

УДК: 616.12-008.46-039:616.127-005.4

ЗНАЧЕНИЯ НЕКОТОРЫХ БИОМАРКЕРОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ДИЛАТАЦИОННОЙ И ИШЕМИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

Е.В. Зуховицкая¹, В.А. Снежидский¹, В.М. Пырочкин¹, А.В. Наумов¹,
Е.М. Дорошенко¹, Т.П. Стемпень²

1 – УО «Гродненский государственный медицинский университет»

2 – УЗ «Гродненский областной кардиологический диспансер»

Целью представленного исследования было изучение сердечно-сосудистых биомаркеров (натрийуретического пептида типа В (BNP), гомоцистеина (Hcy) и мелатонина (Mel) у больных с сердечно-сосудистой недостаточностью, обусловленной идиопатической дилатационной (ДКМП) и ишемической (ИКМП) кардиомиопатией. Выявлено значимое повышение BNP у больных с кардиомиопатиями и проявлениями хронической сердечной недостаточности. Выявлен высокий уровень Hcy при ИКМП и ДКМП. Впервые показано, что тромбоциты содержат определённый уровень мелатонина, не связанный с его присутствием в плазме крови.

Ключевые слова: идиопатическая дилатационная кардиомиопатия, ишемическая кардиомиопатия, натрийуретический пептид типа В, гомоцистеин, мелатонин тромбоцитов.

Cardiovascular biomarkers such as brain natriuretic peptide (BNP), homocysteine (Hcy), melatonin (Mel) in patients with idiopathic dilated (DCMP) and ischemic (ICMP) cardiomyopathy have been studied. Received data have testified significant increase of BNP in patients with cardiomyopathies and manifestations of chronic heart failure. Homocysteine has elevated level in plasma of patients with ICMP and DCMP. The data have shown for the first time that platelets have a significant level of Mel regardless of its concentration in blood plasma.

Key words: idiopathic dilated cardiomyopathy, ischemic cardiomyopathy, biomarkers, brain natriuretic peptide, homocysteine, melatonin.

Введение

Среди всего многообразия используемых в медицинской науке и практике биомаркеров, позволяющих оценить и прогнозировать подверженность человека развитию ХСН, риск неблагоприятных событий, эффективность лечения, мы сосредоточили внимание на трех из них: натрийуретический пептид типа В или мозговой натрийуретический пептид (BNP) [1], гомоцистеин (Hcy) [4, 5] и мелатонин (Mel) [3, 9].

BNP секретируется в левом желудочке сердца в ответ на увеличение напряжения стенки и перегрузку давлением и является надежным критерием в диагностике и контроле эффективности терапии сердечной недостаточности [17]. Показано, что высокий уровень натрийуретических пептидов имеет место при различных формах фибрилляции предсердий [20], а высокий уровень BNP предопределяет повышенную степень риска развития аритмий со смертельным исходом у больных с дисфункцией левого желудочка [12]. Прогностическое значение уровня BNP как долговременного фактора, предопределяющего смертность при ССЗ, значительно выше, чем например, определение уровня С-реактивного белка [10].

В ряде исследований предсказательной ценности BNP у больных ХСН в когорту обследованных включали и больных с ДКМП и ИКМП. Результатом явилось утверждение, что BNP является предиктором неблагоприятного исхода у больных с ХСН. Так, в работе B.S. Van Cheng уровень BNP <430 пг/мл имел 96%, а <800 пг/мл – 94% отрицательное предсказательное значение, тогда как у умерших больных от декомпенсации ХСН в ходе лечения наблюдался подъем в среднем до 990 пг/мл.

Аминокислота Hcy является деметилированным производным незаменимой аминокислоты метионина, метаболическим результатом практически всех клеточных реакций трансаминирования [3]. Неблагоприятные эффекты гипергомоцистеинемии связывают с его потенциальной эндотелиотоксичностью, снижением биодоступности оксида азота, протромбогенностью, активаци-

ей оксидантного стресса и провоспалительных факторов, окислением липопротеидов низкой плотности, повышением пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, и, как следствие, развитием атеросклеротического процесса [3]. Гомоцистеин является независимым маркером высокой смертности от сердечно-сосудистых заболеваний наряду с систолическим артериальным давлением и уровнем С-реактивного белка. Согласно данным литературы, гипергомоцистеинемия ассоциирована с высоким риском развития сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний [2]. В ряде исследований показана взаимосвязь уровня Hcy со структурой миокарда, его сократительной функцией и функциональным классом сердечной недостаточности [18]. Хотя по настоящее время ведется обсуждение, является ли гипергомоцистеинемия причиной или следствием сердечно-сосудистой патологии [15, 18].

До недавнего времени Mel считался исключительно эпифизарным гормоном. Однако за последние годы накоплен обширный материал, позволяющий говорить об этом метилированном производном серотонина и как об одном из основных эндогенных антиоксидантов в организме млекопитающих [13]. Мелатонин обладает кардиопротекторным действием при ишемических и реперфузионно-реоксигенационных повреждениях, в т.ч. предотвращает реперфузионные нарушения ритма и способствует поддержанию адекватной микроциркуляции, обладает антиоксидантным действием, модулирует ритм сердца, сосудистый тонус, внутриклеточный уровень кальция, снижает активность симпатической системы, предупреждает развитие моделируемого (стрептозотоцинового) диабета [9, 13, 19]. Мелатонин ингибирует оксидантный стресс и апоптоз клеток, вызванный гипергомоцистеинемией. Показано снижение секреции Mel у больных артериальной гипертензией и ИБС, особенно с повышенным риском инфаркта миокарда и внезапной смерти, а также с возрастом.

До сих пор определение мелатонина в плазме крови

проводили только в тёмное время суток, на пике синтеза в эпифизе. Нами было выдвинуто предположение, что источником мелатонина в плазме крови могут быть тромбоциты [6], которые, помимо общеизвестных функций, могут служить «клетками-поставщиками» эндогенного антиоксиданта непосредственно к месту повреждения. Помимо определения уровня мелатонина в тромбоцитах, перед нами стояла задача определения диагностической значимости уровня мелатонина в тромбоцитах как возможного фактора противодействия развития сердечной недостаточности.

Таким образом, представляет интерес определение вышеперечисленных биомаркеров у больных с ХСН, обусловленной кардиомиопатиями.

Целью представленного исследования было изучение сердечно-сосудистых биомаркеров (BNP, Нсу и Mel) у больных с сердечно-сосудистой недостаточностью, обусловленной ДКМП и ИКМП и сопоставление результатов с данными визуализирующих и электрокардиографических методик.

Материал и методы

Обследовано 250 больных кардиологического профиля на базе УЗ «Гродненский областной кардиологический диспансер». Все больные были ознакомлены с протоколом исследования и дали свое согласие на участие в нем. Когорта больных была разделена на 4 группы на основании нозологического критерия и стадии ХСН. 1-ю группу составили 27 больных идиопатической ДКМП (24 (88,9%) мужчины, 3 (11,1%) женщины, средний возраст 43,5±8,9). 2-я группа была сформирована из 49 больных ИКМП (43 (87,8%) мужчины, 6 (12,2%) женщин, средний возраст 60,2±10,3). 3-я группа была образована из 148 (111 (75,0%) мужчин, 37 (25,0%) женщин, средний возраст 61,3±10,5) больных ИБС с различной выраженностью сердечной недостаточности (ХСН I-III). В группу сравнения (0 группа) включили 26 больных ИБС без признаков наличия ХСН (19 (73,1%) мужчин, 7 (26,9%) женщин, средний возраст 54,8±9,3). Распределение в группах по стадиям ХСН представлено в таблице 1.

Группы значимо не различались по половому составу, однако, к сожалению, имелись таковые различия по возрасту ввиду неоднобразной эпидемиологии заболеваний: так ДКМП дебютирует в возрасте 30-45 лет, ИБС же в подавляющем большинстве случаев за некоторыми исключениями (например, одновременное сочетание многих факторов риска) проявляет себя на стадии выраженных атеросклеротических изменений в более зрелом возрасте. Таким образом, в нашей работе присутствует допущение, что изменения, зарегистрированные с помощью используемых методов, обусловлены не столько возрастными процессами старения организма, а лежащими в основе заболевания этиопатогенетическими факторами.

У всех больных выполнялись забор крови и ее немедленное центрифугирование для получения плазмы и

Таблица 1 – Распределение в группах по стадиям ХСН

Группа		0 (n=26)	1 (n=27)	2 (n=49)	3 (n=148)
Степень ХСН	нет	26 (100%)	0	0	0
	1	0	1 (3,7%)	2 (4,1%)	63 (42,6%)
	2a	0	6 (22,2%)	18 (36,7%)	79 (53,4%)
	2b	0	19 (70,4%)	28 (57,2%)	6 (4,0%)
	3	0	1 (3,7%)	1 (2,0%)	0

тромбоцитов. Тромбоциты осаждали центрифугированием из 1.0 мл обогащённой тромбоцитами плазмы, концентрацию мелатонина определяли в пг на мл осадка [6]. Образцы замораживали и хранили до проведения исследований при -80°С. Уровень биомаркеров определяли согласно методике, предлагаемой фирмой-производителем набора для проведения лабораторного теста BNP.

Для определения гомоцистеина использовали высокоэффективный жидкостной хроматограф (HPLC Agilent 1100, HP), содержащий 4-канальный градиентный насос, термостат колонок, автосамплер и детектор флуоресценции. Разделение осуществляли на колонке Диасорб 130 C16T, 3x250 мм, 7 мкм. Подвижная фаза: 0,1 М NaH₂PO₄, 17 мМ CH₃COOH, pH 3,65, 40 мг/л ЭДТА, 3% ацетонитрила. Скорость потока 0,6 мл/мин, температура колонки 30°С. Детектирование осуществлялось по флуоресценции, 379/510 нм. Амиотиолы плазмы крови восстанавливали с помощью Tris(2-carboxyethyl)phosphin (TCEP) с последующей дериватизацией 7-флюоробензо-2-оксо-1,3-диазол-4-сульфонатом аммония (SBD-F) [14]. В качестве внутреннего стандарта использовали N-ацетил цистеин (NAC) [11]. Регистрация хроматограмм и их количественная обработка осуществлялись с помощью Agilent ChemStation A10.01.

Мелатонин определяли с помощью HPLC с флуоресцентной детекцией.

Кроме того, все больные обследованы физикально, выполнено эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ), а также определялась вариабельность сердечного ритма (BCP).

Обработка данных выполнялась в программных средах Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, Inc.) и Statistica 7.0 (Statsoft, Inc.). Использовались методы описательной статистики, непараметрический критерий Манна-Уитни для сравнения количественных данных в независимых группах, методы корреляционного анализа Спирмена и Кендалла. Разницу между коэффициентами корреляции определяли с помощью вероятностного калькулятора. Результаты отражены в виде M±SD, где M – среднее арифметическое значение, SD – стандартное (среднее квадратичное) отклонение. Уровень p<0,05 принимался за статистически значимый.

Результаты

Уровень BNP составил (пг/мл) 160,5±198,9 у больных ИБС, 446,3±473,8 у больных ИКМП, 578,7±382,4 у больных ДКМП. В группе сравнения результат был равен 25,8±9,7 пг/мл (рисунок 1). При этом значения BNP у больных кардиомиопатиями были значимо выше, по сравнению с больными ИБС без признаков ХСН (группа 0) и с наличием ХСН (группа 3) (p<0,01).

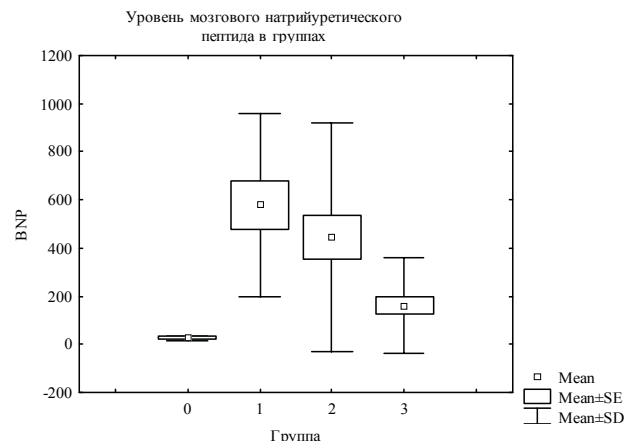


Рисунок 1 – Уровень BNP в группах

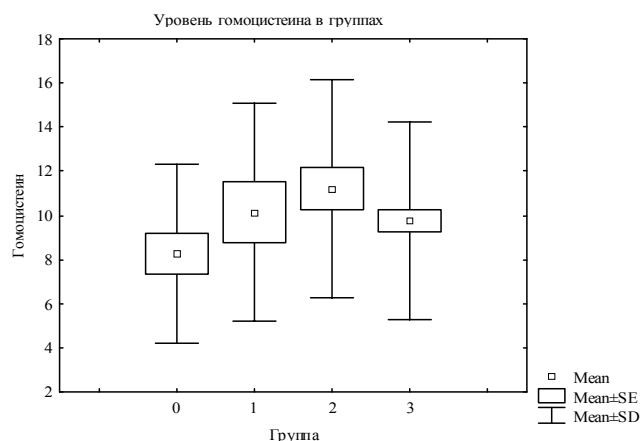


Рисунок 2 – Уровень Нсу в группах

При измерении Нсу (мкмоль/л) были установлены следующие значения в группах: 10,14±4,92 в 1-й группе, 11,21±4,92 во 2-й группе, 9,75±4,48 в 3-й группе и 8,26±4,05 в группе сравнения (см. рисунок 2), причем, у больных ИКМП уровень Нсу был статистически значимо ($p=0,0456$) выше, по сравнению с группой 0. Уровень гомоцистеина превышал верхний квартиль значений группы 0 у больных ДКМП в 48%, у больных ИКМП в 28,5%, у больных ИБС без ХСН – в 25,5%. Значимые статистические различия наблюдались при разделении больных согласно степени ХСН в группе сравнения и в группе больных ХСН Н2б-3, там значение Нсу было 12,5±5,4 ($p=0,0101$). При разделении больных согласно фракции выброса (ФВ) Нсу определялся на уровне 10,7±6,8, 11,0±4,4, 9,2±3,9 у больных с ФВ <35, 35-50, >50, соответственно. Статистические различия были между группами с ФВ 35-50 и >50 ($p=0,0189$).

Мел тромбоцитов определили на уровне (пг/мл) 74,1±52,0, 57,3±24,8, 69,5±65,6 и 66,4±44,6 у больных ИБС без ХСН, ДКМП, ИКМП и ИБС с ХСН, соответственно (см. рисунок 3). Отметим, что уровни Мел статистически не различались в группах. При разделении больных согласно степени ХСН Мел тромбоцитов определялся на уровне (пг/мл) 75,2±53,5, 69±38,4, 66,5±48,8, 47,2±25,8 у больных Н0, Н1, Н2а, Н2б-3, статистические различия были между группами больных с ХСН Н0 и Н2б-3 ($p=0,0319$). При разделении больных согласно ФВ Мел тромбоцитов определялся на уровне (пг/мл) 47,3±26,3, 65,4±39,2, 70,3±47,2 у больных с ФВ <35, 35-50, >50, соответственно. Следует отметить что уровни Мел тромбоцитов статистически различались между группами с ФВ <35 и >50 ($p=0,0076$), ФВ <35 и 35-50 ($p=0,0362$).

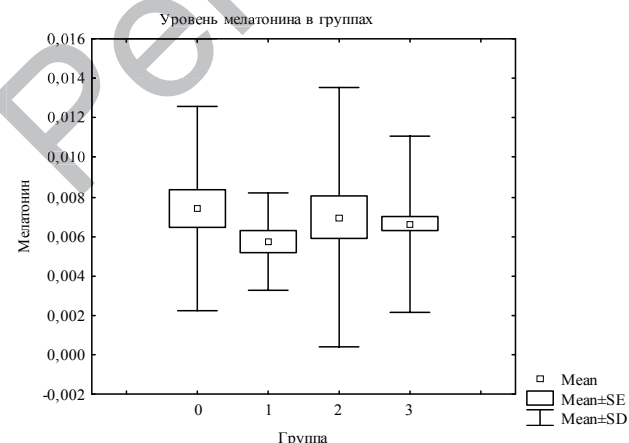


Рисунок 3 – Уровень Мел в группах

При выполнении корреляционного анализа в каждой из групп по отдельности, значимые ассоциации получены не были. В общей группе со степенью ХСН коррелировали BNP – τ составил 0,60 ($p<0,01$), Нсу, соответственно – 0,22 ($p<0,05$).

Для BNP получены корреляции с ЭхоКГ параметрами ($p<0,001$): ФВ ($R=-0,63$, $p=0,0041$), КСО ($R=0,65$, $p=0,0002$), КСД ($R=0,62$, $p=0,0031$), КДО ($R=0,54$, $p=0,0051$), КДД ($R=0,57$, $p=0,0001$). Также выявлена статистически значимая обратная корреляционная связь с рядом параметров ВСР: SDNN ($R=-0,39$), RRNN ($R=-0,65$), RMSSD ($R=-0,40$), TP ($R=-0,39$), VLF ($R=-0,38$), LF ($R=-0,42$), HF ($R=-0,37$).

Уровень Нсу слабо коррелировал (NS) с ФВ ($R=0,22$, $p=0,0120$) и систолическими параметрами: ($R=0,22$, $p=0,01338$) для КСО, ($R=0,28$, $p=0,011705$) для КСД.

Значения Мел были связаны (NS) с ФВ ($R=-0,16$, $p=0,0209$), КСО ($R=-0,20$, $p=0,0062$), КСД ($R=-0,21$, $p=0,0035$), КДО ($R=-0,18$, $p=0,0127$), КДД ($R=-0,19$, $p=0,0035$).

Обсуждение

Уровень BNP значимо различался у больных кардиомиопатиями, по сравнению с больными ИБС с и без признаков ХСН. Поскольку в дефиниции кардиомиопатий заложено нарушение сократительной функции сердца, и эта часть определения является общей и для хронической сердечной недостаточности, то понятно, что в группах больных ДКМП и ИКМП преобладают пациенты с тяжелой клинически выраженной сердечной недостаточностью, у части обследованных лиц имеет место и конечная стадия с декомпенсацией. В то же время, в группах больных ИБС преобладает начальная стадия поражения, у некоторых симптомов ХСН не было.

Представляет интерес и значение Нсу в группах. Наблюдается незначительный рост величин в последовательности больные ИБС без признаков ХСН, больные ИБС с признаками ХСН, больные ДКМП, больные ИКМП. При этом средние значения находятся в пределах 8-11 мкмоль/л. Это подтверждает факт, что гипергомоцистеинемия связана в едином патогенетическом звене с дисфункцией эндотелия, атеросклерозом и его клиническим проявлением – ИБС. Тем более, что сама по себе гипергомоцистеинемия вызывает дисфункцию эндотелиальных клеток, пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, накопление экстрацеллюлярного матрикса, гиперактивность тромбоцитов и окисление липопротеидов низкой плотности [4, 5].

Заслуживает внимание тот факт, что уровень Нсу в группе больных ДКМП был значимо выше, чем у больных ИБС без признаков ХСН. Это подтверждает результаты исследований, где было продемонстрировано усиление образования воспалительных цитокинов и факторов роста на фоне гипергомоцистеинемии и дальнейшей пролиферации гладкомышечных клеток [4, 5, 15]. Предполагается, что высокие концентрации гомоцистеина в конечном итоге приводят к повреждению функции митохондрий, а также влияют на экспрессию митохондриальных генов, что имеет место в патогенезе сердечной недостаточности. Существуют сведения о наличии значимой отрицательной корреляции между уровнем Нсу и содержанием митохондриальной ДНК [11].

Уровень Мел тромбоцитов определялся в границах 1-100 пг/мл. И хотя имеется тенденция отрицательной корреляции его уровня со степенью ХСН, не найдено достоверных изменений его концентрации при различных формах сердечной патологии. Это позволяет предполагать, что мелатонин тромбоцитов решает исключительно «локальные» задачи в ответ на влияние опреде-

лётных факторов ишемизированных клеток эндотелия, в том числе и гомоцистеина, и не участвует непосредственно в формировании сердечной патологии. Известно, что гомоцистеин, попадая из клетки в плазму крови, активирует выработку свободных радикалов кислорода в эндотелиальных клетках сосудов, увеличивает образование пероксинитрита (ONOO⁻). Ингибиторами обоих радикалов служат мелатонин и некоторые его производные [13]. Он также поддерживает экспрессию ферментов антиоксидантов *супероксиддисмутазы* (SOD) и *глутатион пероксидазы* и индуцирует активность γ -*глутамилцистеин синтетазы* – ключевого фермента синтеза основного эндогенного антиоксиданта – глутатиона (GSH) [13]. К сожалению, весь перечень возможных факторов, затрагивающих образование Mel в тромбоцитах, учесть в настоящем исследовании не представлялось возможным.

Подтверждена положительная взаимосвязь между уровнем BNP и степенью ХСН, а также геометрическими и объемными параметрами левого желудочка, причем, она была значимо более сильная, чем между другими биомаркерами и сердечной недостаточностью. Так же выявлена отрицательная корреляция с временными и спектральными параметрами ВСР, что обусловлено общим снижением модулирующих влияний на сердце при ХСН, а также перераспределением в вегетативном обеспечении в сторону симпатических влияний и централизации ритма.

Прямая корреляция выявлена между уровнем Hcy и стадией ХСН. Ввиду того, что контрольные величины гомоцистеина, полученные ранее в нашей лаборатории у здоровых людей без сердечно-сосудистой патологии (7,69 – 10,54 (средняя – 8,53) мкмоль/литр либо 5,67 – 7,65 (средняя – 6,39) мкмоль/л через 10 дней адекватного витаминного (В₉, В₁₂) обеспечения [2]), значительно ниже величин, полученных нами в данной работе в «группе сравнения», в которую вошли больные ИБС без признаков.

Обратная ситуация имеет место в случае MEL. Несмотря на слабую корреляцию и отсутствие значимых различий средних значений в группах, получаем, что у больных ИБС без признаков ХСН все же наблюдалась тенденция к более высокому уровню Mel, чем у пациентов с ДКМП. Этот факт дает возможность предполагать, что имеются определённые различия в синтезе мелатонина в тромбоцитах у лиц с различной формой поражения сердца. И, возможно, это определённым образом связано с развитием сердечной недостаточности. Безусловно, данная проблема требует более детального изучения в будущем.

Выводы

1. Уровень BNP повышается параллельно тяжести структурной патологии сердца.
2. У 48% больных ДКМП и 28,5% с ИКМП повышен уровень гомоцистеина.
3. Тромбоциты человека содержат свой определённый уровень мелатонина, независимый от его содержания в плазме крови.

Литература

1. Андреев Д.А., Рыкова М.С. Натрийуретические белки В-типа при сердечной недостаточности // *Клин. медицина.* – 2004. – Т. 82, № 6. – С. 4-8.
2. Наумов А.В., Разводовский Ю.Е. Роль процессов метилирования в этиологии и патогенезе болезни Альцгеймера. // *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова.* – 2008. – 108, № 5. – С. 99-104.

3. Наумов А.В. Роль нарушений процессов метилирования и обмена метионина в патогенезе заболеваний человека // *Журнал ТрГМУ.* – 2007. – №1. – С. 4-7.

4. Парамонов А.Д., Моисеев С.В., Фомин В.В. и др. Гипергомоцистеинемия и белки острой фазы при различных формах ишемической болезни сердца // *Тер. Архив.* – 2004. – Т. 76, № 6. – С. 67-70.

5. Потемкин В.В., Кубатиев А.А., Абрамова Е.А. и др. Роль гомоцистеина в патогенезе сосудистых осложнений при сахарном диабете 2-го типа // *Проблемы эндокринологии.* – 2007. – Т. 53, № 3. – С. 10-13.

6. Савошинский Е.М., Наумов А.В. Тромбоциты как новый диагностический фактор // В кн.: *Актуальные вопросы современной медицины.* // Материалы 57-й итоговой научной конференции студентов и молодых учёных ВГМУ 21-22 апреля 2005 года. Тезисы докладов. Витебск, 2005. с. 99-100.

7. Altun A., Ugur-Altun B. Melatonin: therapeutic and clinical utilization // *Int. J. Clin. Pract.* – 2007. – Vol. 61, № 5. – P. 835-845.

8. Berger R., Huelsman M., Strecker K. et al. B-Type Natriuretic Peptide Predicts Sudden Death in Patients With Chronic Heart Failure // *Circulation.* – 2002. – Vol. 105. – P. 2392-2397.

9. Bertuglia S., Reiter R.J. Melatonin reduces ventricular arrhythmias and preserves capillary perfusion during ischemia-reperfusion events in cardiomyopathic hamsters. // *J Pineal Res.* – 2007. – Vol. 42. – № 1. – P. 55-63.

10. Bruegger-Andersen T., Ponitz V., Staines H., Pritchard D., Grundt H., Nilsen D.W. B-type natriuretic peptide is a long-term predictor of all-cause mortality, whereas hsCRP predicts short-term ischemic events in coronary chest pain patients: a prognostic study. *BMC // Cardiovasc Disord.* – 2008. – Vol. 8. – № 1. – P. 34.

11. Durand P., Fortin L.J., Lussier-Cacan S., Davignon J., Blache D. Hyperhomocysteinemia induced by folic acid deficiency and methionine load-applications of a modified HPLC method // *Clin Chim Acta.* – 1996. – Vol. 252. – № 16. – P. 83-93.

12. Galante O., Amit G., Zahger D., Wagshal A., Ilia R., Katz A. B-type Natriuretic Peptide Levels Stratify the Risk for Arrhythmia Among Implantable Cardioverter Defibrillator Patients // *Clin Cardiol.* – 2008. – Vol. 31. – №12. – P. 586-589.

13. Korkmaz A., Reiter R.J., Topal T., Manchester L.C., Oter S., Tan D.X. Melatonin: an established antioxidant worthy of use in clinical trials. // *Mol Med.* – 2009. – Vol. 15. – № 1-2. – P. 43-50.

14. Krijt J., Vackova M., Kozich V. Measurement of homocysteine and other aminothiols in plasma: advantages of using tris(2-carboxyethyl)phosphine as reductant compared with tri-n-butylphosphine // *Clin Chem.* – 2001. – Vol 47. – № 10. – P. 1821-1828.

15. Mangiagalli A., Samuele A., Armentero M.T., Bazzini E., Nappi G., Blandini F. Effects of homocysteine on apoptosis-related proteins and anti-oxidant systems in isolated human lymphocytes // *Eur J Biochem.* – 2004. – Vol. 271. – № 9. – P. 1671-1676.

16. Naumov A.V., Pakulnevich Y.F., Doroshenko E.M., Plotski A.R., Garelik P.V. Hyperhomocysteinemia at various forms of pancreatitis // *Acta Biochimica Polonica.* – 2008. – Vol. 55. – Suppl.3. – P. 191.

17. Parissis J.T., Nikolaou M., Birmpa D., Farmakis D., Paraskevaidis I., Bistola V., Katsoulas T., Filippatos G., Kremastinos D.T. Clinical and prognostic value of Duke's Activity Status Index along with plasma B-type natriuretic peptide levels in chronic heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy // *Am J Cardiol.* – 2009. – Vol. – 103. – № 1. – P. 73-75.

18. Rodionov R.N., Lentz S.R. The homocysteine paradox // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2008. – Vol. 28. – № 6. – P.1031-1033.

19. Sudnikovich E.J., Maksimchik Y.Z., Zabrodskaya S.V., Kubyshin V.L., Lapshina E.A., Bryszewska M., Reiter R.J., Zavadnik I.B. Melatonin attenuates metabolic disorders due to streptozotocin-induced diabetes in rats // *Eur J Pharmacol.* – 2007. – Vol. 569. – № 3. – P. 180-187.

20. Wozakowska-Kapion B., Opolski G., Herman Z., Kosior D. Natriuretic peptides in patients with atrial fibrillation // *Cardiol J.* – 2008. – Vol. 15. – № 6. – P. 525-529.