исследовании HOT (Hypertension Optimal Treatment study) показано, что уровень креатинина сыворотки  $>1,5$  мг/дл сам по себе является значимым фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний [26]. Ухудшение прогноза при снижении функции почек связывают с развитием эндотелиальной дисфункции. Наряду с традиционными факторами риска развития эндотелиальной дисфункции в настоящее время рассматривают гипергомоцистеинемию [3, 22]. Гипергомоцистеинемия оказывает неблагоприятное влияние на механизмы, участвующие в регуляции сосудистого тонуса, обмена липидов и коагуляционного каскада. Последствием стойкой гипергомоцистеинемии является генерализованная дисфункция эндотелия, предрасполагающая к атерогенезу и тромбозу [4, 10].

Указанные патогенетические изменения, по-видимому, обуславливают большую частоту сердечно-сосудистых заболеваний на фоне высокого уровня гомоцистеина в плазме крови, в связи с чем гипергомоцистеинемия рассматривается в качестве фактора риска кардиальной патологии [9]. Однако большинство исследований, посвященных изучению взаимосвязи гипергомоцистеинемии и эндотелиальной дисфункции, касается лиц с ишемической болезнью сердца [5, 6, 18], цереброваскулярными заболеваниями [8, 11], артериальной гипертензией [19]. Работ, посвященных изучению взаимосвязи показателей эндотелиальной дисфункции и гомоцистеина у лиц, получающих терапию программным гемодиализом, практически нет.

**Цель исследования:** определить взаимосвязь между уровнем гомоцистеина и показателями эндотелиальной дисфункции у пациентов, находящихся на лечении программным гемодиализом.

## Материалы и методы

Обследовано 89 больных с терминальной хронической почечной недостаточностью, получающих лечение программным гемодиализом в отделении гемодиализа на базе МУЗ ГКБ № 8 г. Челябинска. Гемодиализ проводили на аппарате Fresenius с использованием бикарбонатного диализирующего раствора и полисульфоновых диализаторов F 8 и F 10 HPS. Продолжительность сеанса гемодиализа была 4–5 часов 3 раза в неделю. Обеспеченная доза диализа (индекс  $spKT/V$ ) составляла не менее 1,3 по логарифмической формуле Даугирдаса:

$$Kt / V = 2,2 - 3,3 \times (R - 0,03 - UF / W),$$

где R – отношение азота мочевины плазмы после и перед диализом; UF – объем ультрафильтрации в литрах; W – вес больного после диализа (кг).

Биохимические и иммуноферментные методы исследования проведены в лабораториях ЦНИЛ ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава (зав. – д. м. н., профессор Л.Ф. Телешева).

Пациентам, находящимся на лечении программным

**Показатели концентрации гомоцистеина, липидограммы, нитроксидагической системы в обследуемых группах**

Показатель	Пациенты, получающие лечение программным гемодиализом (n = 89)	Группа сравнения (n = 20)	p
Гомоцистеин, мкмоль/л	22,07 ± 7,56	7,12 ± 2,56	<0,001
Нитраты, ммоль/л	10,5 ± 3,2	18,6 ± 1,0	<0,01
Нитриты, ммоль/л	3,6 ± 3,0	4,8 ± 2,3	<0,001
Суммарная концентрация стабильных метаболитов оксида азота, ммоль/л	13,8 ± 3,0	23,4 ± 2,2	<0,001
ХС, ммоль/л	5,3 ± 0,6	5,0 ± 0,1	<0,01
Триглицериды, ммоль/л	2,1 ± 0,8	1,3 ± 0,2	<0,01
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,5 ± 0,4	3,1 ± 0,1	<0,05
ХС ЛПВП, ммоль/л	0,9 ± 0,1	1,3 ± 0,3	<0,001

**Таблица 2**

## Влияние независимых факторов на уровень нитритов по данным пошагового регрессионного анализа

Зависимая переменная	Статистически значимые независимые переменные	$\beta$	B	p
Нитриты, ммоль/л	Гомоцистеин, мкмоль/л	-0,198	-0,05	0,008
	Суммарная концентрация стабильных метаболитов оксида азота сыворотки крови	1,05	0,62	0,000001

Примечание.  $R^2$  для модели = 0,65,  $F = 28,08$ ,  $p < 0,0001$ . Итоговое уравнение регрессии имеет вид: концентрация нитритов =  $4,77 - 0,05$  (гомоцистеин) +  $0,62$  (NO сум.).

гемодиализом, проводили определение концентрации нитритов, нитратов, суммарных метаболитов оксида азота, показателей липидограммы: холестерина (ОХС), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), триглицеридов. Уровень гомоцистеина исследовали методом иммуноферментного анализа на анализаторе AXIS-SHEILD (Diagnostics Limited UK).

В качестве контрольной группы были обследованы 20 здоровых добровольцев (10 женщин и 10 мужчин, средний возраст –  $43,9 \pm 15,5$  г.).

Статистическая обработка выполнена с использованием пакета статистических прикладных программ SPSS for Windows. Данные представлены как «среднее  $\pm$  стандартное отклонение». Значимость различий для количественных данных между группами оценивалась с помощью U-критерия Манна–Уитни. Статистическая связь между количественными показателями выявлялась с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Методом множественного пошагового регрессионного анализа изучалась степень влияния различных факторов на исследуемый. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

## Результаты

По результатам проведенного исследования (табл. 1) выявлено, что средние концентрации гомоцистеина у гемодиализных больных были выше, чем в группе сравнения ( $p < 0,001$ ). Концентрация стабильных метаболитов оксида азота в обследуемых группах была достоверно ниже, чем у практически здоровых лиц. При исследовании показателей липидограммы выявлено достоверное повышение атерогенных липопротеинов у пациентов, находящихся на программном гемодиализе, при этом концентрация ХС ЛПВП была достоверно ниже, чем в группе сравнения.

По данным корреляционного анализа выявлены отрицательные взаимосвязи между концентрацией гомоцистеина и стабильных метаболитов оксида азота сыворотки крови: нитратов ( $r = -0,21$ ,  $p < 0,05$ ), нитритов ( $r = -0,3$ ,  $p < 0,01$ ), суммарных метаболитов оксида азота ( $r = -0,34$ ,  $p < 0,05$ ). Вместе с тем отмечена положительная взаимосвязь между концентрацией гомоцистеина и ОХС ( $r = 0,28$ ,  $p < 0,04$ ), концентрацией ХС ЛПНП ( $r = 0,26$ ,  $p < 0,04$ ), триглицеридов ( $r = 0,22$ ,  $p = 0,05$ ). Выявлена положительная взаимосвязь между концентрацией нитритов сыворотки крови и суммарной концентрацией стабильных метаболитов оксида азота ( $r = 0,8$ ,  $p < 0,0001$ ), нитратов ( $r = 0,4$ ,  $p < 0,0001$ ).

Многофакторный регрессионный анализ был использован для определения влияния изучаемых факторов на уровень нитритов (табл. 2).

Таким образом, концентрация нитритов имеет обратную связь с концентрацией гомоцистеина и прямую связь с суммарной концентрацией стабильных метаболитов оксида азота сыворотки крови.

## Обсуждение

По данным нашего исследования уровень гомоцистеина у пациентов с хронической почечной недостаточностью (ХПН), получающих лечение программным гемодиализом, был достоверно выше, чем у практически здоровых доноров. Повышение уровня гомоцистеина плазмы при дисфункции почек отражает нарушение метаболизма, вероятно, в большей степени, чем нарушения почечной экскреции этой молекулы. По-видимому, могут иметь место как нарушения почечного обмена гомоцистеина [7], так и системные нарушения его метаболизма [20]. При анализе состояния липидного спектра у больных с ХПН, получающих лечение программным гемодиализом, выявлено достоверное увеличение ОХС, ТГ, ХС ЛПНП и снижение ХС ЛПВП. Известно, что дисбаланс в обмене жиров прогрессирует по мере ухудшения функции почек, кроме того, снижение функции почек усугубляет уже имеющиеся нарушения метаболизма липидов. По мере ухудшения функции почек нарушения липидного обмена прогрессируют и их можно обнаружить у большинства больных с хронической болезнью почек. Если на этапе сохранной функции почек более выражены гипо- и диспротеинемия, то на азотемической стадии развития болезни среди обменных нарушений больший удельный вес приобретают гипер- и дислипидемия [1]. Средний уровень конечных метаболитов оксида сыворотки крови был ниже у всех диализных больных в сравнении с донорами. Гемодиализ способствует инактивации NO за счет образования при контакте лейкоцитов с диализной мембраной большого количества свободных радикалов [13]. Вместе с тем существуют данные о связи гомоцистеина с продукцией NO через угнетение активности NO-синтазы [16]. Альтернативно гомоцистеин может при-

водить к накоплению асимметричного диметиларгинина, являющегося эндогенным ингибитором NO-синтазы [12, 21, 24]. Процессы аутоокисления гомоцистеина в плазме приводят к окислительной инактивации NO [15, 23].

Процесс окисления гомоцистеина способствует и окислению липопротеидов низкой плотности, что стимулирует процессы атерогенеза [17, 25]. В условиях **гомоцистеинемии** понижается синтез простаглицина, а также усиливается рост артериальных гладкомышечных клеток [14]. Гомоцистеин способствует образованию дисульфидных производных белков, накоплению в мембранах клеток и межклеточном пространстве липопротеинов низкой и очень низкой плотности и их окислению, а также уменьшению синтеза серосодержащих гликозаминогликанов, что приводит к снижению эластичности стенок сосудов. Окисленные липиды стимулируют экспрессию провоспалительных цитокинов, непосредственно инактивируют азотную окись, являются цитотоксичными по отношению к эндотелиоциту [15]. В итоге сосуды теряют эластичность, снижается их способность к дилатации, что в значительной степени обусловлено дисфункцией эндотелия [22, 23].

## Выводы

1. У пациентов, находящихся на гемодиализе, выявлено достоверное повышение уровней гомоцистеина, атерогенных показателей липидного спектра по сравнению с практически здоровыми лицами.
2. Концентрация конечных метаболитов оксида азота сыворотки крови у диализных пациентов достоверно ниже, чем в группе сравнения.
3. Выявлена статистически достоверная обратная связь между концентрацией метаболитов оксида азота и уровнем гомоцистеина.
4. Гипергомоцистеинемия может расцениваться как дополнительный маркер эндотелиальной дисфункции у больных на гемодиализе.

## Литература

1. Смирнов А.В., Есаян А.М., Каюков И.Г. и др. Современные подходы к замедлению прогрессирования хронической болезни почек // Нефрология. 2004. № 3. С. 89–99.
2. Смирнов А.В., Добронравов В.А., Каюков И.Г. Кардиоренальный континуум: патогенетические основы превентивной нефрологии // Нефрология. 2005. № 3. С. 7–15.
3. Шевченко О.П., Олефиренко Г.А. Гипергомоцистеинемия и ее клиническое значение // Лаборатория. 2002. № 1. С. 3–7.
4. Шевченко О.П. Гомоцистеин – новый фактор риска атеросклероза и тромбоза // Клиническая лабораторная диагностика. 2004. №10. С. 25–31.
5. Blacher J., Benetos A., Kirzin J. et al. Relation of plasma homocysteine to cardiovascular mortality in a French population // Am J Cardiol. 2002. Vol. 90 (6). P. 591–595.
6. Booth G., Wang E. Preventive health care, 2000 update: screening and management of hyperhomocysteinemia for the prevention of coronary artery disease events // CMAJ. 2000. Vol. 163 (1). P. 21–29.
7. Bostom A., Brosnan J.T., Hall B. Net uptake of plasma homocysteine by the rat kidney in vivo // Atherosclerosis. 1995. Vol. 116. P. 59–62.
8. Bots M., Launer L., Lindemans J. et al. Homocysteine and short-term risk of myocardial infarction and stroke in the elderly. The Rotterdam Study // Arch Intern Med. 1999. Vol. 159. P. 38–44.
9. Clarke R., Daly L., Robinson K. et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease // N Engl J Med. 1991. Vol. 324. P. 114–115.
10. Coppola A., Davi G., De Stefano V. et al. Homocysteine, coagulation, platelet function, and thrombosis // Semin Thromb Hemost. 2000. Vol. 26. P. 243–254.
11. Eikelboom J.W., Hankey G.J., Anand S.S. et al. Association between high homocysteine and ischemic stroke due to large- and small-artery disease but not other etiologic subtypes of ischemic stroke // Stroke. 2000.

Vol. 31. P. 1069–1075.

12. Fu W., Dudman N., Perry M., Wang X. Homocysteinemia attenuates hemodynamic responses to nitric oxide in vivo // *Atherosclerosis*. 2002. Vol. 161 (1). P. 169–176.

13. Hoenicb N.A. Platelet and leucocytes behaviour during haemodialysis // *Contrib Nephrol*. 1999. Vol. 125. P. 120–132.

14. Hansrani M., Gillespie J., Stansby G. Homocysteine in myointimal hyperplasia // *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2002. Vol. 23. P. 3–10.

15. Kanani P., Sinkey C., Browning R. et al. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocysteinemia in humans // *Circulation*. 1999. Vol. 100. P. 1161–1168.

16. Lang D., Kredan M.B., Lang D., Moat S.J. et al. Homocysteine-induced inhibition of endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta: Role for superoxide anions // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000. Vol. 5. P. 257–261.

17. Loscalo J. The oxidant stress of hyperhomocyst(e)inemia // *J Clin Invest*. 1996. Vol. 98 (1). P. 5–7.

18. Marcucci R., Prisco D., Brunelli T. et al. Tissue factor and homocysteine levels in ischemic heart disease are associated with angiographically documented clinical recurrences after coronary angioplasty // *Thromb Haemost*. 2000. Vol. 83. P. 826–832.

19. Moreno H., Kuffaty J., Croce N. et al. Homocysteinemia and its relation with risk factor for arterial hypertension // *Am J Hypertens*. 2002. Vol. 15. P. 218.

20. Suliman M.E., Divino Filho J.C., Barany P. et al. Effects of high-dose folic acid and pyridoxine on plasma and erythrocyte sulfur amino acids in hemodialysis patients // *J Am Soc Nephrol*. 1999. Vol. 10. P. 1287–1296.

21. Thambyrajah J., Landray M.J., McGlynn F.J. et al. Does folic acid decrease plasma homocysteine and improve endothelial function in patients with predialysis renal failure? // *Circulation*. 2000. Vol. 102. P. 871–875.

22. Tawakol A., Omland T., Gerhard M. et al. Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilatation in humans // *Circulation*. 1997. Vol. 95. P. 1119–1121.

23. Tawakol A., Forgiione M., Stuehlinger M. et al. Homocysteine impairs coronary microvascular dilator function in humans // *JACC*. 2002. Vol. 40 (6). P. 1051–1058.

24. Van Guldener C., Lambert J., Janssen M.J. et al. Endothelium-dependent vasodilatation and distensibility of large arteries in chronic haemodialysis patients // *Nephrol Dial Transplant*. 1997. Vol. 12. P. 14–18.

25. Veerkamp M., de Graaf J., den Heijer M. et al. Plasma homocysteine in subjects with familial combined hyperlipidemia // *Nephrol Dial Transplant*. 2003. Vol. 166 (1). P. 111–117.

26. Zucchelli P. The careful correction of renal insufficiency abnormalities: early is good // *Nephrol Dial Transplant*. 2000. Vol. 15. P. 2–6.

Получено: 16.11.09

Принято к печати: 17.12.09