

KAUNO MEDICINOS UNIVERSITETAS

Zita Sabaliauskienė

**TROMBOCITŲ AGREGACIJOS IR
HOMOCISTEINO KONCENTRACIJOS KRAUJYJE
POKYČIŲ BIOLOGINĖ REIKŠMĖ ŪMIŲ
IŠEMINIŲ GALVOS SMEGENŲ KRAUJOTAKOS
SUTRIKIMŲ METU**

Daktaro disertacija

Biomedicinos mokslai, biologija (01B)

Kaunas, 2009

Padėka

Nuoširdžiai dėkoju mano darbo moksliniam konsultantui profesoriui habilituotam daktarui Pranui Grybauskui. Jo geras žodis, parama, supratimas, patirtis, idėjos, neišsenkanti energija, geranoriškumas ir kantrybė man labai padėjo rengiant šį darbą. Nuoširdžiai dėkoju habil. med. dr. Virginijai Gaigalaitei už gerus patarimus, atliekant statistinę analizę, ir nuolatinę paramą.

Ačiū viešosios įstaigos Vilniaus greitosios pagalbos universitetinės ligoninės Neurologijos skyriaus gydytojams už bendradarbiavimą.

Širdingas ačiū visam prof. P. Grybausko vadovaujamos laboratorijos kolektyvui už geranoriškumą ir šiltą atmosferą.

Begaliniai dėkinga savo šeimai, tėvams bei draugams už palaikymą.

TURINYS

SANTRUMPOS	5
1. ĮVADAS	7
1.1. Temos aktualumas	7
1.2. Darbo tikslas	9
1.3. Darbo uždaviniai	9
1.4. Darbo naujumas	9
1.5. Praktinė reikšmė	10
2. LITERATŪROS APŽVALGA	12
2.1. Galvos smegenų insulto ir praeinančio galvos smegenų išemijos priepuolio apibrėžtis	12
2.2. Galvos smegenų kraujotaka ir insulto patogenezė	13
2.3. Homocisteinas, bendras apibūdinimas ir istorija	14
2.4. Homocisteino apykaita žmogaus organizme	16
2.5. Veiksniai, fiziologinės būklės, turinčios įtakos hiperhomocisteinemijos atsiradimui	17
2.6. Genetiniai veiksniai	18
2.7. Mitybos, amžiaus ir gyvenimo būdo įtaka	19
2.8. Susirgimai, kurie sutrikdo homocisteino apykaitą	21
2.9. Vaistų įtaka homocisteino metabolizmui	25
2.10. Hiperhomocisteinemijos įtaka kraujagyslių funkcijai, kraujo krešėjimo sistemai ir aterosklerozės vystymuisi	27
2.11. Trombocitai, jų funkcija ir hiperhomocisteinemija	38
2.12. Trombocitų agregacijos tyrimas ir jo reikšmė	40
2.13. Trombocitų agregacijos slopinimo aspirinu veikimo mechanizmas	42
3. TIRIAMŲJŲ KONTINGENTAS IR METODAI	44
3.1. Ligonių kontingento bendra charakteristika	44
3.2. Tyrimų schema ir apimtys	45
3.3. Kraujo paėmimas	46
3.4. Trombocitų agregacijos tyrimo metodas trombocitų turtingoje plazmoje	46
3.5. Neindukuotos trombocitų agregacijos tyrimo metodas trombocitų turtingoje plazmoje	47
3.6. Fibrinogeno koncentracijos nustatymo metodas	47
3.7. Vidinė ir išorinė krešėjimo sistemos tyrimų kokybės kontrolė	47
3.8. Homocisteino koncentracijos nustatymo metodas	47

3.9. C-reaktyviojo baltymo koncentracijos nustatymo metodas	48
3.10. Statistinė analizė	48
4. REZULTATAI	50
4.1. Homocisteino koncentracijos pokyčiai, sergant išeminiu insultu	50
4.1.1. Bendra ligonių charakteristika ir homocisteino koncentracija.....	50
4.1.2. Rizikos veiksniai, VMA stenozės laipsnis (<50 proc. ir >50 proc.) ir hiperhomocisteinemia	52
4.1.3. Homocisteino koncentracija ir VMA stenozės laipsnis	53
4.1.4. Ligonų, kurių homocisteino koncentracija kraujo serume padidėjusi arba normali, lyginamoji charakteristika	54
4.1.5. Insulto etiologija ir homocisteino koncentracija kraujo serume	56
4.2. Homocisteino koncentracija ir trombocitų funkcija	57
4.3. Ligonų amžiaus ir homocisteino koncentracijos ryšys	58
4.4. Homocisteino koncentracija ir galvos smegenų kraujotakos sutrikimų sunkumas.....	59
4.5. Ūminiai galvos smegenų kraujotakos sutrikimai ir trombocitų funkcijos aktyvumas	60
4.5.1. Trombocitų agregacijos pokyčiai išeminio insulto metu	60
4.5.2. Trombocitų agregacijos pakitimai ūminio išeminio insulto ir PSIP metu	63
4.5.3. Aspirino įtaka trombocitų agregacijai	64
4.5.4. Aspirino rezistencijos įtaka insultui	66
4.6. Hematologiniai pakitimai sergant išeminiu insultu	68
5. REZULTATŲ APTARIMAS	71
6. IŠVADOS	83
7. LITERATŪROS SĄRAŠAS	84
8. SPAUSDINTŲ DARBŲ SĄRAŠAS	105

SANTRUMPOS

ADP – adenozino difosfatas
ATP – adenozino trifosfatas
ADR – adrenalinas
AF – augimo faktorius
ASR – acetilsalicilo rūgštis
bHc – bendras homocisteinas
BHMT – betaino homocisteino metiltransferazė
CBS – cistationin- β sintazė
CNS – centrinė nervų sistema
COX-1(2) – ciklooksigenazė 1(2)
CP – ceruloplazminas
CRB – C-reaktyvusis baltymas
DNR – dezoksiribonukleininė rūgštis
DTL – didelio tankio lipoproteinas
ENG – eritrocitų nusėdimo greitis
GFG – glomerulų filtracijos greitis
GP (Ia,Ib, Ic, IIb, IIIa, IV, V) – glikoproteinai (Ia, Ib, Ic, IIb, IIIa, IV, V)
Hc – homocisteinas
hHc – hiperhomocisteinemija
ILAM-1 – interląstelinė adhezijos molekulė-1
IŠL – išeminė širdies liga
KOL – kolagenas
KT – kompiuterinė tomografija
Lp(a) – lipoproteinas (a)
MAT – metionino adenoziltransferazė
MCV –vidutinis eritrocitų tūris
MRT – magnetinio rezonanso tyrimas
MPV – vidutinis trombocitų tūris
MS – metionino sintazė
MTHFR – metilentetrahidrofolato reduktazė
MTL – mažo tankio lipoproteinas
NO – azoto oksidas, endotelio relaksacijos faktorius

PAF – trombocitų aktyvacijos faktorius
PAI – plazminogeno aktyvatoriaus inhibitorius
PDGF – plokštelių (trombocitų) augimo faktorius
PG(I₂, D₂, G₂, H₂) – prostaglandinas (I₂, D₂, G₂, H₂)
PON – paraoksonazė
PPP – betrombocitinė plazma
PSIP – praeinantis smegenų išemijos priepuolis
SAH – S-adenozilhomocisteinas
SAM – S-adenozilmetioninas
SNO₂Cys₂ – S-nitrozochomocisteinas
SNOHcy – S-nitrozocisteinas
SNP – natrio nitroprusidas
TA – trombocitų agregacija
THF – tetrahidrofolatas
TTP – turtinga trombocitais plazma
TxA₂ – tromboksanas A₂
VMA – vidinė miego arterija
vWF – von Willebrand'o faktorius

1. ĮVADAS

1.1. Temos aktualumas

Ūmūs išeminiai galvos smegenų kraujotakos sutrikimai – viena svarbiausių mirties bei invalidumo priežasčių ir Lietuvoje, ir visame pasaulyje. Išeminiu insultu sergama keturis kartus dažniau nei hemoraginiu. Naujų galvos smegenų insultų užregistruojama nuo 100 iki 200 atvejų 100 000 gyventojų per metus. 2004 metais, Lietuvos sveikatos informacijos centro ir Lietuvos statistikos departamento duomenimis, kraujotakos sistemos ligos sudarė didesniąją mirtingumo dalį – 54,5 proc., arba 655,8/100 tūkst. gyv. Mirtingumas vyresnių kaip 64 metų asmenų grupėje padidėja net iki 67 procentų. Visa tai reikalauja didžiulių ekonominių išlaidų. Ištobulėjus neurologinėi diagnostikai pasaulyje, keičiasi supratimas apie smegenų išemijos patofiziologinius ir biocheminius mechanizmus. Ligos ir jos komplikacijų diagnostikai, gydymui, ligonių reabilitacijai ir slaugai išleidžiamos miliardinės lėšos, kuriami nauji perspektyvūs vaistai. Ne mažiau aktuali išlieka pirminė ir antrinė profilaktika, rizikos veiksnių (tarp jų hiperhomocisteinemijos) išaiškinimas ir korekcija.

Ne visus rizikos veiksnius įmanoma kontroliuoti. Riziką susirgti pirmuoju išeminiu insultu lemia patvirtinti (turintys akivaizdžių įrodymų, gerai dokumentuoti) bei nevysiškai patvirtinti (blogiau dokumentuoti), modifikuojamieji ir nemodifikuojamieji veiksniai. Nemodifikuojami rizikos veiksniai: amžius, rasė (juodoji), lytis (vyrai), mažas gimimo svoris, šeiminė insulto/PSIP anamnezė. Modifikuojami rizikos veiksniai: koronarinė širdies liga (ypač vyrams), širdies nepakankamumas, virpamoji aritmija, periferinių arterijų liga, hipertenzija, rūkymas, cukrinis diabetas, asimptominė karotidinė stenoze, pjautuvinė anemija, dislipidemija, nutukimas, oraliniai kontraceptikai, hiperhomocisteinemija (hHc), fizinis neaktyvumas, per didelis natrio (Na) ir per mažas kalio (K) vartojimas, terapija pakaitiniais hormonais. Iš dalies modifikuojami: metabolinis sindromas, alkoholizmas, narkomanija, hiperkoaguliacinės būklės, uždegiminiai procesai, ūmi infekcija, migrena, miego kvėpavimo sutrikimai. [87, 121, 239].

Svarbiausią vaidmenį mažinant sergamumą galvos smegenų insultu atlieka modifikuojami rizikos veiksniai. Rizikos veiksnių įvairovė ir jų svarba nevienodi. Padidėjusi homocisteino (Hc) (aminorūgštis, kilusi iš metionino metabolizmo) koncentracija spartina aterosklerozės ir trombozės vystymąsi. hHc siejama su

kraujagyslių ligų atsiradimu ir progresavimu, aterosklerozės proceso skatinimu ir krešėjimo sistemos aktyvinimu. Žalojantis Hc poveikis sukelia lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją, padidina kolageno sintezę, aterogenezės progresavimą, pasižymi endotelio antikoagulantinių funkcijų slopinimu, trombomodulino ekspresijos ant endotelio ląstelių paviršiaus slopinimu, sumažina antitrombino antikoaguliacinį veikimą, slopina endotelio fibrinolizinį aktyvumą, didina lipoproteino 'a' (Lp(a)) afinitetą fibrinui, tuo būdu neleidamas jo paveikti plazminui.

Sutrikus Hc apykaitos reguliavimo mechanizmams, jo perteklius sukelia pavojingas patologines būsenas. Sparčiau vystosi aterosklerotinės plokštelės nestabilumas, jai plyšus sukelia koronarų ar galvos smegenų arterijų okliuzija ar dalinė trombozė, didėja ligonių mirtingumas. Per 80 klinikinių studijų tyrimų rezultatai rodo, kad Hc yra svarbus, nepriklausomas ir lengvai modifikuojamas rizikos veiksnys, turintis įtakos aterosklerozės išsivystymui ir progresavimui širdies, galvos smegenų ir periferinėse kraujagyslėse.

Aterosklerozė – viena dažniausių išeminio insulto priežasčių. Aterosklerotinės kilmės insultų atsiradimo (arba stambųjų kraujagyslių) yra du mechanizmai: hipoperfuzija dėl ryškaus arterijos spindžio susiaurėjimo ir embolija iš nestabilios aterosklerotinės plokštelės (ypač vidinėje miego arterijoje). Nestabilios aterosklerotinės plokštelės požymiai: didelė lipidinė šerdis (>40 proc. plokštelės), plona fibrininė kepurėlė (<65 μm) ir makrofagų infiltratas [186]. Nestabilios aterosklerotinės plokštelės susidarymas – svarbiausias aterosklerozės padarinys.

Rokitanskis-Duguid teigia, kad hemostazė, ypač jos trombocitų grandis, tiesiogiai dalyvauja aterosklerozės procese. Trombocitų adhezija prasideda ten, kur pažeidžiamas kraujagyslių endotelis ir apnuoginamos subendotelis pasižymintis aukščiausiu afinitetu trombocitams, kurie agreguodamiesi formuoja pirminį trombocitinį trombą. Pirmuosiuose trombo susidarymo etapuose pagrindinis vaidmuo tenka pirminės hemostazės grandžiai, t. y. trombocitams.

Pirminės hemostazės (ypač trombocitų grandies) tyrimams aterosklerozės patogenezėje kreipiama nepagrįstai mažai dėmesio. Įvertinus trombocitų agregacijos tyrimus, nustačius jų jautrumą agregantui, galima tiksliau skirti vaistų dozes ir išvengti nepageidaujamų komplikacijų ligos eigoje. Trombocitų funkcijos aktyvumą galima nustatyti tik ištyrus jų agregacijos intensyvumą, t.y. jų jautrumą atskiriems agregacijos iniciatoriams (induktoriams, agonistams). Agregometrijos metodas teikia daug naudingos informacijos ne tik apie trombocitų funkcinę būseną, bet ir šių funkcijų

reguliavimą, vartojamų trombocitų funkcijai slopinti vaistų (antiagregantų) veiksmingumą. Antiagregantų parinkimas bei vartojimas yra aktuali šių dienų diskusijų tema. Trombocitų agregacijos pokyčiai hiperhomocisteinemijos aplinkoje – nevysiškai aiškūs ir nepakankamai ištirti veiksniai, lemiantys galvos smegenų kraujotakos sutrikimus.

1.2. Darbo tikslas

Šio darbo tikslas – nustatyti trombocitų agregacijos ir homocisteino koncentracijos pokyčių biologinę reikšmę, išsivysčius ūmiems išeminiam galvos smegenų kraujotakos sutrikimams, bei įvertinti turinčius tam įtakos veiksniai (miego arterijos stenozės laipsnis, kraujotakos sutrikimų sunkumas, uždegiminių žymenų raiška, kai kurie širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksniai).

1.3. Darbo uždaviniai

1. Įvertinti sąsają tarp hiperhomocisteinemijos ir trombocitų agregacijos intensyvumo, atsižvelgiant į smegenų kraujotakos sutrikimų sunkumą, vidinės miego arterijos (VMA) stenozės dydį ir uždegiminių žymenų raišką, kitus širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksniai.

2. Įvertinti trombocitų agregacijos pokyčio dydį trombocitų turtingoje kraujo plazmoje naudojant įvairius organizmui būdingus agregacijos agonistus (adenozino difosfatas, adrenalinas, kolagenas), taip pat ištirti spontaninei agregacijai sergančiųjų ūminiais galvos smegenų kraujotakos sutrikimais (išeminis insultas, PSIP).

3. Įvertinti aspirino vartojimo profilaktinėmis dozėmis įtaką trombocitų agregacijai, indukuotai įvairiais agonistais ir spontaninei agregacijai sergant ūminiais išeminiais galvos smegenų kraujotakos sutrikimais.

4. Įvertinti kai kurių hematologinių pakitimų įtaką hiperhomocisteinemijos aplinkoje piminės hemostazės (trombocitų grandis) procesams, kraujo tėkmės sutrikimams bei polinkiui sirgti išeminiu insultu ir PSIP.

1.4. Darbo naujumas

Pastaraisiais metais pastebėta, kad esama trombozės, metionino ir jo metabolito homocisteino apykaitos sutrikimų tarpusavio ryšių. Aprašyta daugiau kaip 300 veiksnių,

didinančių riziką susirgti širdies ir kraujagyslių sistemos ligomis. „Naujesiems“ rizikos veiksniams priskiriamas ir homocisteino koncentracijos padidėjimas kraujotakoje – hiperhomocisteinemija (hHc), kuri susijusi su kraujagyslių ligomis. hHc gali tapti savarankiška patologinės būsenos pradžia ir išsivysčiusios patologijos padarinys. Pasaulinėje literatūroje šie darbai yra aktualūs, nes nagrinėja kraujagyslių ir endotelio pažeidimo patogenezę, esant hHc. Aterosklerotinių pakitimų kraujagyslėse patogenezė ir padidėjusi rizika susidaryti trombam, esant padidėjusiai homocisteino koncentracijai žmogaus organizme, išaiškinta nepakankamai.

Trombocitų ir endotelio tromborezistentiškumo funkcijų palaikymas normaliame lygmenyje, taip pat jų sunorminimas patologijos atveju yra viena iš perspektyviausių besivystančios hemostaziologijos (mokslo apie kraujo krešėjimo sistemą) sričių. Dabar jau žinoma, kad po nestabilios aterosklerotinės plokštelės plyšimo, sukeliančio arterinę trombozę, žaibiškai susiformuoja okliuduojantis ar neokliuduojantis kraujagyslės spindį trombocitinis trombas. Tai tiesiogiai priklauso nuo ilgalaikio trombocitų agregacijos sužadinimo veikiant gausėjantiems kiekiu ir aktyvumu cirkuliuojantiems natūriniais agregantams (adenozino difosfatas – išsiskiria iš pažeistų ląstelių, adrenalinas – gaminasi streso metu, kolagenas – apsinuogina po endotelio deskvamacijos). Ilgą laiką ūminio išeminio insulto gydymas antitrombocitiniais medikamentais rėmėsi daugiau subjektyviais gydančiųjų gydytojų kriterijais ir jų ilgamete patirtimi. Predisponuojančių ir tiesioginių insulto rizikos veiksnių tyrimas yra viena aktualiausių dabartinės medicinos ir biologijos problemų. Taip pat bandyti rasti individualias kiekvieno paciento antitrombocitinio gydymo galimybes, įvertinant individualius trombocitų agregacijos pokyčių ypatumus, antiagregantų (aspirino) rezistencijos gydymui įtaką hiperhomocisteinemijos aplinkoje.

1.5. Praktinė reikšmė

Tirdami Hc ir trombocitų agregacijos įtaką sergantiems išeminiu insultu, nustatėme jų diagnostinę reikšmę, parodėme tyrimų panaudojimo terapines galimybes. Lietuvoje ši patologija labai dažna vyresnio amžiaus ligoniams, neretai baigiasi mirtimi arba sunkiomis komplikacijomis, invalidumu, gyvenimo kokybės pasikeitimu. Nustatėme, kad ligoniui su ūmiu insultu patekus į stacionarą pradinį etapą neatliekami pirminės (trombocitų) hemostazės tyrimai, leidžiantys įvertinti bendrą trombocitų funkciją. Todėl aklai skiriami antiagregantai gali būti perdozuojami arba jų dozė

nepakankama gydomajam rezultatui pasiekti, dėl to gali kilti komplikacijų, apsunkinančių gydymą. Tokių ligonių trombocitų agregacijos ištyrimas yra būtina procedūra, kad skiriant trombocitų funkciją moduliuojančius vaistus būtų įvertinama trombocitų funkcinė būseną ir jos dinamika gydymo eigoje. Turi būti galimybė išsiaiškinti ir terapinį efektyvumą, nes dabar plačiai aprašomas atsparumas arba rezistentiškumas antiagregantams. Žinoma, kad ant trombocito paviršinės membranos eksponuojasi daugybė receptorių, kurie turi būti slopinami pagal jų veikimo pobūdį atskirai. Dažniausiai terapija vykdoma vienu antiagregantu standartinėmis dozėmis, neatsižvelgiant į tai, kad trombocitai gali agreguotis per kitą jų receptorių veikiant kitam agonistui. Todėl modernioji antiagregantinė terapija turi būti grindžiama kombinuotu kelių vaistų poveikiu ir būtina sekti trombocitų atsako stiprumą į specifinius agonistus, kurie atsakingi už to receptoriaus veiksmingumą, o to neįmanoma padaryti be jų agregacijos tyrimo.

Nustačius padidėjusią Hc koncentraciją kraujo serume, būtina skirti nebrangius B₆, B₂, B₁₂ bei folio rūgšties preparatus, kad sumažintume aterosklerozės progresavimą, širdies ir kraujagyslių ligų vystymąsi, trombozių kartojimąsi.

2. LITERATŪROS APŽVALGA

2.1. Galvos smegenų insulto ir praeinančio galvos smegenų išemijos priepuolio apibrėžtys

Pagal naujausią insulto apibrėžimą galvos smegenų insultu vadinamas kraujagyslinės kilmės klinikinis sindromas, pasireiškiantis greitai besivystančiais klinikiniais simptomais ir (arba) židininiais požymiais, galvos smegenų funkcijos sutrikimais, trunkančiais ilgiau nei 24 val. (arba sukeliančiais mirtį). Jis gali trukti trumpiau nei 24 val., jeigu neurovizualiniais metodais patvirtinamas ūminis kliniškai reikšmingas galvos smegenų pažeidimas.

Terminas insultas (*angl. stroke*) – tai „smūgis“, „apopleksijos smūgio“ santrumpa. Šis terminas kilęs iš graikiško žodžio *apoplexia*, kuris reiškia staigų gebėjimo jausti ir judėti praradimą, atsiradusį staiga, netikėtai. Išeminis insultas ištinka dažniausiai ryte, praėjus 1–2 val. po pabudimo [66].

85 proc. insultų atvejų sudaro išeminis insultas, kuris įvyksta dėl galvos smegenų arterijų nepakankamumo. Dėl to kraujas negali patekti į kraujagyslės maitinamą smegenų sritį. Sutrinka šios srities veikla. Hipoperfuzija, sumažėja energijos gamyba, susidaro deguonies radikalai. Visa tai lemia užsikimšusios arterijos baseino smegenų audinio išemiją. Jeigu kraujotaka per keletą valandų neatsistato, išemizuotas smegenų audinys žūva. Tai vadinama smegenų infarktu.

15 proc. insultų atvejų sudaro hemoraginiai insultai, kurie įvyksta plyšus arba trūkus arterijai (ne dėl okliuzijos) ir kraujui išsiliejus į galvos smegenų audinį. Kraujosruvos į galvos smegenų audinį vadinamos intracerebrine kraujosruva, o virš smegenų audinio – subarachnoidine kraujosruva.

Neurovizualinių tyrimų duomenimis praeinantis smegenų išemijos priepuolis (PSIP) – trumpas neurologinės disfunkcijos epizodas, kurį sukelia židininis galvos smegenų kraujotakos sutrikimas arba tinklainės išemija, su klinikiniais simptomais, trunkančiais paprastai trumpiau negu vieną valandą, nesant infarkto požymių [197].

PSIP pasireiškia tais pačiais simptomais kaip ir išeminis insultas, skiriasi tik tuo, kad PSIP simptomai („mikroinsultas“) visiškai išnyksta per 24 val. nuo priepuolio pradžios. Kaip ir išeminis insultas, PSIP prasideda staiga, sutrikus tam tikros kūno dalies funkcijai. Priežastys ir simptomai, sukeliantys PSIP, yra tokie patys kaip ir išeminio insulto. Tačiau skirtingai nuo išeminio insulto, ištikus PSIP, sutrikusios galvos smegenų bei kūno funkcijos visiškai atsistato per 24 val. Kliūtis, trukdžiusi kraujui

pritekėti į tam tikrą galvos smegenų sritį, išnyksta anksčiau nei žūva tos smegenų dalies parenchima (infarktas neišvysta) [88].

Insultai pagal jų priežastis skirstomi į penkias grupes (TOAST klasifikacija):

1. Stambių kraujagyslių insultas.

2. Kardioembolinis insultas.

3. Smulkiųjų kraujagyslių liga.

4. Kita etiologija: arterinė disekacija, fibromuskulinė displazija, maišelinė aneurizma, arterinė-veninė malformacija, cerebrinė veninė trombozė (nustatyta angiografiškai), hematologinės priežastys (policitemija, trombocitemija ir kt.), migrena (migrena anamnezėje ir insultas įvykęs migreninio priepuolio metu) ir kitos retesnės insulto priežastys.

5. Nežinoma etiologija. Nė vienas iš minėtųjų veiksnių nėra insulto priežastis, taigi insulto priežastis nenustatyta; gali būti, kad insulto priežasčių daugiau negu viena (pvz., pacientai su potencialiu kardioembolijos šaltiniu ir stambiųjų ar smulkiųjų kraujagyslių ligos).

2.2. Galvos smegenų kraujotaka ir insulto patogenezė

Arterinis kraujas į galvos smegenis priteka per dvi vidines miego arterijas ir dvi slankstelines arterijas. Jos smegenų pamato srityje susijungia ir sudaro Vizilijaus (Willis) ratą. Esant normaliai fiziologinei žmogaus būsenai, bendrą smegenų kraujotaką sudaro 50 ml/100 g galvos smegenų masės per minutę. Sumažėjus kraujotakai, į galvos smegenis priplūsta per mažai kraujo, taigi patenka mažiau deguonies ir gliukozės, sumažėja energijos (ATP) gamyba. Neuronai pažeidžiami dviem stadijomis. Sumažėjus galvos smegenų kraujotakai iki 20 ml/100 g galvos smegenų masės per minutę ar trumpesnę laiką, sutrinka elektrinio impulso perdavimas neuronuose, tačiau šioje stadijoje jis dar gali atsikurti. Jeigu kraujotaka smegenyse sumažėja iki kritinio lygio – 10 ml/100 g galvos smegenų masės per minutę, neuronų gliutamatiniai receptoriai per daug stimuliuojami (ekscitotoksiškumas), pradeda gamintis laisvieji radikalai, pažeidžia išplinta, sutrinka aerobinis mitochondrinis metabolizmas, įsivyrėja anaerobinis gliukozės metabolizmas, išsivysto laktatinė acidozė [88]. Sutrinka nuo energijos priklausomas jonų transportas per ląstelės membraną, kalis gabenamas iš ląstelės, o natrias, vanduo ir kalcis patenka į ląstelę ir sukelia citotoksinę edemą, be to, kalcis dar

pažeidžia ir mitochondrijas [137]. Jeigu išemija tęsiasi ilgą laiką, įvyksta neuronų apoptozė ir nekrozė. Tada išsivysto įvairaus lygio neuronų pažeidimas.

Išeminis insultas yra įvairių kraujotakos sistemos patologinių būklių (kraujagyslių, širdies, kraujo) išėitis. Išeminis insultas turi tendenciją kartotis. Pasikartojantys išeminiai insultai sudaro 20–25 proc. bendro insultų skaičiaus. Viena iš prioritetinių besivystančių tyrinėjimų kryptį insulto patogenezėje yra hemoreologijos ir hemostazės sritys bei naujų rizikos veiksnių paieška bei jų prevencija.

2.3. Homocisteinas, bendras apibūdinimas ir istorija

Homocisteinas (Hc) – sieros turinti aminorūgštis, susidaranti iš metionino. Hiperhomocisteinemija (hHc) – homocisteino koncentracijos padidėjimas kraujo serume. hHc siejama su kraujagyslių ligų atsiradimu ir progresavimu, aterosklerozės proceso skatinimu bei krešėjimo sistemos aktyvinimu.

Nepaisant to, kad Hc svarbus organizmo metaboliniuose procesuose, jo perteklius, sutrikus reguliavimo mechanizmams, sukelia pavojingas patologines būsenas. Epidemiologinėse studijose nustatyta, kad esant hHc sparčiau vystosi aterosklerozinės plokštelės nestabilumas, virstantis koronaro okliuzija ar daline tromboze, didėja šios grupės ligonių mirtingumas. Homocisteino koncentracijos padidėjimas siejamas su neuropsichiniais susirgimais, nėštumo komplikacijomis, nervinio vamzdelio defektais, pažintinių funkcijų sutrikimu, padažnėjusiomis širdies ir kraujagyslių ligomis. Bendrojo homocisteino (bHc) koncentracija plazmoje yra pripažinta savarankišku išeminės širdies ligos rizikos veiksniu, o jo susikaupimas kraujagyslės sienelėje – ankstyvuoju aterosklerozinio proceso žymeniu. hHc metabolinė priežastis – B grupės vitaminų ir folio rūgšties stoka gali būti sėkmingai sumažinama, padidinus šių komponentų kiekį maiste.

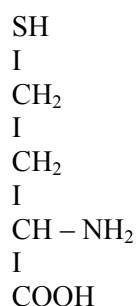
Per 80 klinikinių studijų tyrimų rezultatai rodo, kad Hc yra reikšmingas, nepriklausomas ir lengvai modifikuojamas rizikos veiksnys, turintis įtakos aterosklerozės išsivystymui ir progresavimui širdies, galvos smegenų ir periferinėse kraujagyslėse.

Pirmieji Hc aprašė L. W. Butz ir V. Vigneaud 1931 metais. Tai buvo didelės svarbos tyrinėjimo pradžia [74]. V. Vigneaud tyrė organinius sieros junginius ir jų metabolizmą, tarp jų – baltymus bei peptidus, pavyzdžiui, tokius kaip insulinas ir

hipofizės hormonas, oksitocinas ir vazopresinas. Šiam mokslininkui 1955 metais buvo suteikta Nobelio premija.

Padidėjęs Hc kiekis buvo susietas su kraujagyslių susirgimais ir pirmą kartą aprašyta vaikų klasikinė homocisteinurija. Šį susirgimą nepriklausomai aprašė T. Gerritsen ir kolegos (JAV), N. A. Carson su bendraautoriais (Šiaurės Airija) 1962 metais [39, 83]. Kiek vėliau buvo identifikuotas pagrindinis genetinis defektas cistationino β -sintazė (CBS), sukelianti homocistinuriją ir gerokai padidinti bHc kiekį kraujo serume. Pacientai, kenčiantys dėl šio genetinio defekto, turėjo ankstyvą aterosklerozę ir dažnas tromboembolines komplikacijas. Daugiau nei 50 proc. šių pacientų turėjo pasikartojančius širdies kraujagyslių susirgimus ir apie 25 proc. mirė, nesulaukę 30 metų [84, 204]. Daugiau kaip prieš 20 metų buvo rasta sąsaja tarp padidėjusios Hc koncentracijos ir ankstyvosios aterosklerozės požymių. 1969 metais K. S. McCully [162] aprašė mirusių nuo homocistinurijos vaikų ankstyvus aterosklerozės požymius, įskaitant lygiųjų raumenų proliferaciją, progresuojančią arterijų stenozę ir hemostazės pakitimus. Vėliau ši hipotezė buvo patvirtinta epidemiologiniais ir klinikiniais tyrimais. Įrodyta, kad net nedidelis ar vidutinis Hc kiekio padidėjimas smarkiai atsiliepia aterosklerozės progresavimui. 1976 m. D. E. Wilcken įrodė, kad padidėjęs Hc kiekis kraujo serume susijęs su metionino kiekiu, gaunamu su maistu [265].

Metioninas – nepakeičiama aminorūgštis, gaunama su maistu, o homocisteinas – sieros turinti aminorūgštis, susidaranti iš metionino, yra tarpinis aminorūgščių metionino ir cisteino apykaitos produktas. Homocisteino struktūra pavaizduota 1 paveiksle.



1 pav. Homocisteino struktūrinė formulė.

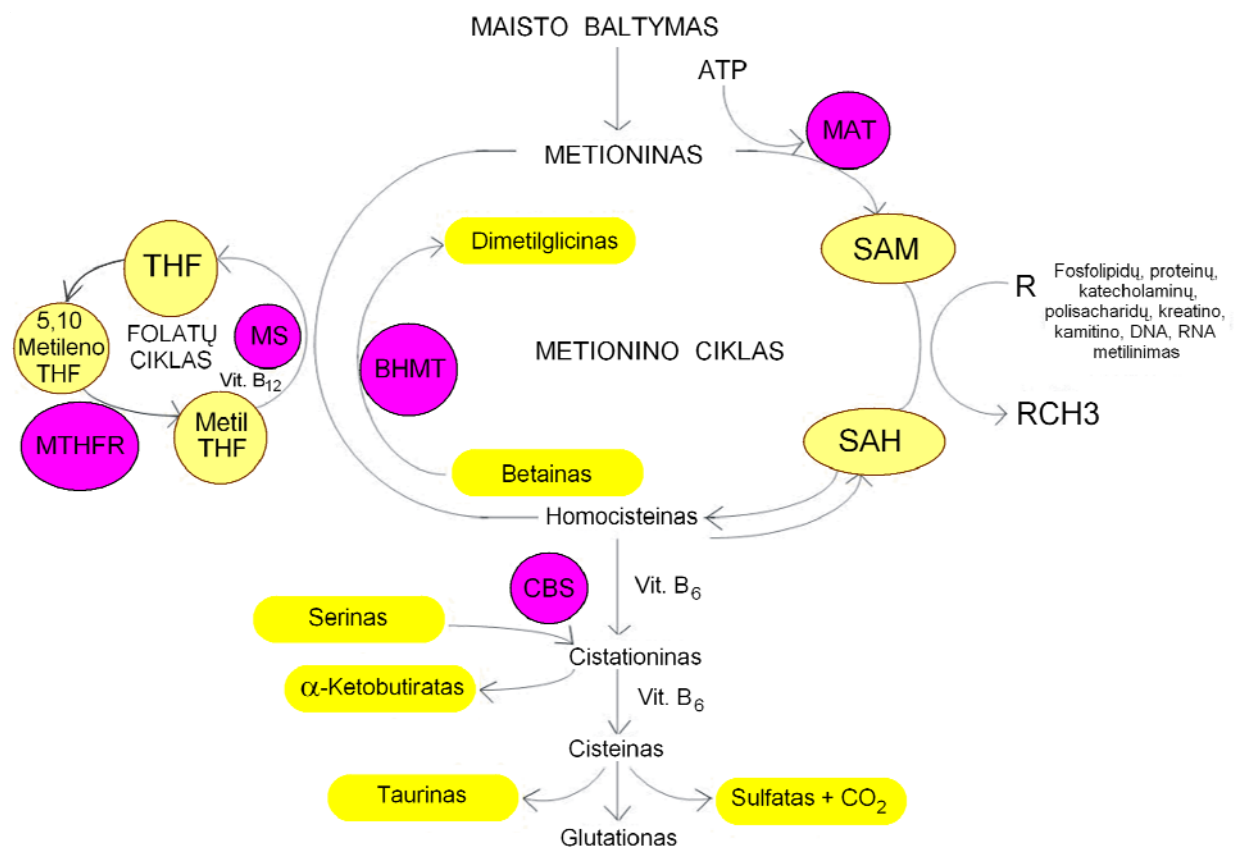
Hc susidaro vykstant metionino demetilinimui. Metioninas yra vienintelis homocisteino šaltinis organizme. Pastaraisiais metais pastebėta, kad yra ryšys tarp trombozės, metionino ir jo metabolito homocisteino apykaitos sutrikimų.

2.4. Homocisteino apykaita žmogaus organizme

Hc, metioninas ir cisteinas – sierą turinčios aminorūgštys, todėl jų metaboliniai keliai yra tarpusavyje susiję. Fiziologinėmis sąlygomis Hc pasigamina ląstelėje, o po to patenka į kraują. Hc metabolizmui labai svarbūs B grupės vitaminai (B_{12} , B_6 ir B_2), folatai.

Homocisteino metabolizmas vyksta dviem keliais: remetilavimo (pernešus metilo grupę susidaro metioninas), pernešus sieros atomą (iš Hc susidaro cisteinas) (2 pav.).

Metioninas, gautas su maistu, metionino cikle verčiamas S-adenozilmetioninu (SAM). Šiai reakcijai tarpininkauja metionino adenoziltransferazė (MAT) ir adenozino trifosfatas (ATP). SAM yra pagrindinis biologinis metilo grupės donoras centrinei nervų sistemai. Šis produktas dalyvauja per 100 įvairių metilinimo reakcijų.



2 pav. Homocisteino metabolizmo schema.

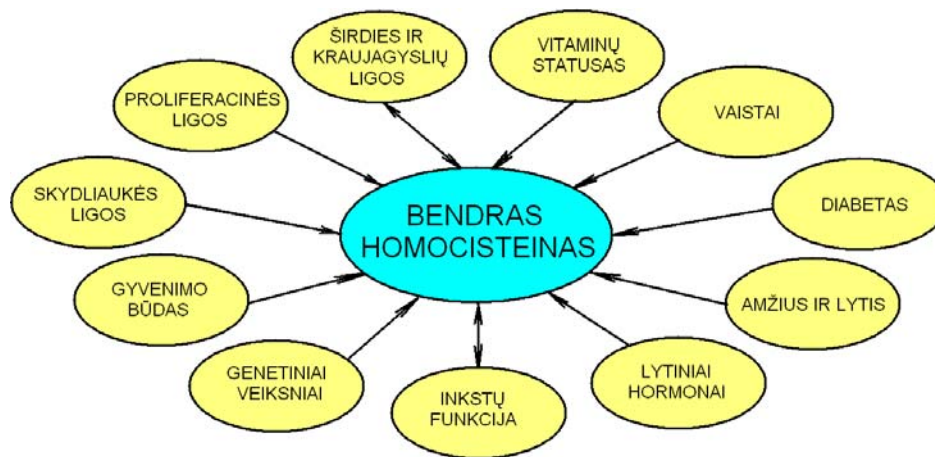
BHMT – betaino homocisteino metiltransferazė, CBS – cistationino β-sintazė, MAT – metionino adenoziltransferazė, MS – metionino sintazė, MTHFR – 5,10-metilentetrahidrofolato reduktazė, SAH – S-adenozil- homocisteinas, SAM – S-adenozilmetioninas, MTHF – metiltetrahidrofolatas, 5,10 MTHF – 5,10 metilentetrahidrofolatas, THF – tetrahidrofolatas.

Metionino cikle vykstančios reakcijos dalyvauja daugelyje metabolinių grandžių: katecholaminų apykaitoje, acetilcholino, nukleotidų bei nukleinių rūgščių sintezėje, rekonstrukcijoje ląstelės membranos baltymų, tarp kurių yra fermentų, slopinančių lipidų peroksidaciją ir stabdančių aterosklerozės procesą. Peroksidacija sumažina lipidų hidrofobiškumą, juos konformuoja, sudaro kovalentines jungtis tarp lipidų molekulių arba baltymų ir lipidų. Metilinimo reakcijos produktas yra S-adenozilhomocisteinas (SAH), kuris hidrolizuojamas į homocisteiną (grįžtama reakcija). Jei metionino kiekis sumažėja ir susidaro maža SAM koncentracija, Hc gali būti remetilinamas. Remetilinimo reakcijos žmogaus organizme vyksta ląstelėse. Jų metu Hc remetilinamas iki metionino, dalyvaujant 5-metiltetrahidrofolatui. Šią reakciją katalizuoja metioninsintazė (MS), kuriai būtinas vitaminas B₁₂. Vėliau susidaro 5,10-metilentetrahidrofolatas, dalyvaujant metilentetrahidrofolato reduktazei (MTHFR). Kai kuriuose organuose (kepenys, inkstai) gali vykti Hc remetilinimas, dalyvaujant betainui (reakciją katalizuoja betaino homocisteino – metiltransferazė – BHMT). Jeigu SAM koncentracija yra didelė, tada Hc sieros atomas panaudojamas cisteino sintezei. Šią reakciją katalizuoja fermentas cistationin-β-sintazė (CBS), priklausoma nuo vitamino B₆.

Kraujo plazmoje homocisteinas cirkuliuoja keliomis formomis: redukuota (homocisteinas 1 proc.) ir oksiduota (homocistinas 5–10 proc.). Mišriems homocisteino disulfidams priklauso su baltymais sujungtas homocisteinas (80–90 proc.) ir homocisteinas-cisteinas (5–10 proc.). Visi kartu sudaro bendrąjį homocisteino (bHc) kiekį [244]. Normali bHc koncentracija žmogaus kraujo serume yra 5–10 μmol/l [235].

2.5. Veiksniai, fiziologinės būklės turinčios įtakos hiperhomocisteinemijos atsiradimui

hHc gali būti kaip savarankiška patologinės būsenos pradžia ir kaip išsivysčiusios patologijos padarinys. Plazmos Hc kiekis gali padidėti dėl audinių pažeidimo. Po šių pažeidimų paspartėja specifinės metilinimo reakcijos, generuojamas S-adenozilhomocisteinas (SAH) ir išlaisvinamas Hc. Bendras Hc kiekis gali padidėti, kai dėl aterosklerozės išsivysto nefrosklerozė ir susilpnėja inkstų funkcija. Hc kiekį padidina paveldėtas ląstelių fermentinės sistemos trūkumas, taip pat vidaus organų susirgimai, kai kurios bendros organizmo būklės arba ilgalaikis įvairių medikamentų poveikis. Homocisteinemijai atsirasti turi reikšmės įvairios fiziologinės būsenos, kurios pavaizduotos 3 paveiksle.



3 pav. Veiksniai, turintys įtakos bHc kiekio padidėjimui.

Nepaisant kontraversiškų Hc padidėjimo priežasčių, įrodyta, kad jis yra daugelio ligų nepriklausomas rizikos veiksnys. Centrinės nervų sistemos (CNS) ir kraujagyslių susirgimai asocijuojasi su nežymiu ir ženkliu Hc kiekio padidėjimu nuo 15-100 $\mu\text{mol/l}$.

2.6. Genetiniai veiksniai

Yra žinomi pagrindinių fermentų genetiniai defektai, kurie gali sukelti hHc. Homozigotiniai ligoniai turi genetinį sutrikimą – cistationin- β -sintazės trūkumą, kuris sukelia didelį hHc kraujo serume ir šlapime [14].

P. J. Kelly su bendraautorais rado, kad 50 proc. pacientų iki 30 metų su homocisteinuria turėjo tromboembolinių komplikacijų [51, 125]. Tokiems ligoniams vystėsi ir regos sutrikimai (lęšiukų drumstumas, glaukoma ir kt.), osteoporozė, skeleto deformacija, gana dažnai ir protinis atsilikimas [150, 255]. Būtina paminėti vieną įgimtų hHc priežasčių – fermento 5,10-metilentetrahidrofolato reduktazės geno C677T polimorfizmą [196]. Homozigotams, trūkstant šio fermento, sutrinka Hc pavertimas metioninu, nes pakitimas fragmente Val-Ala lemia mažą fermento aktyvumą. Jis gali sukelti vidutinę ir ryškią hHc nuo 15 iki 100 $\mu\text{mol/l}$. S.S.Kang ir bendraautorai aprašė MTHFR termolabilią mutaciją, kurią lemia taškinė mutacija C677T [45, 126]. Tarp Amerikos gyventojų ši mutacija pasitaiko nuo 15 iki 25 proc. Homozigotai, esant MTHFR fermento trūkumui, turi apytikriai 25 proc. didesnę Hc kiekį bei folatų deficitą.

Amžius, kreatinino kiekis ir MTHFR C677TT polimorfizmas yra pagrindiniai Hc determinantai [178]. Šio fermento deficitas sukelia žmonėms neurologinius, psichomotorinius sutrikimus, priepuolius, periferines neuropatijas, ankstyvus kraujagyslių

susirgimus bei tromboembolijas. Suaugusių žmonių studijose ištirta, kad genetinės mutacijos C677TT MTHFR, protrombino 20210A ir plazminogeno aktyvatoriaus inhibitoriaus-1 (PAI-1) 4G/4G geno polimorfizmas asocijuojasi su padidėjusia Hc koncentracija, protrombino ir PAI-1, atitinkamai ir su padidėjusia trombozės rizika. Jauname amžiuje, turintiems 4G alelį, būdinga giliųjų venų trombozė ir miokardo infarktas [248, 265]. B.C.Tanis ir kolegos įvertino ryšį tarp hHc, mažo folatų kiekio, MTHFR C677TT mutacijos ir miokardo infarkto rizikos bei tyrė, kokią poveikį peroralinių kontraceptikų vartojimas turi Hc koncentracijai 18–49 metų moterų grupėje [89, 225, 256]. Pacientams su tokiu genotipu Hc kiekis buvo didesnis apie 2 kartus (97,5 percentilė pagal Hc kiekį). Miokardo infarkto dažnis padidėjo 2,8 karto. Tačiau vartojančių ir nevartojančių peroralinius kontraceptikus Hc kiekis visiškai nesiskyrė [226].

Kitas svarbus genetinis defektas, sukeliantis hHc – metionino sintazės trūkumas. Vitamino B₁₂ metabolizmo sutrikimai, kurie slopina metionino sintazės aktyvumą sukelia hHc, nes Hc neeliminuojamas iš ląstelės [180, 113]. Prie paveldimų hHc priežasčių priskiriama ir kobalamino transporto defektas, kobalamino reduktazės, cistationinazės ir metiltransferazės trūkumai [71].

2.7. Mitybos, amžiaus ir gyvenimo būdo įtaka

Mitybos palyginamosios studijos buvo atliktos tarp sergančiųjų kraujagyslių ligomis ir sveikų žmonių. Rasta, kad esant sumažintam vitamino B₁₂ ir folinės rūgšties kiekiui, bHc koncentracija kraujo serume buvo gerokai padidinta [34]. Dėl vitamino B₁₂ stokos gali sutrikti protinė veikla. Sulaukus vidutinio amžiaus, organizmas vis sunkiau pasisavina šį normaliam smegenų darbui labai reikalingą vitaminą, kol galiausiai jo atsargos visai išsekvojamos. Ištirta, kad sutrikęs B₁₂ vitamino pasisavinimas būdingas 24 proc. 60–69 metų, 32 proc. 70–79 metų ir beveik 40 proc. vyresniems nei 80 metų žmonių [38]. Pagrindinė priežastis, dėl kurios sutrinka vitamino B₁₂ pasisavinimas, yra atrofines gastritas. Žmogui senstant, jo skrandžio gleivinė vis mažiau išskiria druskos rūgšties, pepsino ir įgimto faktoriaus – baltymo, būtino vitaminui B₁₂ absorbuoti iš maisto. Šio vitamino nepakankamumas vystosi labai lėtai daugelį metų ir žmogus to nejaučia [38].

Vitamino B₆ kiekio sumažėjimo ir padidėjusios bHc koncentracijos ryšys mažiau aiškus. Matyt, esant kraujagyslių susirgimams, turi įtakos ir kiti rizikos veiksniai.

Pagrindiniai gyvenimo būdo veiksniai – fizinis aktyvumas, alkoholio ir kavos vartojimas, rūkymas – turi įtakos bHc koncentracijai. Nustatyta pozityvi koreliacija tarp Hc kiekio ir kavos vartojimo tarp vyrų, neatsižvelgiant į kavos paruošimo būdą (filtruota ar nefiltruota).

A. F. Subar ir kt. tyrinėjo maisto ir mitybos skirtumus tarp rūkančių ir nerūkančių asmenų. Jie nustatė, kad rūkantys vartoja mažiau vitaminų, vaisių, daržovių ir maisto papildų. Rūkymas asocijuojasi su padidėjusiu Hc kiekiu [160, 194, 180]. Rūkantieji turi kur kas mažiau vitamino B₆ [34, 222]. Aktyvi šio vitamino forma (piridoksalo fosfatas) yra kofaktorius reakcijai vykti, kurios metu Hc sieros atomas panaudojamas cisteino sintezei. P.O'Callaghan ir bendra autoriai išaiškino, kad rūkančiųjų, kurių bHc kiekis kraujyje buvo 12 μmol/l, rizika susirgti širdies kraujagyslių ligomis yra 12 kartų didesnė [176].

Grupė autorių tyrė, kokią reikšmę bHc koncentracijai turi gyvenimo būdo veiksniai: vartojimas daug kavos, alkoholis, fizinis aktyvumas ir rūkymas. Nustatyta, kad nepriklausomai nuo kitų gyvenimo būdo veiksnių, amžiaus, folatų ir B grupės vitaminų vartojimo, vien pakeitus gyvenimo stilių, bHc kiekį galima sumažinti nuo 0,1 iki 1,7 μmol/l [55]. Ištyrus folatų kiekį ir MTHFR C677T geno polimorfizmą, rasta, kad gerokai didesnė rizika rūkančiųjų grupėje [236]. Japonų mokslininkai nagrinėjo minėtojo geno asociaciją su kraujospūdžiu ir miego arterijos ateroskleroze. Diastolinis kraujospaudimas buvo kur kas didesnis moterų, kurios turėjo TT genotipą. Moterų, kurios rūkė ir turėjo TT genotipą, kraujagyslių intimos-medijos storis buvo didesnis ir miego arterijos stenozė >50 proc., palyginti su rūkančiųjų, bet turinčių CC genotipą. Galima daryti išvadą, kad MTHFR TT genotipas yra rizikos veiksnys rūkančioms moterims hipertenzijai ir miego arterijos stenozei atsirasti [111, 114].

Padidėjusi Hc koncentracija rūkančius vyrus atveda prie insulto. Be įprastinių širdies kraujagyslių susirgimų rizikos veiksnių, rūkymas turi ryšį su padidėjusiu kiekiu C reaktyvaus baltymo, fibrinogeno ir Hc. Remiantis šiais tyrimais, galima teigti, kad uždegimas ir hHc gali prisidėti prie aterosklerozės susirgimų išsivystymo [20, 188, 234]. Folio rūgšties vartojimas neturi didesnio efekto uždegimo žymenims, tačiau rastas fibrinogeno ir D-dimero koncentracijų sumažėjimas sveikų chroniškai rūkančių asmenų kraujyje. Folio rūgštis turi ne tik Hc mažinančių, bet ir antitrombotinių savybių. H.L.O'Grady tyrė sveikų, bet rūkančių asmenų endotelio disfunkciją. Po 4 savaičių vartojant 5 mg/d. folio rūgšties endotelio funkcija pagerėjo, o aterosklerozinis procesas šioje grupėje sumažėjo [154, 177].

R. D. Feigin, A. S. Klainer ir W. R. Beisel pirmieji mokslininkai, tyrinėję, kaip svyruoja bendras aminorūgščių kiekis sveikų žmonių kraujyje per dieną [70]. Šių tyrimų metu nustatyta, kad dienos darbo ir poilsio ritmas turi reikšmės vitamino B₁₂ ir Hc koncentracijų svyravimams. Padidėjusi B₁₂ vitamino koncentracija 24 val. nakties Hc kiekį sumažina, o dieną – padidina. Šie duomenys paskatino tirti, kaip reguliuojamas Hc eksportas pačioje ląstelėje. Manoma, kad svarbu palaikyti mažesnę viduląstelinę Hc koncentraciją tam, kad išvengtume Hc citotoksinio efekto, todėl dalis Hc eksportuojama į kraujo plazmą [135]. Dirbant pamaininį darbą, pasikeičia žmonių maitinimosi ir miego tvarkaraščiai, jie gali paskatinti fiziologinį Hc koncentracijos padidėjimą naktį. Todėl sparčiai susilpnėja koronarinių ir centrinių arterijų elastingumas ir mikrocirkuliacija [173, 228]. P. J. Martins ir kt. nustatė, kad tolimųjų reisų vairuotojai, dirbantys pamainomis, turi didesnę Hc koncentraciją nei dirbantys tą patį darbą dieną [157]. Taip pat žmonės, dirbantys pamainomis ir besiskundžiantys miego sutrikimu, vartojantys daugiau kavos, turi didesnę Hc koncentraciją kraujo serume nei dirbantys tik dieną [182, 238]. Darbas pamainomis gali būti viena iš kardiovaskulinių susirgimų priežasčių išsivystymo [27, 128].

2.8. Susirgimai, kurie sutrikdo homocisteino apykaitą

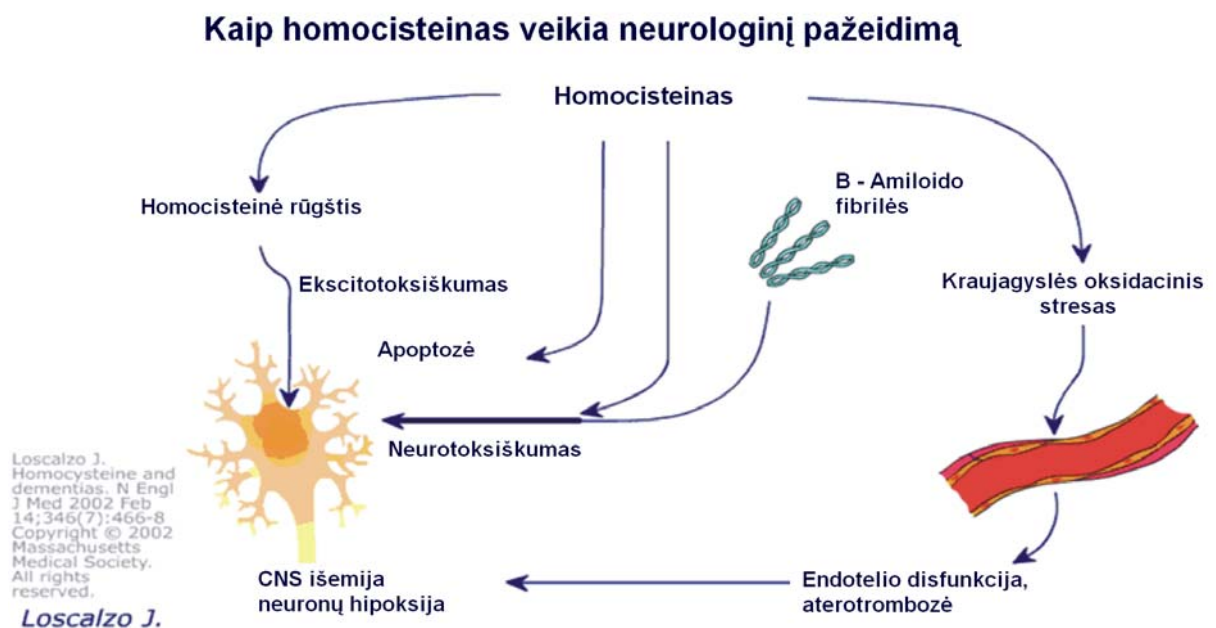
Esant inkstų nepakankamumui, Hc koncentracija kraujo serume padidėja, o kai kartu yra ir padidėjusi kreatinino koncentracija, bHc koncentracija padidėja net keturis kartus [262]. Inkstų funkcija labai svarbi pašalinant Hc ir kreatiną. Kreatininas rodo glomerulinės filtracijos greitį, kuris priklauso nuo funkcionuojančių glomerulų kiekio. Daugiausia Hc katabolizuojama inkstuose ir tik apie 1 proc. (nesujungto su baltymais) filtruojama inkstų glomeruluose. Nedidelis kiekis gali būti randamas šlapime (per inkstus homocisteino pavidalu išsiskiria apie 0,1 proc. viso per parą organizme pagaminto Hc kiekio). Kita jo dalis reabsorbuojama ir metabolizuojama [254]. Bendro Hc kiekio padidėjimas rodo sutrikusią inkstų metabolinę funkciją labiau negu ekskrecinę. Gerai žinoma, kad Hc koncentracija atvirkščiai proporcinga glomerulų filtracijos greičiui (GFG) ir hHc dažnai būna esant lėtiniam inkstų nepakankamumui [50]. Jei GFG ir laisvo Hc kiekis nepakitę, per dieną inkstai filtruoja apie 0,5 μmol Hc, kuris tuoj pat reabsorbuojamas inkstų kanalėliuose ir tik nedidelė jo dalis išskiriama su šlapimu [50]. Manoma, kad inkstai ne tik filtruoja, reabsorbuoja, bet ir metabolizuoja Hc. Esant inkstų nepakankamumui, Hc gali kauptis kraujyje [268]. Nustatytas hHc ir hipotirodizmo ryšys, kuris turi reikšmės kraujagyslių ligoms atsirasti [109, 179].

A. E. Lien ir bendraautoriai nustatė, kad esant hipotiroidizmui, padidinta bHc ir cholesterolio koncentracija kraujo serume gali padidinti riziką susirgti širdies kraujagyslių ligomis [142]. M. Christ-Crain ir bendraautoriai ištyrė, kad bHc ir C-reaktyvusis baltymas (CRB) gali būti papildomi širdies kraujagyslių rizikos veiksniai [44]. Koreliacija tarp bHc ir plazmos von Willebrando faktoriaus (vWF) įrodo kraujagyslių endotelio pažeidimą [112].

Mažas vitamino B₆ kiekis ir padidinta bHc koncentracija kraujo serume yra nepriklausomi rizikos veiksniai, kurie asocijuojasi su giliųjų venų tromboze [41].

Homocisteino metabolizmo, priklausančio nuo trijų fermentų ir vitaminų, dažniausiai pasitaikantys genetiniai sutrikimai ir vitaminų stoka sukelia hHc, kuri siejama su nepalankia nėštumo baigtimi, t. y. gali sukelti spontanišką ankstyvą ir savaiminį abortą, traukulių priepolius, placentos vaskulopatiją, vaisiaus defektus. Nervinio vamzdelio defektai, ir širdies netaisyklingas išsivystymas, lūpos ir gomurio įplyšimas, visi jie asocijuojasi su padidintu Hc kiekiu nėštumo metu, palyginti su kontroline grupe [245, 246, 252]. Hc kiekis atsistato į normalų lygį, praėjus dviem savaitėms po gimdymo [9, 13, 257].

Daugelyje studijų vyresnio amžiaus žmonėms patvirtinta sąsaja tarp padidėjusio Hc kiekio kraujo serume, vitamino B₁₂, folatų ir kognityvinių įgūdžių, demencijos, depresijos, Alzheimerio ligos ir kitų neuropsichiatrinų sutrikimų [205, 146, 136] (4 pav.).



4 pav. Homocisteino įtaka neurologiniam pažeidimui.

Jeigu bHc koncentracija didesnė kaip 14 $\mu\text{mol/l}$, rizika susirgti Alzheimerio liga padvigubėja [30, 103, 208]. Rizika susirgti demencija nuo 65 metų dvigubėja kas penkeri metai. Ryšys tarp padidinto bHc kiekio ir kognityvinių sutrikimų gali būti svarbus patofiziologiniame demencijos išsivystymo procese. Pastaruoju metu išanalizavus su amžiumi susijusias patologines būkles bei jų klinikinius ir epidemiologinius tyrimus, nustatyta, kad Hc gali būti toji metabolinė grandis, kuri jungia daugiaveiksnių geriatrinių ligų patogenezės procesus. Netiesiogiai Hc gali veikti Alzheimerio ligą, sukelti kraujagyslių pakenkimus, mirtį ir žūtį nervinių ląstelių smegenų žievėje. Kitas požymis yra amiloido telkiniai, vadinamosios senatvinės plokštelės. Trūkumas folatų ir vitamino B₁₂ kartu su padidėjusiu bHc kiekiu asocijuojasi su Alzheimerio ligos dažniu ir progresavimu.

Apie 50–70 proc. visų demencijų rūšių sudaro Alzheimerio liga, o 15–30 proc. – kraujagyslinės demencijos [118].

hHc gali turėti keletą neurotoksinių mechanizmų, trikdančių pažinimo funkcijas. Hc ir jo metabolitai pasižymi citotoksiniu poveikiu: Hc apykaitos produktai – sulfohomocisteinas ir sulfocisteinas veikia kaip endogeniniai glutamaterginių N-metil-D-aspartato (NMDA) receptorių agonistai. Šis poveikis yra daug stipresnis nei glutamato. Padidėja viduląstelinio kalcio koncentracija, suaktyvinami proapoptoziniai baltymai ir ląstelė žūva. Hc skatina aterogenezę, moduliudamas Cu toksiškumą ir taip sukeldamas oksidacinį stresą. Tokia vario ir Hc sąveika smegenyse gali skatinti neurotoksiškumą ir neuronų degeneraciją [214]. Tai taip pat gali skatinti neuronų žūtį arba neurofibrilių patologinį procesą [171]. Tokiu būdu hHc gali sukelti neurodegeneraciją, o pastaroji skatinti demenciją. Vartojant B grupės vitaminų terapiją, sumažinamas Hc kiekis ir sustabdomas demencijos bei aterosklerozės progresavimas [31].

Demencijos atveju hHc gali būti ne tik rizikos veiksnys, bet ir patologinio neurodegeneracinio proceso padarinys. Kai Hc koncentracija yra normali arba padidėjusi, ji neutralizuojama kompensaciniais mechanizmais ir žalojančio poveikio nesukelia. Tačiau žmogui senstant ar dėl kokio nors fermento įgimto defekto ši kompensacija silpnėja. Atsiradusi hHc sukelia patologinius procesus smegenyse ir demencija dar labiau progresuoja [138].

Depresija asocijuojasi su padidintu širdies kraujagyslių sergamumu ir mirtingumu nuo miokardo infarkto bei išeminės širdies ligos. Yra veiksnių, turinčių reikšmės depresijos išsivystymui: omega-3 riebalų rūgščių stoka ir padidintas bHc kiekis kraujyje [209]. Šiuos pakitimus galima sušvelninti vartojant vitaminus.

Nemažai duomenų sukaupia tiriant bHc kiekį kraujo serume ir gliukozės metabolizmą. Atlikti tyrimai rodo, kad bHc kiekis yra svarbus rizikos veiksnys ne tik nutukusiems pacientams, kurie priklauso aukštos rizikos grupei, bet ir tiems, kurie serga 2-ojo tipo diabetu [67, 105, 250]. A. Becker ir bendraautoriai nustatė, kad bHc kiekis labai siejasi su kardiologinių įvykių atvejais sergant 2-ojo tipo diabetu, nepriklausomai nuo kitų tradicinių širdies kraujagyslių rizikos veiksnių. Padidėjus bHc kiekiui 5 $\mu\text{mol/l}$, širdies susirgimų rizika padidėja 28 proc. [3, 21, 211]. Padidėjęs Hc kiekis serume, turi įtakos mirčiai, nesant koronarų trombozės, ypač jei sergama diabetu, nors aterosklerotinėse plokštelėse lipidų kiekis nėra didelis [37]. Hiperglikemija sukelia deguonies radikalų stresą, bet taip pat susilpnina endotelio azoto oksido sintezę. Naudojant folatus, galima pagerinti NO būseną ir atstatyti endotelio funkciją pacientams, sergantiems 2-ojo tipo diabetu [247]. Padidintas bHc kiekis šių ligonių grupėje siejasi su makroangiopatija, nefropatija, hipertenzija, širdies kraujagyslių ligomis bei sunkiais periferinių arterijų susirgimais [36, 47]. Nustatyta, kad esant Hc koncentracijai $> 14,0 \mu\text{mol/l}$ sergančiųjų 2-ojo tipo cukriniu diabetu išgyvenamumas yra trumpesnis nei esant Hc koncentracijai $< 14,0 \mu\text{mol/l}$.

Nemažai dėmesio skirta sergančiųjų 1-ojo tipo diabetu bHc tyrimams. E. Mattencchi ir kiti nustatė, kad Hc kiekis šių ligonių kraujyje yra normalus [159], nes sergantiesiems šio tipo diabetu nebūdingas inkstų funkcijos pablogėjimas, o hiperfiltracija sumažina Hc koncentraciją. Jaunų asmenų (11–18 metų), sergančių 1-ojo tipo diabetu, bHc nebuvo padidintas [186, 200]. Tačiau pacientų, kurie sirgo 1-ojo tipo diabetu ir stipriai rūkė, bHc kiekis buvo gerokai padidėjęs [227].

Sergančiųjų sisteminė raudonąja vilklige sumažėja kobalamino absorbcija ir susilpnėja inkstų funkcija [73], ko pasekoje padidėja bHc kiekis kraujo serume. Padidintą Hc koncentraciją gali turėti psoriaze sergantys ligoniai, kuriems būdinga padidėjusi odos ląstelių proliferacija, padidėjęs lipidų kiekis, padidinta DTL (didelio tankio lipoproteinų) oksidacija. Visa tai paskatina sergančiųjų psoriaze aterotrombozės vystymąsi [25, 122, 267].

M. Davidson ir bendradarbiai epidemiologinių studijų metu rado, kad dėl *Chlamydios pneumoniae* IgG titro padidėjimo sergančiųjų širdies kraujagyslių ligomis plazmos Hc koncentracija padidėja [54, 141, 218, 263]. *Chlamydia pneumoniae*, plaučių uždegimo, faringito, sinusito sukėlėja, gali infekuoti ir vainikinių arterijų aterosklerotines plokšteles. Ši infekcija gali pažeisti arterijų sienelės tiesiogiai ir netiesiogiai, sukeldama autoimunines reakcijas [91].

Subrendusių vyrų Hc koncentracija vidutiniškai 1–2 $\mu\text{mol/l}$ didesnė nei moterų. Tai galima paaiškinti didesne raumenų mase ir hormoniniais skirtumais. Su amžiumi Hc koncentracija abiejose grupėse didėja tolygiai. Moterims menopauzės metu būdingas padidintas bHc kraujo serume. Tam turi reikšmės sumažėjęs estrogenų kiekis [22, 80]. Po menopauzės koncentracijų skirtumai tarp vyrų ir moterų yra nežymūs.

2.9. Vaistų įtaka homocisteino metabolizmui

Ilgalaikis metotreksato vartojimas sutrikdo folio rūgšties įsisavinimą, tai sukelia sunkią hHc. [268]. Šios rūgšties metabolizmą neigiamai veikia kai kurie antiepileptiniai preparatai, tricikliniai antidepresantai, fenotiazinai, peroraliniai kontraceptikai [268]. Tokie preparatai kaip fenitoinas, teofilinas, L-dopa, cholestiraminas, niacinas sutrikdo vitamino B₆ metabolizmą, todėl išsivysto hHc. Medikamentai gali keisti metabolizmą ir sukelti plazmos bHc kiekio pakitimus.

Fibratai dažnai naudojami sergantiesiems širdies kraujagyslių ligomis gydyti. Fibro rūgšties dariniai (fibratai) vartojami dislipidemijai gydyti, o metforminas – sergant 2-ojo tipo diabetui. Fibratai veikia lipoproteinų sintezę – padidina „gerojo“ ir pamažina „blogojo“ cholesterolio kiekį. Taip pat fibratai gali padidinti bHc kiekį. Hc kiekio pasikeitimo mechanizmas yra skirtingas. Cholestiraminas, metforminas, metotreksatas, nikotino rūgštis trukdo vitaminų absorbcijai žarnyne. Lipidų kiekį mažinantys vaistai ne tik mažina jų kiekį, bet turi ir kitą efektą, t. y. sumažina fibrinogeno kiekį ir gerina endotelio funkciją. Paradoksalu, bet po šio gydymo gali padidėti rizika susirgti širdies kraujagyslių ligomis. Dėl šio gydymo padidėja bHc kiekis [56, 60, 61]. Fenofibratų monoterapija mažina lipidus ir padidina bHc koncentraciją nuo 10,0 iki 14,2 $\mu\text{mol/l}$. Folatų vartojimas sumažina Hc kiekį iki 10,6 $\mu\text{mol/l}$. [100, 164]. Fenofibratai gali nuosaikiai ir grįžtamai padidinti kreatinino kiekį serume, dėl to sumažėja funkcinė glomerulų filtracija. Tą galima paaiškinti, kodėl padidėja Hc kiekis, vartojant lipidų koncentraciją mažinančius vaistus.

Cholestiraminas Hc kiekį plazmoje didina lėtai, mažindamas kobalamino absorbciją [58]. Nikotino rūgštis ir jos preparatai – rezerviniai vaistai sumažina LMTL gamybą kepenyse. Dėl šios priežasties sumažėja ir MTL kiekis, kurie yra labai aterogeniški. Padidėja DTL kiekis. Didelės nikotininės rūgšties dozės, naudojamos lipidų kiekiui mažinti, gali pakeisti metionino metabolizmą ir padidinti hHc. Ši rūgštis

slopina piridoksalo kinazę, sumažindama piridoksino kiekį, kuris yra svarbus kofaktorius CBS, ir katabolizuoja Hc į cistationiną [17].

Gydant metforminu sergančiuosius 2-ojo tipo diabetu, padidėja jos sunaudojimas periferijoje, sumažėja ir stabilizuojasi plazmos lipidų kiekis, gali pagerėti kraujo spaudimas bei sustiprėti fibrinolizė. [169]. Antraip, metforminas gali padidinti bHc kiekį kraujo serume. Yra žinomi du skirtingi mechanizmai, kurių metu metforminas padidina bHc kiekį. Šis vaistas sumažina vitamino B₁₂ kiekį kraujo serume, sumažėjus žarnų bakterinei florai. Sumažėjimas Kastlio vidinio faktoriaus sekrecijos yra svarbus. Metforminas gali surišti ir laisvą kalcį, kuris yra reikalingas vitamino B₁₂ – vidinio faktoriaus komplekso susidarymui klubinėje žarnoje. W. A. Bauman ir kiti nustatė, kad papildomas kalcio vartojimas susilpnina šį efektą [18]. Taigi metforminas gali būti priežastis vitamino B₁₂ malabsorbcijos, kuri pasireiškia skirtingais mechanizmais.

Atlikta studijų, kuriose nagrinėtas sergančiųjų 2-ojo tipo diabetu plazmos Hc ir endogeninio insulino ryšys. Nustatyta, kad sveikų savanorių kraujyje rasta hiperinsulinemija ir sumažėjęs Hc kiekis. Bet sergančiųjų 2-ojo tipo diabetu to nerasta. E. P. Wijekoon ir kiti įrodė, kad sergančiųjų 2-ojo tipo diabetu plazmoje rastas padidėjęs Hc kiekis atvirkščiai koreliavo su endogeniniu insulino kiekiu [85, 264]. M. Buysschaert ir kiti autoriai nustatė, kad sergančiųjų 2-ojo tipo diabetu padidėjęs bHc kiekis asocijuojasi su didesniu komplikacijų paplitimu (makroangiopatija ir nefropatija) [36, 174]. V. Fonseca ir kolegos surado sergančiųjų 1-ojo tipo diabetu mažą Hc koncentraciją [76, 77, 158, 220, 251].

Hc koncentracijai kraujo plazmoje turi įtakos ir lytiniai hormonai. Moterys po menopauzės, taip pat ir vyrai turi didesnę riziką susirgti širdies kraujagyslių ligomis. Priežastis – daugiaveiksnė. Padidėjęs Hc kiekis yra nepriklausomas rizikos veiksnys širdies kraujagyslių susirgimams. Tiriant bHc koncentraciją vyrų ir moterų kraujo serume, buvo nustatyta, kad apytikriai 10–15 proc. moterų Hc padidėjęs. Kaip ir kodėl estrogenai veikia Hc metabolizmą, nėra aišku. Taip pat rasta, kad moterų Hc kiekis buvo gerokai didesnis po menopauzės.

Sergantieji reumatoidiniu artritu turi didesnę riziką mirti nuo širdies kraujagyslių ligų, ypač kai reumatoidinis artritas patvirtintas serologiškai. Antireumatoidiniai vaistai – metotreksatas ir sulfasalazinas gali padidinti Hc kiekį kraujyje [73]. Gera žinoma, kad metotreksatas slopina dihidrofolato reduktazę, todėl sumažėja folatų ir padidėja Hc koncentracija. Folio rūgštis pagerina folatų įsisavinimą ir sumažina metotreksato sukeltą

hHc ir toksiškumą. Taigi išsaugomas veiksmingumas medikamento, kurį naudoja sergantieji reumatoidiniu artritu.

Žinoma, kad antiepileptiniai vaistai mažina folatų kiekį ir didina Hc koncentraciją kraujo serume. Folio rūgštis yra būtina remetilinio proceso, kai iš homocisteino gaunamas metioninas. Folatų stygius gali sukelti kepenų fermentų indukciją, vartojant karbamazepiną. K. Aslan 2008 ir kt. įrodė, kad pacientai, gydyti antiepileptiniais vaistais, turėjo mažiau folio rūgšties ir padidintą Hc kiekį. Svarbu pažymėti, kad Hc pats yra potencialus konvulsantas, galintis padidinti epilepsija sergančių ligonių priepuolių dažnį [12, 207].

Apibendrinant galima teigti, kad vaistų sąveika su Hc metabolizmu turi svarbią reikšmę jo kiekiui kraujo plazmoje [10, 40, 161]. Šie pokyčiai yra svarbūs rizikos padidėjimui susirgti širdies ir kraujagyslių sistemos ligomis [129].

2.10. Hiperhomocisteinemijos įtaka kraujagyslių funkcijai, kraujo krešėjimo sistemai ir aterosklerozės vystymuisi

Vystantis aterosklerozei, progresuoja kraujagyslių endotelio disfunkcija, pasižyminti daugiakomponenčiu mechanizmu [195]. Aterosklerotinių plokštelių susidarymas tampa svarbiausia aterosklerozės išraiška ir komplikacija, lemiančia spindžio okliuziją, vėliau trombozę, plyšus plokštelei. Tai lemia trys svarbiausios klinikinės išraiškos – koronarinė širdies liga (miokardo infarktas ir krūtinės angina), periferinių arterijų liga (trombozė) ir smegenų išemija (insultas ar praeinantis smegenų išemijos priepuolis) [59, 137].

Nežymi hHc siejasi su arterijų ir venų ligomis [261]. Didelė Hc koncentracija siejama su padidėjusia rizika susirgti išeminiu insultu ir miokardo infarktu asmenims, kuriems kliniškai pasireiškusi aterosklerozė, bet jie jokių ligos simptomų nejaučia [65]. Eksperimentai su gyvūnais patvirtina, kad Hc gali paspartinti aterosklerozės sukeltus pažeidimus [231]. Ištyrus pacientus su nedidele ir didele hHc (15–100 $\mu\text{mol/l}$), nustatyta apsunkinta vazodiliacija dėl kraujagyslių endotelio pakitimų [189].

Pagal oksidacinio streso, sukeliančio kraujagyslių disfunkciją, teoriją įvyksta Hc sieros grupės autooksidacija, kurios metu išsiskiria superoksido radikalai, ir sumažina azoto oksido kiekį (galingas vazodilatatorius). Padidėjęs Hc kiekis gali būti oksidacinio streso tarpininkas, mažinti intraceliulinės glutationo peroksidazės-1 aktyvumą ir ekspresiją [4]. Taigi sumažėja endotelio ląstelių gebėjimas detoksikuoti hidrosilo

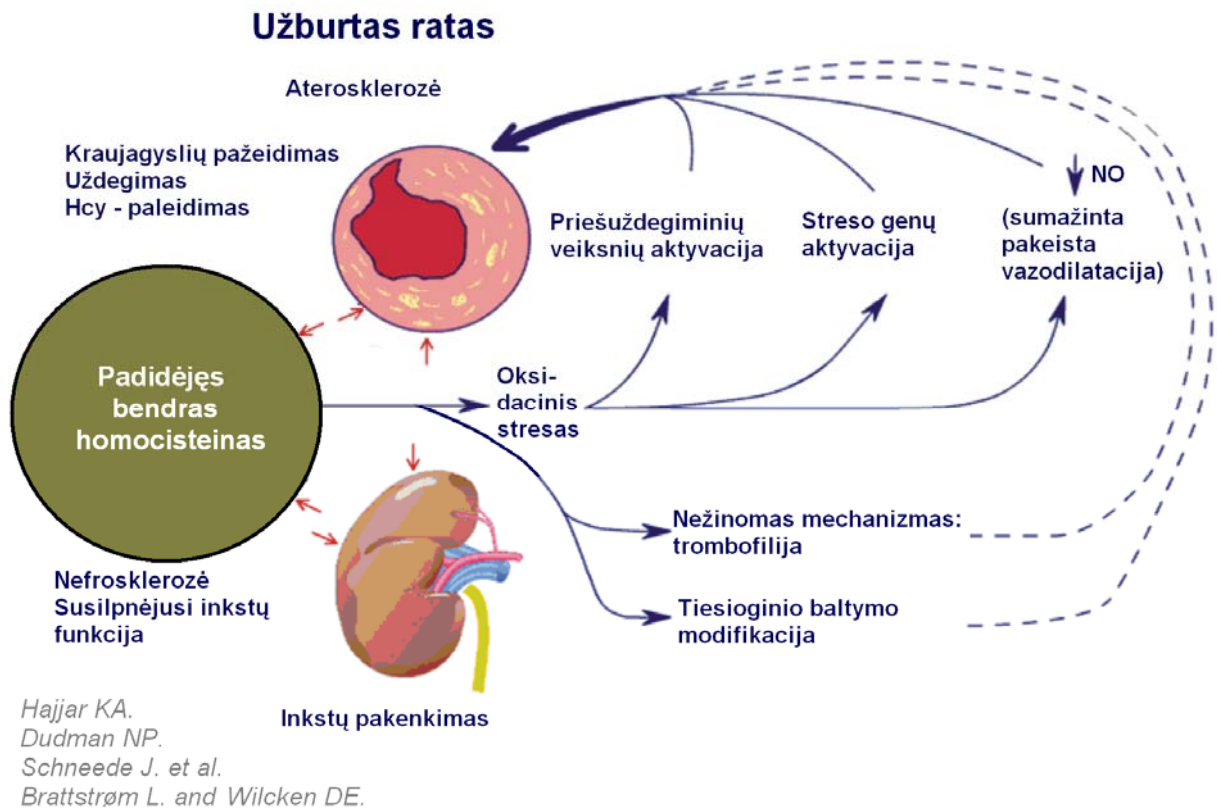
radikalus. Hc taip pat gali pakeisti kraujotakoje esančius proteinus ir jų funkciją, tuo paveikdamas koaguliacinę sistemą. Be to, padidintas Hc kiekis *in vitro* gali turėti įtakos programuotos ląstelių mirties genų ekspresijai endotelio ląstelių viduje [108].

S.E.Vollset ir kt. Hordalando atliktoje studijoje palygino padidintą Hc kiekį su pacientų mirtingumu dėl širdies kraujagyslių ligų ir be jų. Dėl padidėjusio Hc kiekio $5\mu\text{mol/l}$ mirtingumas abiejose grupėse padidėjo iki 49 procentų, mirtingumas dėl širdies kraujagyslių ligų – iki 50 procentų, o dėl vėžinių susirgimų – 26 procentais. Taigi padidėjusi Hc koncentracija kraujyje yra svarbus mirtingumo pranašas [253]. Mirtingumo rizika padidėja, sergant nestabilia krūtinės angina, cukriniu diabetu, kai išmetimo frakcija yra mažesnė nei 55 procentai, o fibrinogeno koncentracija mažesnė nei $3,5\text{ g/l}$. C.J.Boushey ir kt., ištyrę per 4000 pacientų, nustatė, kad padidėjus Hc kiekiui $5\mu\text{mol/l}$ rizika susirgti anksčiau minėtomis ligomis gali padidėti 80 proc. moterims ir 60 proc. vyrams [19, 191, 266].

Prasidėjus medicininės genetikos erai, tiriami keli genai (Apo-E, homocisteino, krešėjimo veiksnių ir kt.), kurie, manoma, yra susiję su galvos smegenų infarktu [34]. Šių sunkių patologijų etiologijoje svarbų vaidmenį vaidina ir padidėjęs bHc kiekis (3 pav.). Nustatyta, kad hHc turi 42 proc. sergančiųjų galvos smegenų kraujagyslių, 28 proc. – periferinių kraujagyslių, 32 proc. – koronarinių arterijų aterosklerozė [255]. 1966-1999 metų tyrimais įrodyta, kad padidėjęs Hc yra daugiau ar mažiau nepriklausomas veiksnys, perspėjantis apie riziką susirgti išemine širdies liga ar insultu sveikų žmonių populiacijoje. Daug ar vidutiniškai padidinta Hc koncentracija siejasi su kraujagyslių okliūzijos padidėjimo rizika. Hiroyuki Morita ir bendraautoriai tyrė priklausomybę tarp plazmos Hc kiekio ir restenozės po koronarų angioplastikos bei aiškinosi, ar gali padidėjęs Hc kiekis būti restenozės po koronarų angioplastikos pranašas. Plazmos Hc koncentracija esant restenozei buvo daug didesnė negu be jos ($15,0\pm 3,9$ ir $13\pm 2,9$) [104]. Todėl gydant hHc terapinė strategija gali būti prevencinė restenozinių priemonė.

Padidėjusi Hc koncentracija kraujo serume yra rizikos veiksnys ne tik kardiologiniams susirgimams, bet ir arterinei hipertenzijai [52, 192, 223]. Klinikinių studijų rezultatai rodo, kad sergantieji hipertenzija turėjo $3,8\mu\text{mol/l}$ didesnę Hc kiekį nei turintys normalų kraujo spaudimą [210]. Hc kiekis ir kraujo spaudimas labiau koreliavo moterims nei vyrams. Tyrėjai tvirtina, kad Hc gali prisidėti prie hipertenzijos patogenezės išsivystymo [119]. Moterys su hipertenzija turėjo mažiau folio rūgšties. Pacientams su aterosklerotiniais susirgimais švelni hHc sutinkama 20–30 proc. Šie

ligoniai turi ne tik standartinius rizikos susirgti kraujagyslių ligomis veiksnius, bet ir labai ankstyvą pablogėjusią inkstų funkciją. Inkstų funkcijos pablogėjimas yra viena iš priežasčių, padidinančių Hc kiekį plazmoje. Vidutinė hHc gali būti dažniau padarinys nei priežastis ateroskleroziniams susirgimams išsivystyti [33] (5 pav.).



5 pav. Hiperhomocisteinemijos vaidmuo aterosklerozės ir trombozės procesuose.

Hiperhomocisteinemija pripažinta kaip savarankiškas aterosklerozės rizikos veiksnys. Homocisteinas stimuliuoja cholesterolio ir Apo-B₁₀₀ gamybą ir sekreciją kepenų ląstelėse [145]. Pabrėžiamas žalingas Hc poveikis kraujagyslių endotelio ląstelėms, kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelėms, jungiamajam audiniui, Hc pablogina sąveiką su plazmos lipoproteinais, krešėjimo veiksniais ir trombocitais [143]. Žmonėms, turintiems labai padidintą bHc kiekį, aptinkama arterijų patologija. Ištyrus histologiškai, rasta sustorėjusi fibrozinė kraujagyslių sienelės intima, vidinio elastinio sluoksnio skilimai, gausus raumeninių skaidulų nusidėvėjimas medijoje [78, 184].

Normalaus endotelio funkcija – palaikyti pusiausvyrą tarp priešingų procesų, t. y. vazodiliacijos ir vazokonstrikcijos, lygiųjų raumenų ląstelių augimo slopinimo ir skatinimo, antitrombozinio/fibrinolizės ir protrombozinio/antifibrinolizės, uždegimo

slopinimo ir skatinimo. Tokiu būdu endotelis padeda reguliuoti kraujo tėkmę ir spaudimą [131, 133]. J. S. Stamler ir kiti [216] teigia, kad esant padidintai bHc koncentracijai sumažėja endotelio ląstelių vazodiliatacija, antitrombocitinių mediatorių ir azoto oksido kiekis. Padidintas Hc kiekis randamas pažeistose endotelio vietose [163]. Tačiau padidinta Hc koncentracija randama ir sveikų asmenų koronarinių arterijų medijoje ir intimoje. hHc poveikis didėjant NO kiekiui rodo didėjančią oksiduotų lipidų junginių gamybą. Todėl manoma, kad bHc koncentracijos padidėjimas sąlygiškai dar sveikų kraujagyslių sienelėje yra labai ankstyvas besivystančio pažeidimo proceso žymuo [163, 237].

Homocisteino oksidacijos produktai (vandenilio peroksidas, superoksido anijonas ir kiti reaktyvūs deguonies junginiai) sukelia oksidacinį stresą, skatina lipidų peroksidaciją, pagreitina I-ojo plazminogeno aktyvatoriaus inhibitoriaus (PAI-I) sintezę endotelio ląstelėse [15, 148]. Todėl mažėja fibrinolizinis aktyvumas ir susidaro palankios prielaidos įvairiems tromboziniais procesams atsirasti. Padidėja trombocitų aktyvumas.

Nustatyta, kad hHc greitina mažo tankio lipoproteinų (MTL) oksidaciją ir sukelia endotelio pokyčius [132]. Tiriamas Hc tiolaktono poveikis fermento paraoksanazės aktyvumui (PON). Šio fermento aktyvumas susietas su didelio tankio lipoproteinais (DTL), kurie apsaugo kraujagysles nuo neigiamo oksidacinio ir toksinio Hc poveikio [72]. DTL organizme vykdo atgalinį ląstelėse atidirbusio cholesterolio transportą ir pašalinimą. Sumažėjus šių lipoproteinų apsauginėms funkcijoms, atsiranda endotelio disfunkcija, pablogėja vazorelaksacija, sutrumpėja endotelio ląstelių išgyvenamumas. Jeigu bHc koncentracija kraujo plazmoje yra $>20 \mu\text{mol/l}$, antioksidantinių fermentų (eritrocitų superoksiddismutazė ir plazmos glutationperoksidazė) aktyvumas didėja. Rezultatai rodo, kad padidėjusi bHc koncentracija plazmoje sukelia oksidacinį stresą, dėl to didėja apsauginių antioksidantinių fermentų aktyvumas [240]. Klinikiniais tyrimais nustatyta, kad padidėjusi bHc koncentracija dėl azoto oksido stygiaus mažina sveikų asmenų kraujagyslių endotelio vazodiliataciją [199].

Padidėjusi Hc koncentracija kraujo serume gali būti svarbi kraujo krešėjimo procese. *In vitro* studijose nustatytas skirtingas Hc prokoagulantinis poveikis kraujagyslių endoteliui: slopina C proteino aktyvumą, sulėtina von Willebrand'o faktoriaus sekreciją ir audinių faktoriaus gamybą [82]. Žymi hHc padidina krešėjimo žymenų koncentraciją bei endotelio ląstelių aktyvaciją [2, 46]. Ūminė hHc po metionino

krūvio, sveikų žmonių plazmoje, nesukėlė koaguliacijos suaktyvėjimo ir vWF koncentracijos padidėjimo [82].

Irodyta, kad tarp uždegimo mediatorių citokinų ir Hc bei aterosklerozinių pokyčių yra tamprus ryšys. Hc koncentracija siejasi su IL-6 ir IL-8 koncentracija [241, 244]. IL-6 aktyvina audinių faktorių, pagrindinį krešėjimo iniciatorių, monocituose ir endotelio ląstelėse [1, 7, 243]. IL-6 poveikis uždegimui ir koaguliacijai aterosklerozėje sergančiųjų endotelyje paaiškinamas sąsaja tarp Hc ir protrombino fragmento F₁₊₂ ir tirpaus trombomodulino [82]. Padidėjusi Hc koncentracija skatina endotelio ląstelių augimą, monocitų chemotaksį, kolageno gamybą [2], aktyvina baltymo C kinazę, mažina antikoagulianto heparino sulfato gamybą [163].

Wey Yu Fu ir bendraautoriai tyrė, kaip padidėjęs Hc kiekis gali prisidėti prie kraujagyslių endotelio funkcijos pabloginimo ir NO bioaktyvumo sumažėjimo. Hc mažina kraujagyslių vazodiliaciją, padidindamas plazmoje kiekį asimetrinio dimetilarginino (ADMA), kuris yra stiprus NO sintazės inhibitorius ir endotelino-1 gamybos slopintojas [57, 62]. Esant nepalankiam Hc poveikiui, normalus endotelis skatina NO produkciją. Kai šis procesas užtrunka, endotelio bioaktyvumas vietiškai sumažėja. Ieškoma atsakymo, kada ir kaip Hc sumažina endogeninį ir egzogeninį NO bioaktyvumą *in vivo* [259]. Nustatyta, kad Hc gerokai sumažina glutatono peroksidazės intraląstelinės izoformos aktyvumą. Sumažėjusi glutatono peroksidazė padidina NO jautrumą oksidaciniam stresui, sumažindama jo gamybą. Homocisteino autooksidacijos produktas homocisteino tiolaktonas jungiasi su MTL ir sudaro oksiduotus mažo tankio lipoproteinus (ox-MTL). Toliau į šį procesą įsitraukia vidinio dangalo makrofagai. Jų išskiriami augimo faktoriai skatina lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją ir kolageno, elastinių skaidulų bei proteoglikanų gamybą. Manoma, kad medijos lygiųjų raumenų proliferavusios ląstelės, veikiamos makrofagų išskiriamų medžiagų, pro vidinę elastinę membraną migruoja į intimą. Kita nuomonė, kad proliferavusios ląstelės gali daugintis iš užuomazginių ląstelių esančių normalioje intimoje, kaip atsakant į įvairius dirgiklius. Lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją skatina iš trombocitų, jiems agreguojant iš α -granulių atsipalaidavęs trombocitų augimo faktorius (PDGF). Proliferavusios lygiųjų raumenų ląstelės išskiria neląstelinis jungiamojo audinio komponentus – kolageną, elastines skaidulas ir proteoglikanus. Kraujagyslės proteoglikanų sudėtyje yra glikozaminglikanai, kurie slopina augimą. Todėl pusiausvyra tarp šių dviejų procesų yra labai svarbi. Susidaręs jungiamasis audinys apsupa susikaupusius lipidus. Tai ateromatozinės plokštelės formavimosi pradžia.

Tikslus molekulinis mechanizmas, kaip padidėjusi Hc koncentracija veikia aterosklerozės atsiradimą, nėra nustatytas. Paskelbta alternatyvi hipotezė, kad hHc gali sukelti netinkamas viduląstelines metilinimo reakcijas [187], kurios yra būtinos pažeistų baltymų atstatymui. Sutrikus šioms reakcijoms, pažeisti baltymai išlieka ir gali dalyvauti aterogenezės procese [187]. *In vitro* nustatyta, kad Hc slopina baltymų sintezę, pavyzdžiui, ciklino A, kuris yra atsakingas už vidinį ląstelių augimo ciklą [258]. Svarbų vaidmenį atlieka cerulio plazminas (CP), kuris suriša ir transportuoja varį. Padidėjęs šio baltymo kiekis randamas ūmioje uždegimo fazėje. CP prisideda prie MTL oksidacijos. Rasta, kad Hc sukelia Cu(+)-CP formavimąsi, kuris skatina MTL oksidazės aktyvumą [68]. R.Dardik ir bendradarbiai pateikė kitokią mechanizmo sampratą apie Hc ir oksiduotų MTL poveikį endotelio ląstelių trombogeniškumui [53]. Kraujagyslių endotelio ląstelės buvo „gydytos“ homocisteinu (1–10 $\mu\text{mol/l}$ 16 val.) ir oksiduotais MTL (100 $\mu\text{g/ml}$ 16 val.). Be sustiprėjusios trombocitų adhezijos, pastebėta, kad Hc gerokai padidino ląstelės paviršiaus audinių faktoriaus (AF) aktyvumą ir šiek tiek sumažino adhezijos molekulių (ICAM-1, VCAM-1) ir E-selektino ekspresiją [219]. Priešingai, oksiduoti MTL padidino ICAM ekspresiją ir neturėjo jokio poveikio endotelio AF aktyvumui. Rezultatai rodo, kad Hc ir oksiduoti MTL gali padidinti endotelio trombogeniškumą skirtingais mechanizmais: Hc didina AF aktyvumą, o oksiduoti MTL – ICAM koncentraciją [219]. Taip pat didėja ir GPIIb–IIIa/fibrinogeno receptorių ant endotelio ląstelių. Integrinai $\alpha_v\beta_3$ endotelio stimuliacijos neveikia, bet vaidina lemiamą vaidmenį trombocitų ir endotelio sąlyčiui [53]. Nustatyta, kad padidėjus Hc koncentracijai 1 mmol/l, padidėja trombocitų adhezija ant endotelio ląstelių ir duoda pradžią fibrino atsiradimui [53]. Kituose darbuose tvirtinama, kad nenutrūkstamas Hc poveikis į endotelio ląsteles lemia jų pokyčius bei daugybinių genų ekspresiją [130].

Esant endotelio disfunkcijai ir morfologiniam pažeidimui, Hc dar labiau aktyvina trombocitus, ir tokiu būdu skatina trombo susidarymą ant plokštelės [71, 170, 229]. Pažeidus kraujagyslės intimos vientisumą, atsiveria bazinė membrana, turinti teigiamai įkrauto kolageno. Prie jo prilimpa neigiamą krūvį turintys trombocitai. Įvykus sąlyčiui su kolagenu, trombocitai pakinta biologiškai ir morfologiškai: pasikeičia forma, atsiranda ir pailgėja pseudopodijos, pats trombocitas degranuliuojasi, iš jų kompaktiškų granulių atsipalaiduoja jų turinys („išskyrimo reakcija“), į plazmą išsiskiria jonizuotas kalcis ir adenosino difosfatas (ADP), kurie skatina tolesnę trombocitų agregaciją. Vienas jų sulipęs sluoksnis pavirsta į daugialąstinį kamštį [215]. Kraujagyslės

pažeidimas skatina kraują krešėti, nes išsiskiria audinių faktorius, trombinas ir susidaro fibrinas. Trombinas greitina ADP, serotonino ir kitų medžiagų atsipalaidavimą iš trombocitų, kurie dar labiau agreguoja trombocitus. Dėl šių procesų kraujagyslės sienelėje atsiranda nelygumų, susidaro kraujo srovės verpetai, sutrinka įprastinis srovės tekėjimas. Vėliau susidaro fibrino sluoksnis, į kurį nusėda trombocitai ir kiti kraujo forminiai elementai, todėl trombas didėja, mažindamas kraujagyslės spindį.

R. Dardik su bendradarbiais nustatė, kad Hc ir oksiduoti MTL gali susilpninti endotelio antitrombotines savybes, padidindamas nuo GPIIb-IIIa/fibrinogeno receptorių priklausomą trombocitų adheziją ant endotelio ląstelių [53, 144]. Selektinai E ir P yra transmembraniniai glikoproteinai, kurie išsiskiria ant suaktyvintų kraujagyslių endotelio ląstelių ir aktyvuotų trombocitų. Esant kraujagyslių endotelio pažeidimui, trombocitai yra veikiami subendotelinio kolageno, fibronektino ir von Willebrand'o faktoriaus (vWF).

Jei arterijos trombozės priežastis yra neuronų mirtis, iš pažeistų neuronų išsiskiria tumoro nekrozės faktorius- α ir interleukinas- 1β , skatina E-selektino nusėdimą ant pažeistų endotelio ląstelių smegenyse. E-selektinas pritraukia didelį kiekį leukocitų į išemijos židinį ir sustiprina pažeidimus išemijos zonoje. Leukocitai išskiria neurotoksinus išemijos pažeistuose smegenyse, ir prisideda prie mikrokraujagyslių užsikimšimo išeminės penumbros zonoje [26, 190]. Esant hHc įrodyta *in vitro*, kad mažėja kraujagyslių endotelio antitrombotinė ir priešfibrinolitinė apsauga, t. y. mažėja trombomodulino ekspresija ir trombinas negali sudaryti komplekso, kuris aktyvina baltyminius antikoagulantus. Tada sumažėja baltymo C aktyvumas, silpnėja audinių plazminogeno aktyvatoriaus prisijungimas prie endotelio ląstelių membranos, tačiau antikoaguliacinis audinių faktoriaus ir krešėjimo V ir XII faktorių aktyvumas padidėja [117, 140].

R. Virchovas teigia, kad trombogenezei išsivystyti reikalinga pakitusi kraujo tėkmė, kraujagyslių sienelė ir kraujo sudėtis. Didelis Hc kiekis atitinka du R. Virchovo kriterijus iš trijų, t.y. endotelio toksinis pažeidimas ir protrombotinių savybių sustiprėjimas. Ši būseną asocijuojasi su sutrikusia kraujo tėkme, kuri sukelia stažę, o padidintas Hc kiekis prisideda prie trombozės formavimosi [230, 232]. M. G. Signorello su kolegomis patvirtino, kad Hc gali skatinti aterosklerozę ir aterotrombozę, nes jo poveikyje išsiskiria daugiau arachidono rūgšties, kurios metabolitai yra proagregatorinis trombocitams tromboksanas B_2 ir reaktyviojo deguonies atmainos, skatinančios lipidų peroksidaciją [213]. Padidėjęs trombocitų gebėjimas agreguoti siejasi su padidėjusiu

trombocitų jautrumu adenožino difosfatui (ADP) bei trombinui. Homocisteinas sužadina oksidacinį stresą trombocituose *in vitro*. Dėl to tromboksano B₂ koncentracijos padidėjimas dar labiau aktyvina trombocitus [166, 178, 213]. Koaguliacinės kraujo savybės padidėja dėl audinių faktoriaus koncentracijos augimo, kurį išskiria makrofagai.

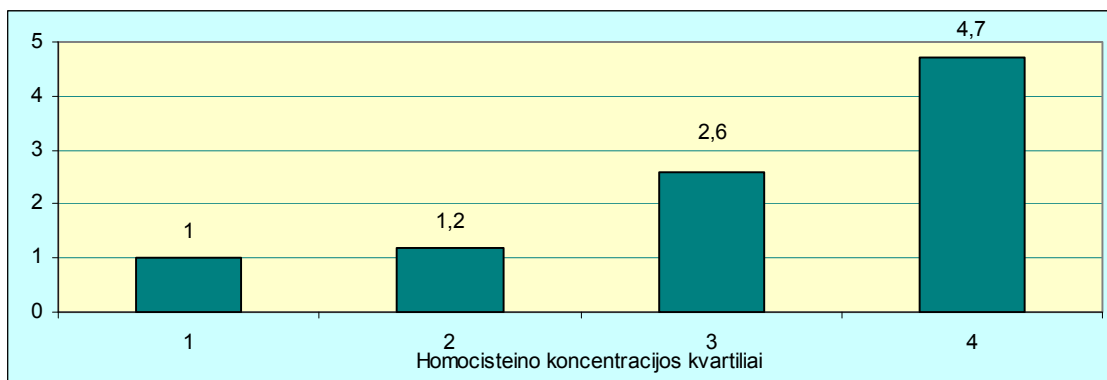
Venų trombozė yra daugiapriežastinis susirgimas, kuris apima įgytus ir įgimtus veiksnus. Ligoniams, turintiems padidintą bHc kiekį ir paveldėtą V faktoriaus Leiden mutaciją, būdinga pasikartojanti venų trombozė [124]. J. Y. Streifler ir bendraautoriai nuosekliai ištyrė pacientus su besimptome ir simptomine, didesne nei 50 procentų miego arterijos stenoze [221]. Ištyrus Hc koncentraciją kraujo serume, metilentetrahidrofolato reduktazės C677T mutaciją, trombocitų membranos glikoproteinų polimorfizmą, žmogaus trombocitų antigeną (HPA)-1 ir kt., nustatyta, kad hHc ir žmogaus trombocitų antigenas (HPA 1a/b) yra savarankiški išemijos veiksniai, esant sunkiai miego arterijos stenozai [221]. Miego arterijos stenozės rizika padidėja net tada, kai Hc koncentracija kraujo serume nelabai didelė (tarp 11,4 ir 14,3 μmol/l). Framingemo klinikinėje studijoje nustatytas statistiškai patikimas miego arterijos stenozių padažnėjimas, kai homocisteino koncentracija didesnė kaip 14,4 μmol/l. Tuo pačiu metu rasta sumažėjusi folinės rūgšties ir piridoksino fosfato koncentracija [79]. Padidėjęs bHc kiekis kraujo serume nustatytas ligoniams su aterotrombotinės kilmės insultu ir simptominiiais arterijų susirgimais. Sergančiųjų galvos smegenų kraujagyslių ligomis komplikacijų dažnį galima sumažinti, gydant vitaminais [98]. Pasaulio sveikatos agentūros „Reuter“ šių metų duomenimis, bHc koncentracijos padidėjimas bent 1 μmol/l padidina riziką susirgti išeminiu insultu 3,3 karto.

A. M. Lauricella ir bendraautoriai elektroniniu mikroskopu eksperimente įvertino cisteino ir Hc įtaką fibrino formavimuisi ir jo struktūrai kraujo plazmoje. Kadangi *in vivo* trombo formavimesi dalyvauja ir daugelis kraujo elementų, limfocitai, eritrocitai ir trombocitai buvo atskirti. Nustatyta, kad su Hc susiję fibrino tinklo siūlai yra trumpesni, storesni, mažiau šakoti ir daugiau kompaktiški [134]. Šie pokyčiai daro krešulį daugiau atsparų fibrinolizei. J. Weisel ir kiti įrodė, kad storesni fibrino siūlai lėčiau tirpsta [260], taigi padaryta išvada, kad hHc blogina trombolizę, slopina biosintezę trombomodulino, kuris būtinas susidaryti kompleksui, galinčiam trombiną, veikiant baltymui C, paversti neaktyviu. A. K. Majors įrodė, kad homocisteinas gali susilpninti fibronektino ir fibrino sąveiką, keisti normalią trombozę ir trukdyti žaizdos užgijimui [153].

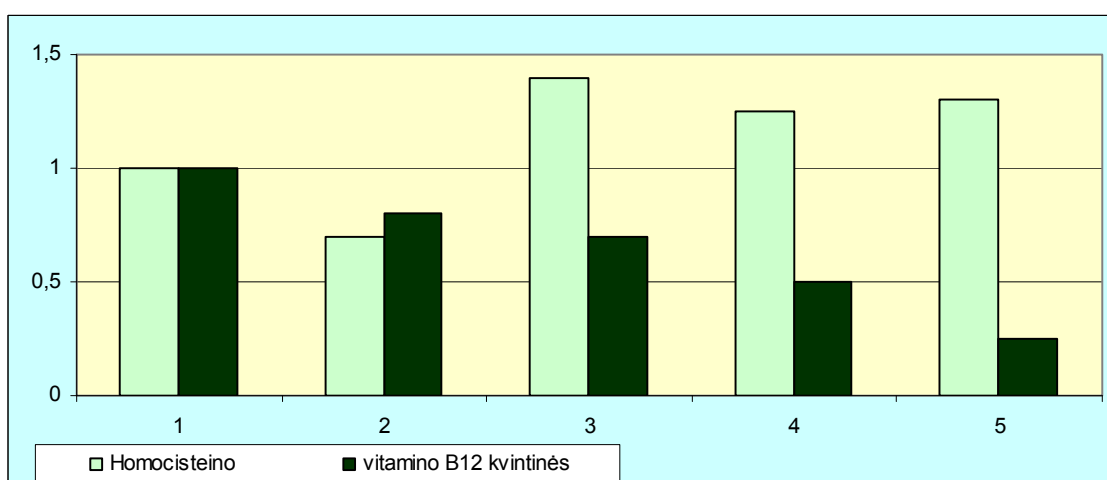
hHc gali būti tiek pat žalinga, kaip ir rūkymas. Esant hHc 1,7 karto dažniau sergama vainikinių širdies kraujagyslių ligomis, 2,5 – cerebrovaskulinėmis ir net 6,8 – periferinių kraujagyslių ligomis. Hiperhomocisteinemija randama tik 5 procentams praktiškai sveikų žmonių, o sergančių širdies ir kraujagyslių ligomis – 13–47 proc. atvejų [156]. Dar svarbu pažymėti, kad padidėjusi bHc koncentracija kraujo serume yra susijusi su kraujagyslių ligų rizika ir nepriklauso nuo bHc koncentracijos padidėjimo etiologijos.

Epidemiologinių tyrimų duomenimis [185] bHc koncentracijos ryšys su aterosklerozės padariniais, smegenų insultu ir išemine širdies liga yra įrodytas [6, 63, 167, 198, 202,]. „Stroke“ žurnale buvo paskelbti tyrimo rezultatai apie ryšį tarp padidėjusio Hc kiekio, kitų insulto rizikos veiksnių ir aortos ateromos progresavimo. Pastebėta, kad vieninteliai veiksniai, kurie patikimai koreliavo su ateromos progresavimu buvo bHc per 14,0 $\mu\text{mol/l}$, pirminis galvos smegenų infarktas ir didžiųjų arterijų aterosklerozė [206].

Nevožtuvinis kairiojo prieširdžio virpėjimas yra svarbi vyresniojo amžiaus problema, pasitaikanti nuo 2 iki 4 proc. vyresniems nei 60 metų žmonėms. Tai viena dažniausių insulto priežasčių, pasitaikančių šioje amžiaus grupėje [97]. Venų trombozės rizika padažnėja daugiau negu du kartus, esant padidėjusiai Hc koncentracijai. Galima teigti, kad toks Hc kiekis turi reikšmės kairiojo prieširdžio trombai susiformuoti, esant prieširdžių virpėjimui. Pacientams, kuriems rastas trombas kairiajame prieširdyje, turėjo daug didesnę Hc kiekį [97]. Rotterdamo klinikinėje studijoje, ištyrus magnetiniu rezonansu 60–90 metų 1077 asmenis, paaiškėjo, kad „tylusis“ smegenų infarktas 2,5 karto dažnesnis aukštesnėje kvintilėje, kurioje Hc koncentracija viršijo 13,8 $\mu\text{mol/l}$, palyginti su žemesne kvintile ($<8,5 \mu\text{mol/l}$). Santykinė insulto rizika progresyviai penkis kartus didėja, palyginus pirmąją ir penktąją bHc koncentracijų kvintiles (6 pav.). Rasta [75], kad sergančiųjų koronarine liga klinikinė simptomatika blogėja didėjant bHc koncentracijai ir mažėjant vitaminų B₆, B₁₂ ir folinės rūgšties koncentracijai kraujyje (7 pav.). Todėl visų sergančiųjų aterosklerotinėmis ir (ar) tromboembolinėmis ligomis Hc turi būti tiriamas anamnezėje. Pacientų, kurių bHc didesnis kaip 12 $\mu\text{mol/l}$, dietoje būtina didinti folinės rūgšties kiekį.



6 pav. Santykinė smegenų insulto išsivystymo rizika priklausomai nuo bendros homocisteino koncentracijos kraujo serume [185].



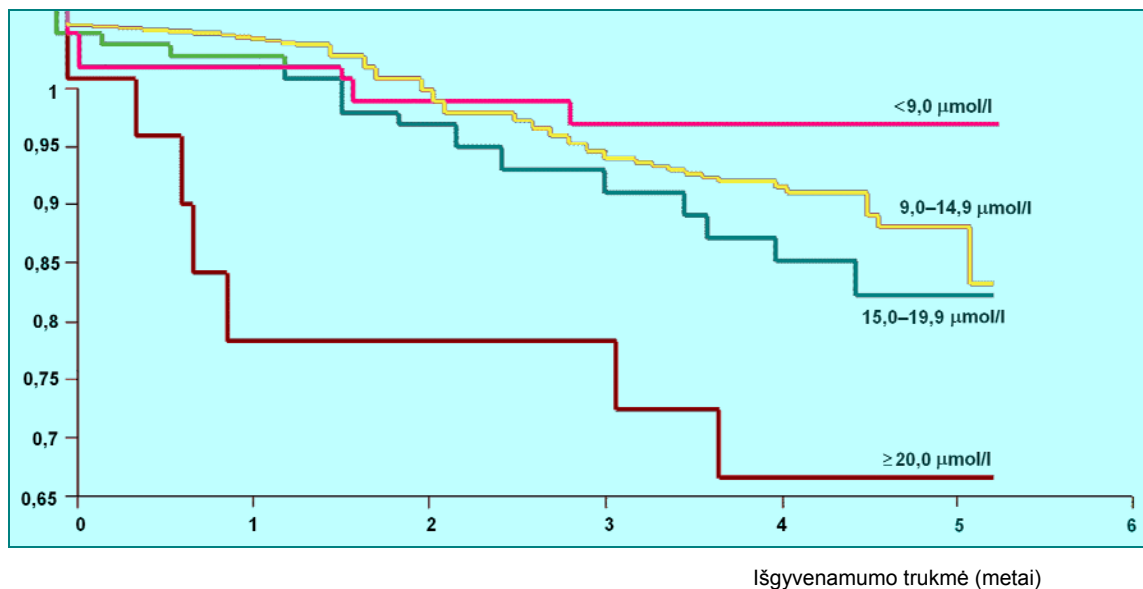
7 pav. Santykinė koronarinės ligos išsivystymo rizika priklausomai nuo bendro homocisteino ir vitamino B₁₂ koncentracijų kraujo plazmoje [75].

Nustatytas ryšys tarp Hc koncentracijos kraujo plazmoje ir sergančiųjų IŠL mirtingumo (8 pav.). Padidėjus Hc koncentracijai ir 2,5 karto viršijus normą, išgyvenamumas blogėja, ypač sparčiai per pirmuosius metus po koronarinių įvykių ir išlieka padidėjęs per šešerius stebėjimo metus [172].

Didelė bHc koncentracija proporcinga aterosklerozės vystymuisi dėl uždegiminio proceso skatinimo ir didėjančios trombozės rizikos. Mažėjantis folinės rūgšties ir vitamino B₁₂ kiekis skatina aterosklerozės procesą ir didina riziką.

Nustačius, kad bHc koncentracija plazmoje padidėjusi, būtina ją mažinti. Tą galima daryti dvejopai: daugiau vartoti maisto produktų, kuriuose yra dideli B grupės vitaminų ir folio rūgšties kiekiai, arba gerti minėtų vitaminų preparatus [48]. Folio rūgšties yra lapinėse daržovėse, apelsinuose ir jų sultyse, bulvėse, sojos pupelėse, mėsos, kiaušiniuose, piene, grūduose; vitamino B₆ – paukštienoje, kiaušienoje, kopūstuose, ankštinėse daržovėse, sojos pupelėse, grūduose; vitamino B₁₂ – mėsos,

žuvyje, kiaušiniuose, piene. Jei bHc koncentracija didesnė kaip $30 \mu\text{mol/l}$, būtina suvartoti 400–500 mg folio rūgšties, 4–10 mg vitamino B₆ ir 50–400 μg vitamino B₁₂.



8 pav. Sergančiųjų koronarine liga išgyvenamumas priklausomai nuo homocisteino koncentracijos kraujo plazmoje [172].

Programoje „Vitaminų intervencija insulto profilaktikoje“ dalyvavo ligoniai, persirgę insultu ir turėję hHc. Lyginant didelių ir vidutinių dozių vitaminų B₆, B₁₂ ir folio rūgšties poveikį, nustatyta, kad kasdien vartojant folinės rūgšties (2,5 mg), vitamino B₆ (25 mg) ir B₁₂ (400 μg), padidėjusią Hc koncentraciją galima sumažinti 50–60 proc. [217]. P.Berger pritaria, kad homocisteino kiekio mažinimo terapija yra nežalinga ir nebrangi. Kitiems ligoniams folatų ir vitamino B₁₂ perteklius pasišalina su šlapimu [23].

Mažinant Hc kiekį, didelę reikšmę, turi pagrindinis susirgimas. Siekiant tai įrodyti, buvo tiriami ligoniai, sergantys insultu ir praeinančiu smegenų išemijos priepuoliu (PSIP). Insultu sergančiųjų grupėje po 30 dienų vartojimo nutraukus vitaminų terapiją, Hc kiekis sugrįžo į ankstesnį lygį, o ligonių su PSIP nei po 30 dienų, nei po 60, nei po 90 dienų po vitaminų terapijos nutraukimo Hc kiekis nepadidėjo. Teigiama, kad uždegiminiam organizmo atsakui gali reikėti didesnio B grupės vitaminų kiekio [201]. Sumažinus Hc koncentraciją 25 procentais (apytikriai $3 \mu\text{mol/l}$), rizika susirgti išemine širdies liga sumažėja 11 proc., o insultu – 19 proc. [42]. Reguluojant Hc susidarymą mitybos pokyčiais, pastaraisiais metais JAV pradėta naudoti folatų papildus grūdiniuose produktuose (pirmiausia miltuose): 140 μg folatų – 100 g produkto, taip pavyko gerokai sumažinti Hc kiekį organizme. Tačiau perdozuoti folatus

yra pavojinga. Mūsuose, turint galvoje profilaktikos lygį, apie tai gal dar per anksti kalbėti. Tačiau panaudoti multivitaminus, ypač vyresniojo amžiaus žmonėms, būtų naudinga, – kad sumažėtų Hc kiekis ir padidėtų teigiamas vitaminų poveikis imuninei sistemai [165]. Naudojant folinę rūgštį, vitaminus B₆ ir B₁₂, normalizuojamas patologiškai didelis Hc kiekis, bet nėra galutinai ištirta, ar gydymas vitaminais gali keisti aterosklerozės progresavimą [5, 32, 49].

Apibendrinant galima teigti, kad šalia kitų cirkuliuojančių kraujyje aterosklerozės rizikos veiksnių (oksiduoti MTL, 8-epi-PGF₂α), hHc pripažįstamas ne mažiau svarbiu. Tačiau hHc gydymas daug lengvesnis už antiaterosklerotinių ir galima pasiekti daug geresnių rezultatų, naudojant nebrangius ir netoksiškus vitamininius preparatus.

2.11. Trombocitai, jų funkcija ir hiperhomocisteinemija

Trombocitus pirmą kartą aprašė Giulio Bizzozero 1880 metais. Jis mikroskopu pamatė, kaip trombocitai formuoja trombą. Trombocitai – tai mažos, neturinčios branduolio, ovalios formos ląstelės, 1–4 μm skersmens, kurios susidaro iš kaulų čiulpų megakariocitų citoplazmos fragmentų ir egzistuoja apie 9–10 dienų [16]. Jie atlieka visas ląstelei būdingas funkcijas, išskyrus DNR sintezę ir dalijimąsi. Trombocitai dalyvauja daugelyje organizmo procesų: hemostazės ir trombozės, kraujagyslių tonuso išlaikyme ir reguliavime, uždegiminiame procese, organizmo apsauginėse reakcijose, auglio angiogenezėje [81, 101]. Trombocitai gyvybiškai svarbūs pirminėje (trombocitinės) kraujo krešėjimo fazėje, įvykus bet kokiam kraujagyslės pažeidimui.

Jeigu kraujagyslių endotelis nepažeistas arba labai mažai pažeistas, išsilaiko dinaminė pusiausvyra tarp aktyvinančių ir slopinančių pirminę (trombocitinę) hemostazę procesų. Tuomet kliniškai hemostazės sutrikimai nepasireiškia. Fiziologiškai sveikame organizme trombocitų adheziją, kai nepažeistas kraujagyslių endotelis, slopina ne tik NO ir PGI₂, bet ir stipri kraujo srovė. Atsiradus stipresniam kraujagyslių endotelio pažeidimui, trombocitai pakinta morfologiškai ir biochemiškai. Endotelio pažeidimo vietoje atsiranda daug trombocitus aktyvinančių ir juos agreguojančių veiksnių: ADP (jis yra kiekvienoje ląstelėje), kolagenas (KOL) (atsiveria, pažeidus endoteliocitus), trombinas (susidaro veikiant tromboplastinui ar audinių faktoriui), adrenalinas (ADR) (pažeidus endoteliocitus), antagonistai-prostaciklinai PGI₂, PGD₂, azoto oksidas (NO) (endotelio relaksacijos faktorius) [90, 91]. Iš suaktyvintų trombocitų išsiskiria

adrenaliną, serotoniną, trombocitų faktoriai 3 ir 4, β -tromboglobulinas ir kt. Jei pažeidimas didelis, toliau vyksta trombocitų aktyvinimas, t.y. adhezija, agregacija, sekrecija. Kartu aktyvinamas fiziologinis procesas – fibrinolizė. Sutrikus šiai dinaminei organizmo pusiausvyrai, gali išsivystyti kraujavimas ar trombozė. Trombocitai gali reaguoti į 100 ir daugiau skirtingų agonistų. Labai svarbūs agonistai, kurie skatina trombocitų degranuliaciją, veikia komplekso GPIIb/IIIa receptorių, atpalaiduoja fibrinogeną iš alfa granulių [168].

Trombocitų receptoriai priklauso membraninių baltymų šeimai – integrinams. Jie tarpusavyje sudaro kompleksus – receptorių, kurie leidžia trombocitams agreguotis skirtingais keliais. Didžiausias glikoproteinas (GP) žymimas I, mažiausias – IX. Vykstant elektroforezei, šis proteinas skyla į dvi dalis, kurios žymimos raidėmis a ir b. Daug yra adhezinių glikoproteininių receptorių, kurie turi heterodimerines molekules, sudarytas iš α ir β subvienetų. Trombocituose svarbiausi integrinai yra glikoproteinai GPIa, GPIb, GPIIb, GPIIIa, GPIV, GPV [90]. Komplexas GPIa/GPIIa veikia kaip kolageno receptorių, esant lėtai kraujotakai, o GPIb/IX receptoriais prisijungia vWF prie trombocito paviršiaus, tai nulemia trombocito adheziją ant pažeistos endotelio vietos, esant greitai kraujotakai [101]. Von Willebrand'o faktorius – tai didelis multimerinis proteinas, gaminamas kraujagyslės endotelio bei sekretuojamas į poendotelinį sluoksnį, kur suriša ekstraląstelinį kolageną.

Trombinas yra svarbiausias krešėjimo fermentas. Tai agonistas trombocitų agregacijai skatinti, nes trombinas dalyvauja fibrino susidaryme iš fibrinogeno, po to GPIIb/IIIa kompleksą paverčia fibrinogeno receptoriu. Šiam kompleksui susidaryti reikia kalcio. Suaktyvinus trombocitus, pasikeičia komplekso GPIIb/IIIa struktūra, jis gali sujungti vWF, fibrinogeną. Įvyksta negrįžtama trombocitų adhezija ir agregacija. Fibrinogeno struktūra yra dimerinė, todėl jis gali prisijungti GPIIb/IIIa receptoriais prie dviejų skirtingų trombocitų, kurie agreguoja ir suformuoja pirminį krešulį. Trombocitų specifiniai receptoriai susijungia su tam tikrais skirtingais agonistais (kolagenu, trombinu, tromboksanu A_2 , adenosino difosfatu, adrenalinu ir kt.). Tokiu būdu aktyvinami patys trombocitai, įvyksta daug intraląstelių sąveikų. Visi trombocitai aktyvinami glikoproteininiams IIB/IIIa receptoriams susijungiant su aktyvintų trombocitų paviršiumi [233]. Neaktyvių trombocitų paviršiuje išsidėstę 50 000 – 80 000 GPIIb/IIIa (α IIb β 3) receptorių kopijų.

Susijungę ir aktyvinti trombocitai, skatina kitų trombocitų migraciją į trombą, lemia krešėjimą skatinančių veiksnių (V, X, VIII) išdėstymą ant trombocito paviršiaus.

Šis procesas sąlygoja trombino gamybą, ląstelių aktyvumą, naujos kraujagyslės atsiradimą (angiogenezę), ir prasideda žaizdų gijimas. Neadekvatus trombocitų aktyvacijos reguliavimas (didelė trombino sintezė) gali turėti reikšmės ūminei arba lėtinei arterijų trombozei bei naviko vystymuisi.

Padidinta Hc koncentracija kraujo serume turi neigiamą poveikį kraujagyslių endoteliui ir kraujo krešėjimo sistemai, sudaro sąlygas aterosklerotiniams pakitimams kraujagyslėse susidaryti ir susiformuoti trombai. Esant endotelio disfunkcijai ir morfologiniam pažeidimui, Hc dar labiau aktyvina trombocitus. Kraujagyslės sienelės pažeidimas aktyvina didelį skaičių trombocitų, kurie susikaupia subendotelyje. Čia jie yra veikiami audinių faktoriaus ir adhezinių molekulių. Koaguliacijos sutrikimas, esant hHc, rastas ir atliekant klinikinius tyrimus. R. Marcucci ir bendraautoriai ištyrė 119 pacientų, sergančių išemine širdies liga, ir nustatė, kad ligonių trombino–antitrombino komplekso kiekis buvo didesnis nei kontrolinės grupės asmenų [155]. Homocisteino koncentracija koreliavo su tromboplastino lygiu ir kompleksu trombinas–antitrombinas.

Esant hHc, sumažėja kraujagyslių endotelio tromboresistentiškumas [96, 144]. Padidėjusi homocisteino koncentracija suaktyvina trombocitų adheziją ir agregaciją, padidina trombino aktyvumą, sulėtina trombomodulino sintezę, slopina baltymų C ir S aktyvumą [139]. hHc padidina V ir XII krešėjimo faktorių aktyvumą. Minėti pakitimai skatina trombo susidarymą [95, 147].

Trombocitų vaidmuo krešėjimo ir galiausiai trombo susidarymui yra lemiamas, todėl jų funkcijos reguliavimas ir sugebėjimas tą atlikti – svarbiausias veiksnys, nuo kurio priklauso miokardo infarkto, galvos smegenų insulto ar kitų lokalizacijų trombozės prevencija, gydymas ar antitrombotinių sąvybių išlaikymas po sėkmingo sutrikusios kraujotakos atstatymo. Trombocitinė (pirminė) hemostazė yra startinis procesas trombai susidaryti, ar ant plyšusios aterosklerotinės plokštelės (dažniausia kraujagyslės okliuzijos priežastis), ar embolijos trombocitų agregatais periferinės kraujotakos baseine (periferinis šokas). Todėl efektyviausias trombocitų pirminės hemostazės farmakologinis ar mechaninis valdymas yra geriausia terapinė priemonė jos pasekmėms sustabdyti ar išvengti.

2.12. Trombocitų agregacijos tyrimas ir jo reikšmė

Trombocitų funkcijos sutrikimus nustatyti yra gana sudėtinga, nes nėra susitarta dėl galutinių atrankos mėginių. Iš dabartinių laikų atliekamų tyrimų nė vieno jautrumas nėra 100-procentinis. Morfologiniai ir funkciniai trombocitų sutrikimai yra labai

svarbūs. Pažeidus kraujagyslės sienelę, prasideda trombocitų sudėtingų funkcijų seka. Šios funkcijos gana sunkiai reguliuojamos. Pirmiausia vyksta trombocitų adhezija, vėliau formos kitimas, sekrecija, agregacija, prokoaguliacinio paviršiaus atidengimas, mikrodalelių formavimas ir krešulio retrakcija. Sutrikus nors vienai iš šių funkcijų ar sumažėjus trombocitų skaičiui, gali susilpnėti pirminė hemostazė, padidėja kraujavimo rizika. O esant trombocitozei ar padidėjus jų reaktyvumui, gali pradėti formuotis trombas [101].

Trombocitų agregacija yra vienas iš pagrindinių trombocitų funkcijos tyrimų [24, 175]. Pastaraisiais metais trombocitų funkcijai nustatyti didelio susidomėjimo susilaukė ir yra dažniausiai naudojamas trombocitų agregacijos metodas, aprašytas 1960 m., jis pripažintas kaip „auksinis standartas“ [81].

Trombocitų agregacija tiriama keliais metodais: trombocitais turtingoje plazmoje ir veniniame kraujyje. Trombocitais turtingoje plazmoje trombocitų agregacijos tyrimas atliekams turbidimetriniu metodu pagal Borną [29]. Atliekant trombocitų agregacijos tyrimą, pagal šį metodą, vykstant agregacijai, kinta trombocitinės plazmos optinis tankis. Šis pokytis išreiškiamas santykiniais vienetais (proc.). Agregacijai sužadinti naudojami įvairūs induktoriai: adenozino difosfatas (ADP), adrenalinas (ADR), kolagenas (KOL), trombinas, ristocetinas ir kt. Spontaninė trombocitų agregacija užrašoma, nenaudojant jokio induktoriaus. Trombocitų atsakomoji reakcija (uždelsimo fazė, formos pasikeitimo, pirminė ir antrinė agregacija) fotometriškai monitoriuojama į skirtingus induktorius. Agregacijos tyrimas prasideda tik tada, kai trombocitai juda, veikiami maišymo sistemos, nustatytos tam tikru dažniu. Agregacijos intensyvumą atspindi susiformavę didesni agregatai ir padidėjęs šviesos perdavimas. Fotometriškai brėžiamas grafikas.

Trombocitų agregacijai tirti naudojami induktoriai veikia į skirtingas trombocitų receptorių grupes. Trombocitų funkcijos aktyvumo pokyčiai dažnai baigiasi labai rimtomis ir sunkiomis klinikinėmis būsenomis – miokardo infarktu [94], insultu, praeinančiu smegenų išemijos priepuoliu [99], emociniu stresu, periferinių kraujagyslių ligomis, lėtiniu širdies nepakankamumu. ADR ir KOL naudojami įvertinti bendrą trombocitų sugebėjimą agreguotis. Vartojantiems aspiriną, agregacijai naudojant KOL, kuris agregaciją sumažina uždelsimo fazėje. Dalyvaujant ciklooksigenazei, arachidoninė rūgštis paverčiama į TxA_2 . Ciklooksigenazę slopina aspirinas, todėl agregacija sumažėja. ADP parodo fibrinogeno surišimą su GPIIb/IIIa receptoriais. Ristocetinas panaudojamas, norint nustatyti von Willebrando, Bernard-Soulier sindromus. Šis

tyrimas atliekamas, norint išsiaiškinti pirminės hemostazės sutrikimo sukeltas kraujavimo priežastis, po didelės apimties operacijų dėl tromboembolinių komplikacijų ir kt. Tyrimas labai svarbus insulto gydymo antiagregantais taktikos parinkimui ir antrinės profilaktikos efektyvumui įvertinti [116].

2.13. Trombocitų agregacijos slopinimo aspirinu veikimo mechanizmas

Antiagregantais galima paveikti trombocitų receptorių bei visą jų adhezijos ir agregacijos procesą. Vienas iš antiagregantų, dažniausiai ir seniausiai vartojamas klinikinėje praktikoje antitrombocitinis vaistas yra acetilsalicilo rūgštis aspirino sudėtyje (ASR). „Bayer“ farmacijos kompanijoje 1899 m. vokiečių mokslininko Felikso Hoffmano susintetintas aspirinas iki šių dienų sėkmingai vartojamas širdies ir kraujagyslių ligų bei jų komplikacijų profilaktikai ir gydymui, nes veikia kraujagyslių endotelį ir trombocitus. ASR slopinamasis tromboksano A_2 (TxA_2) poveikis atrastas 1971 m. ASR trombocituose slopina ciklooksigenazę-1 (COX-1), neleisdamas trombocito viduje susidaryti tromboksanui A_2 (TxA_2) ir slopina agregaciją. Tromboksanas yra labai stiprus endogeninis agregantas ir vazokonstriktorius.

COX-1 izoformos yra visose ląstelėse. COX-2 randama leukocituose, dalyvauja skausmo ir uždegimo procesuose, prostaglandinų sintezėje. ASR slopina antrą trombocitų agregacijos fazę bei stabdo ADP išskyrimą iš trombocitų ir megakariocitų. Trombocitai neturi branduolio ir nesintetina baltymų, todėl 7–10 dienų laikotarpyje (beveik visą savo gyvavimo periodą) negali atblokuoti COX-1 ir susintetinti TxA_2 . Naujai susidarę trombocitai gali funkcionuoti normaliai. ASR neturi poveikio kitiems trombocitų receptoriams (kolagenui, arachidono r., GPII/IIIa, adrenalinui ir kt.), todėl agregacija visiškai nėra užblokuojama, ir galimos pakartotinos trombozės.

Paskyrus aspirino, ne visada gaunamas teigiamas klinikinis efektas. Pastarųjų metų klinikinėse studijose įrodyta, kad 8-45 proc. žmonių ASR yra nejautrūs arba rezistentiški [149]. Aspirinas, slopindamas PGI_2 sintezę, pablogina prostaglandininę skrandžio gleivinės apsaugą nuo ASR poveikio (dispepsija, pykinimas, pepsinės opos, kraujavimas) [93]. ASR gali sukelti bronchų spazmus, alergines reakcijas ir kt. Vis dėlto, šis vaistas dešimties metų duomenimis plačiausiai naudojamas trumpalaikiam antitrombocitiniam gydymui.

Šioje apžvalgoje pateikti faktai apie hiperhomisteinemijos skatinantį poveikį įvairioms lokalizacijos trombozėms (ypač aktualią galvos smegenų baseine) rodo temos

ir tyrimų aktualumą, kuris akcentuojamas ir pabrėžiamas pasaulinėje literatūroje. Net nedidelis homocisteino koncentracijos padidėjimas gali padidinti trombozės riziką (esant rizikos veiksniams) net keletą kartų. Lietuvoje homocisteino tyrimui skiriamas nepakankamas dėmesys. Trūkstant reikiamos aparatūros ar tinkamo terapinio dėmesio, nėra žinoma, kaip dažnai hHc gali turėti įtakos išeminio smegenų insulto vystymuisi. Antra vertus, preinsultiniame periode ar jau jam išsivysčius, trombocitų funkcinio aktyvumo valdymas antiagregantiniais vaistais (ypač aspirinu) – problema, kurią sprendžia viso pasaulio mokslininkai. Dar nėra galutinai išaiškintas ryšys tarp homocisteino koncentracijos svyravimų, gydymo aspirinu ir trombocitų agregacijos pokyčių insultu sergantiems pacientams.

3. TIRIAMŲJŲ KONTINGENTAS IR TYRIMO METODAI

3.1. Ligonų kontingento bendra charakteristika

Tiriamųjų kontingentą sudarė ligoniai, skubos tvarka patekę į Vilniaus greitosios pagalbos universitetinės ligoninės (viešoji įstaiga VGPUL) priėmimo skyrių dėl aiškios neurologinės simptomatikos. Visiems ligoniams diferencinės diagnostikos tikslais atlikta galvos smegenų kompiuterinė tomografija, siekiant nustatyti išemijos židinį ir jo lokalizaciją. Taip pat atliktas brachicefalinių kraujagyslių dvigubo skenavimo ultragarsu tyrimas, stenozės dydžiui nustatyti, elektrokardiograma, įprastiniai kraujo ir šlapimo tyrimai.

Ištyrėme 205 ligonų homocisteino (Hc) koncentraciją kraujo serume, iš jų 50-ies – trombocitų agregaciją, 184 ligonų – svarbius hematologinius ir biocheminius rodiklius, leidžiančius sąlyginai vertinti kraujo reologijos blogėjimo priežastis, lengvinančias išemijai atsirasti ir trombocitų funkciniam aktyvumui didėti.

Analizuodami atskirų klinikinių ir ligos rizikos veiksnių įtaką Hc koncentracijai ir trombocitų agregacijos ypatybėms, ligonius suskirstėme į grupes pagal amžių, lytį, turinčius ir neturinčius žalingų įpročių, sergančius arterine hipertenzija, cukriniu diabetu, išemine širdies liga, periferinių arterijų ligomis, pagal kraujagyslių stenozės dydį, vartojančius ir nevartojančius antiagregantus. Atliktas kraujo hematologinis tyrimas automatinio hematologinio analizatoriumi (Coulter STKS), nustatytas eritrocitų nusėdimo greitis (ENG) – (Sedimatic-10) ir biocheminiai rodikliai: C reaktyvusis baltymas, bendras cholesterolis, fibrinogenas, kreatininas (ILAB-600).

Trombocitų agregacijai palyginti sudarėme kontrolinę grupę iš sąlygiškai sveikų asmenų: 25 asmenys nuo 31 iki 64 metų (amžiaus vidurkis $45,4 \pm 1,9$ m.), iš jų 17 (68 proc.) vyrų ir 8 (32 proc.) moterys. Hematologiniams parametrų palyginti sudarėme 50 (23 vyrų ir 27 moterų) sąlygiškai sveikų žmonių grupę nuo 33 iki 78 metų (amžiaus vidurkis $63,7 \pm 2,1$ m.).

Ligoniai arba jų artimieji buvo apklausiami pagal specialią anketą.

Į tyrimą įtraukti ligoniai, atitinkantys šiuos kriterijus:

- nuo simptomų pradžios praėjo 24 val. ir daugiau;
- diagnozuotas išeminis insultas;
- sutiko būti tiriami.

Į tyrimą neįtraukiami ligoniai, kuriems nustatyta:

- inkstų nepakankamumas, reikalaujantis dializės;
- negydyta anemija ar negydyta B₁₂ vitamino stoka;
- sunki depresija;
- alkoholizmas;
- prieš tyrimą 30 dienų vartojo medikamentus, kurie veikia Hc koncentraciją (methotrexate, tamoxifen, levodopa, niacin, phenytoin) ar tulžies rūgšties sekvestravimą (gali sumažinti folatų kiekį);
- nuolat vartojo kitus nesteroidinius priešuždegiminius preparatus;
- nėštumas.

Pagrindinės ligos diagnozė nustatyta VŠĮ VGPUL neurologijos skyriuje, remiantis klinikinio ištyrimo duomenimis (anamneze, ligonio objektyviu ištyrimu, EKG, biocheminiais, hematologiniais kraujo tyrimais, kompiuterine tomografija ir kt.), patvirtinta išeminio insulto diagnozė.

125 ligoniai sirgo ūminiais galvos smegenų kraujotakos sutrikimais:

10 (8 proc.) iš jų diagnozuota PSIP,

15 (12 proc.) anamnezėje persirgę insultu,

100 (80 proc.) ligonių diagnozuotas ūminis išeminis galvos smegenų insultas.

3.2. Tyrimų schema ir apimtys

Visi ligoniai ištirti po klinikinės diagnozės verifikavimo klinikiniais ir instrumentiniais metodais stacionarizavimo dieną iki gydymo pradžios. Papildomų specializuotų tyrimų kompleksą sudarė:

a) trombocitų agregaciją apibūdinantys žymenys:

trombocitų agregacija turtingoje trombocitais plazmoje, naudojant agregacijai sužadinti tris pagrindinius natūrinius agonistus (adenozino difosfatą – ADP, kolageną – KOL ir adrenalina – ADR);

spontaninė trombocitų agregacija (kai nenaudojami jokie induktoriai);

b) bendra homocisteino (Hc) koncentracija kraujo serume;

c) krešėjimo sistemos biocheminiai mėginiai (plazmos fibrinogeno koncentracija);

d) hematologinis kraujo tyrimas (atkreipiant dėmesį į trombocitų skaičių).

3.3. Kraujo paėmimas

Kraujo paėmimas trombocitų agregacijai yra savarbi procedūra, nes privalu laikytis griežtų reikalavimų trombocitų funkcijos ir morfologijos išsaugojimui. Kraujas turi būti imamas į mėgintuvėlius su natrio citratu, ėmimo metu neturi būti sudarytos sąlygos rankos išemizacijai dėl timpos per didelio užspaudimo, adatos vidinis diametras neturi būti mažesnis nei 1 mm ir tyrimai turi būti atlikti ne vėliau 60 min.

Kraujo ėminiai trombocitų agregacijai ir homocisteino koncentracijai nustatyti buvo imami nedelsiant, patekus į ligoninės stacionarą (iki gydymo pradžios). Pacientų ar jų artimųjų paklausta, ar ligonis vartojo aspiriną (ASR), jeigu vartojo, kokiomis dozėmis.

Kraujas homocisteino koncentracijai kraujo serume nustatyti buvo imamas iš dilbio venos į vakuuminius mėgintuvėlius raudonu dangteliu. Laikas nuo kraujo paėmimo iki centrifugavimo buvo neilgesnis nei 30 min.

Kraujas trombocitų agregacijai (TA) tirti buvo imamas iš dilbio venos į 5 ml vakuuminius mėgintuvėlius (Na_3 citr.buffered 9NC Venoject VT-050SBCS, Italy) su 3,8 proc. natrio citratu. Turtingą trombocitais plazmą (TTP) gavome centrifuguodami kraują 1000 aps/min. (111 g), 15 min. kambario temperatūroje. Betrombocitinę plazmą (PPP) ruošėme centrifuguodami turtingą trombocitų plazmą 3000 aps/min. (1006 g) 30 min. Laikas nuo kraujo paėmimo iki agregacijos analizės buvo neilgesnis nei 60 min.

3.4. Trombocitų agregacijos tyrimo metodas trombocitais turtingoje plazmoje (TTP)

Trombocitų agregaciją TTP plazmoje tyrėme specialiu trombocitų dvikanaliu agregometru (Chrono-Log, JAV), pasinaudodami standartiniu Borno metodu [29], kuriuo nustatėme trombocitinės plazmos optinio tankio pokytį, apskaičiuotą santykiniais procentais, trombocitams besiagreguojant. Trombocitinę ir betrombocitinę plazmą, maišydami specialia maišykle, kiuvetėse po 450 μl inkubavome esant 37°C, po 1,5 min. patikrinę padalų skalę, pipete supylėme 10 μl inhibitoriaus. Agregacijai sužadinti naudojome adenoizino difosfatą (ADP – 3,8 $\mu\text{mol/l}$, Chrono-log P/N 384), adrenaliną (ADR – 4,5 $\mu\text{mol/l}$, oficialinis preparatas) ir kolageną (KOL – 1 $\mu\text{mol/l}$, Chrono-log P/N 385). Agregacijos tyrimo trukmė buvo ne ilgesnė kaip 15 min.

3.5. Neindukuotos trombocitų agregacijos tyrimo metodas trombocitais turtingoje plazmoje

Spontaninė trombocitų agregacija (be induktorių adenozino difosfato, kolageno, adrenalino), maišant tiriamąją plazmą, buvo tiriama turtingoje trombocitais plazmoje, panaudojant analogišką techniką ir metodiką. Tokiu būdu vertinome savaiminį trombocitų sulipimą, kuris gali vykti ir natūralioje kraujotakoje, o susidarę plaukojantys trombocitų agregatai apsunkina kraujo tėkmę.

3.6. Fibrinogeno koncentracijos nustatymo metodas

Fibrinogeno koncentraciją kraujo plazmoje tyrėme labiausiai rekomenduojamu Clauss'o metodu pusiau automatiniu analizatoriumi (START 4, Diagnostica Stago, Prancūzija). Krešant plazmai, fibrinogeno kiekį nustatėme, naudodami reagentą Fibri-Prest Automate 2 ir Owren-Koller buferinį tirpalą (Diagnostica Stago, Prancūzija). Prietaisu išmatavome, per kiek laiko sukreša tiriamoji plazma. Fibrinogeno koncentraciją tiriamojoje plazmoje apskaičiavome pagal kalibracinę kreivę. Fibrinogeno koncentraciją vertinome g/l (norma – 2–4 g/l).

3.7. Vidinė ir išorinė krešėjimo sistemos tyrimų kokybės kontrolė

Vidinę tyrimų kokybės kontrolę laboratorijoje atlikome, naudodami Diagnostica Stago (Prancūzija) normalias ir patologines kontrolines plazmas (Scandinorm ir Scandipath). Tarptautinę (išorinę) kontrolę atlikome, vykdydami Pasaulio Sveikatos Organizacijos tarptautinio išorinės kokybės vertinimo centro (World Heath Organisation International External Quality Assessment Scheme for Blood Coagulation, UK) programą. Dėl kokybės kontrolės (vidinės ir išorinės) iš atitinkamų centrų gautos nežinomos sudėties liofilizuotos kraujo plazmos, kurias per nurodytą laiką reikėjo ištirti ir duomenis išsiųsti į centrą rezultatams verifikuoti. Netilpus į mėginių referentines reikšmes, buvo gaunami nurodymai, kaip patobulinti tyrimo techniką ar metodiką.

3.8. Homocisteino koncentracijos nustatymo metodas

Kraują homocisteino koncentracijai kraujo serume nustatyti ėmėme iš dilbio venos į vakuuminius mėgintuvėlius su raudonu dangteliu. Homocisteino koncentraciją kraujo serume nustatėme automatiniu imunofermentiniu Imx analizatoriumi (ABBOT,

JAV). Tyrimo rezultatus įvertinome poliarizuotoje šviesoje. Metodo pagrindas – homocisteino, mišraus disulfido, sujungto su baltymais homocisteino, veikiant ditionitritolui (DTT), redukavimas į laisvą homocisteiną. Laisvas homocisteinas verčiamas į S-adenozil-L-homocisteiną (SAH), dalyvaujant adenzinui ir veikiant fermentui S-adenozil-L-homocisteino hidrolazei (SAH-hidrolazei). Šioje reakcijoje prieš S-adenozil-L-homocisteiną naudojami pelių monokloniniai antikūniai [212]. Rezultatai apskaičiuojami $\mu\text{mol/l}$ (norma šiuo metodu – vyrams iki 30 metų – 10–14 $\mu\text{mol/l}$; 30–59 metų – 10–16 $\mu\text{mol/l}$; 60–84 metų – 10–17 $\mu\text{mol/l}$; vyresnių nei 85 metų – 17–30 $\mu\text{mol/l}$; moterims – 10–14 $\mu\text{mol/l}$). Pageidaujama reikšmė – 5–10 $\mu\text{mol/l}$. [235].

3.9. C-reaktyviojo baltymo koncentracijos nustatymo metodas

C-reaktyviojo baltymo koncentraciją kraujo serume tyrėme, naudodami MININEPH nefelometrą AD 200 (THE BINDING SITE LTD, Anglija). Antikūnų/antigenų reakcijos metu išskaidoma šviesa proporcinga antikūnų/antigenų kompleksų kiekiui ir fiksuojama fotodiodo. Šviesos šaltinis – lazerinis diodas, skleidžiantis 670 nm bangos spindulius. Koncentruotos šviesos spindulys praeina pro vienkartinio naudojimo kiuvetę su reakcijos mišiniu. Vidinę kokybės kontrolę atlikome, naudodami MININEPH CRB aukštą ir žemą kontroles (norma – $<10 \text{ mg/l}$).

3.10. Statistinė analizė

Duomenų analizę atlikome, naudodami programų paketą SPSS/w 13,0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., USA) ir standartines Windows aplinkos Excel programas.

Analizuojant požymius buvo tikrinamos hipotezės apie vidurkių ir dažnių skirtumus bei požymių tarpusavio priklausomybę. Statistinis patikimumas vertintas, kai $p < 0,05$. Kai $0,01 < p \leq 0,05$, lygybės hipotezė buvo atmetama, ir požymis laikytas statistiškai reikšmingu, o nustačius, kad $p \leq 0,01$, lygybės hipotezė buvo atmetama ir požymis, analizuojamo kito rodiklio atžvilgiu, laikytas statistiškai labai reikšmingu. Esant $p \geq 0,05$, lygybės hipotezė neatmesta ir požymis, nusakantis grupes, laikytas statistiškai nereikšmingu.

Dviejų grupių vidurkiams palyginti, esant normaliniam skirstiniui, taikytas Stjudento t-testas nepriklausomoms ar porinis Stjudento t-testas susijusioms grupėms. Kai grupių buvo daugiau nei dvi – dispersinė analizė (ANOVA). Kiekybiniai duomenys, neturėję normaliojo skirstinio, lyginti neparametrinių dydžių lyginamaisiais testais.

Nustatant įvairių parametrų tarpusavio ryšį naudotasi koreliacine analize, apskaičiuojant Pearsono koreliacijos koeficientą ir nubrėžiant regresines tieses. Jei $0 < r \leq 0,3$, dydžiai silpnai priklausomi, jei $0,3 < r \leq 0,8$, vidutiniškai priklausomi, jei $0,8 < r \leq 1$, stipriai priklausomi.

4. REZULTATAI

4.1. Homocisteino koncentracijos pokyčiai, sergant išeminiu insultu

4.1.1. Bendra ligonių charakteristika ir homocisteino koncentracija

Sergančiųjų galvos kraujagyslių išemine liga vidutinė homocisteino (Hc) koncentracija kraujo plazmoje buvo $13,3 \pm 0,8$ $\mu\text{mol/l}$. Tipinis variacinės eilės dydis – mediana – $12,2$ $\mu\text{mol/l}$. Naudodami šį statistikos rodiklį, ligonius pagal Hc koncentracijos dydį suskirstėme į dvi grupes – nesiekiančius medianos lygio ir jį viršijančius. 50 proc. ligonių Hc koncentracija buvo mažesnė kaip $12,2$ $\mu\text{mol/l}$. Atmetę didžiausią ir mažiausią Hc koncentracijos reikšmes, gautus rezultatus suskirstėme į kvartiles: Q1 – $6,5$ – $10,2$ $\mu\text{mol/l}$, Q2 – $10,3$ – $12,2$ $\mu\text{mol/l}$, Q3 – $12,3$ – $13,7$ $\mu\text{mol/l}$, Q4 – $13,8$ – $23,3$ $\mu\text{mol/l}$.

4.1.1 lentelė. Palyginamoji ligonių charakteristika, esant skirtingai homocisteino koncentracijai (atvejų skaičius procentais)

	Homocisteino $\leq 12,2$ $\mu\text{mol/l}$	Homocisteino $> 12,2$ $\mu\text{mol/l}$	p
	%	%	
Lytis (vyrai)	50	63,6	SN
Ligonių amžius > 60 metų	64,3	63,6	SN
Arterinė hipertenzija	61	63,6	SN
Išeminė širdies liga	28,6	54,5	$< 0,005$
miokardo infarktas (MI)	0	9,1	$< 0,05$
išeminė širdies liga be MI	28,6	45,5	$< 0,05$
Cukrinis diabetas	7,1	18,2	SN
Rūkymas	14,3	45,5	$< 0,001$
Periferinių kraujagyslių ligos	0	1	SN
Antsvoris	14,3	18,2	SN
Insultas, PSIP	100	91,9	SN
Ūmus insulto periodas	97,1	97,8	SN
Visiškai priklausomas po insulto	7,7	44,4	$< 0,001$
Stenozė VMA > 50 proc.	21,4	72,7	$< 0,001$
CRB ($\mu\text{mol/l}$)	$5,1 \pm 0,3$	$9,3 \pm 0,9$	$< 0,001$
Fibrinogenas (g/l)	$3,8 \pm 0,001$	$4,1 \pm 0,001$	$< 0,001$
Kreatininas ($\mu\text{mol/l}$)	$96,5 \pm 0,001$	$107,5 \pm 0,001$	$< 0,001$
Bendras cholesterolis (mmol/l)	$5,6 \pm 0,2$	$5,8 \pm 0,3$	SN

PSIP – praeinantis smegenų išemijos priepuolis, VMA – vidinė miego arterija, SN – statistiškai nepatikima, jeigu $p > 0,05$.

4.1.1 lentelėje pateikti duomenys rodo, kad tarp tirtų ligonių, kurių Hc koncentracija didesnė kaip 12,2 $\mu\text{mol/l}$, statistiškai patikimai rasta dvigubai daugiau ligonių, sergančių išemine širdies liga, neatsižvelgiant į tai, ar jie sirgo ar nesirgo miokardo infarktu. Nustatyta, kad Hc koncentracija didesnė ir ligonių, visiškai priklausomų nuo galvos smegenų insulto, rūkančių, esant VMA stenozei > 50 proc., padidintoms (nors ir nežymiai virš normos) fibrinogeno ir kreatinino koncentracijoms. Šie duomenys teikia pirminę informaciją apie Hc ryšį su smegenų kraujagyslių patologija, pabloginančia klinikines išėtis. Gilesnė duomenų analizė šias prielaidas dar labiau patvirtino (4.1.2 lent.).

4.1.2 lentelė. Klinikinių ir rizikos veiksnių ir padidintos homocisteino koncentracijos kraujo serume sąveika pagal logistinės regresinės analizės rezultatus

	Šansų santykis	95 proc. pasikliautinis intervalas	p
VMA > 50 proc.	14,3	3,2–60	<0,001
Lytis (vyrai)	1,1	0,7–8,4	SN
Ligonių amžius >60 m.	4	1–60	SN
Arterinė hipertenzija	1,1	0,8–10	SN
Išeminė širdies liga	9,2	2,3–21	<0,005
Cukrinis diabetas	1,2	0,9–6	SN
Antsvoris	1,3	0,8–3	SN
Insultas, PSIP	0,7	0,2–10	SN
Rūkymas	4,5	0,8–21	SN
Periferinių arterijų ligos	1	0,8–5	SN
Insulto sunkumas	10,4	1,1–50	<0,05
C- reaktyvusis baltymas	3,2	0,9–15	<0,05
Fibrinogenas	1,3	0,4–5	SN
Kreatininas	4,6	1,1–10	<0,05
Bendras cholesterolis	1,2	0,8–2	SN

Logistinės regresijos analizės metodu patvirtinta, kad Hc koncentracija statistiškai patikimai padidėja, kai vidinės miego arterijos (VMA) susiaurėjimas didesnis kaip 50 proc., palyginti su mažesnio laipsnio stenoze (šansų santykis 14,3; 95 proc. pasikliautinis intervalas 3,2–60,0), sergant išemine širdies liga (šansų santykis 9,2; 95 proc. pasikliautinis intervalas 2,3–21,0), sergant insultu su dideliu neurologiniu deficitu (šansų santykis 10,4; 95 proc. pasikliautinis intervalas 1,1–50,0), esant padidėjusiam kreatinino kiekiui kraujo serume (šansų santykis 4,6; 95 proc. pasikliautinis intervalas 1,1–10,0), esant padidėjusiam C-reaktyviajam baltymui (šansų santykis 3,2; 95 proc. pasikliautinis intervalas 0,9–15,0)

4.1.2 lentelėje pateikti duomenys akivaizdžiai rodo, kad padidėjusi Hc koncentracija dažniau randama, jeigu labiau išreikšta VMA stenozė, vystosi išeminė širdies liga, sunkesnė insulto klinika ir padidėjus CRB.

4.1.2. Rizikos veiksniai, VMA stenozės laipsnis (<50 proc. ir >50 proc.) ir hiperhomocisteinemia

Tyrėme 125 ligonių VMA patologiją dvigubo skenavimo metodu. Ligoniai, kurių VMA stenozė >50 proc., vyresni (amžiaus vidurkis $64,8 \pm 0,9$ metai), palyginti su tais, kurių stenozė <50 proc. (amžiaus vidurkis $57,9 \pm 1,4$ metai) ($p < 0,001$). Tarp ligonių, kurių VMA stenozė >50 proc., buvo 72,7 proc. tiriamų vyrų, o tarp tų, kurių VMA stenozė <50 proc., vyrų buvo 42,9 proc. ($p < 0,001$). Dažniau galvos smegenų insultu sirgo tie, kurių stenozė >50 proc., nei tie, kurių VMA stenozė <50 proc. (atitinkamai 100 proc. ir 85,7 proc., $p < 0,05$). Dauguma turėjo didelį atsvorį (27,3 proc. ir 7,1 proc., $p < 0,005$).

Vidutinė Hc reikšmė, kai VMA stenozė >50 proc., siekė $14 \pm 0,5$ $\mu\text{mol/l}$, o kai VMA susiaurėjimas buvo mažesnis negu 50 proc. – $10,9 \pm 0,2$ $\mu\text{mol/l}$ ($p < 0,001$) (4.1.3. lent.).

4.1.3 lentelė. Ligonių bendrosios charakteristikos skirtumai (procentais), kai VMA susiaurėjimas >50 proc. ir <50 proc.

	VMA stenozė <50 proc. (n=70)	VMA stenozė >50 proc. (n=55)	p
	%	%	
Lytis:			
vyrų	42,9	72,7	<0,001
moterų	57,1	27,3	
Amžius, metai	$57,9 \pm 1,4$	$64,8 \pm 0,9$	<0,001
Arterinė hipertenzija, %	55,7	58,2	SN
Išeminė širdies liga, %	28,6	34,5	SN
Cukrinis diabetas, %	7,1	18,2	SN
Periferinių arterijų ligos, %	2,8	1,8	SN
Antsvoris, %	7,1	27,3	<0,005
Rūkymas, %	21,4	36,4	SN
Insultas, PSIP, %	85,7	100,0	<0,05
Visiškai priklausomas po insulto, %	16,7	30,0	SN
Hipercholesterolemija, %	57,1	63,6	SN
Hc, $\mu\text{mol/l}$	$10,9 \pm 0,2$	$14 \pm 0,5$	<0,001

Gauti duomenys neginčijamai patvirtina statistiškai patikimą ryšį tarp padidintos Hc koncentracijos ir kliniškai reikšmingos VMA stenozės, kurią galėjo paspartinti esanti hipercholesterolemija bei ryškus kūno masės padidėjimas.

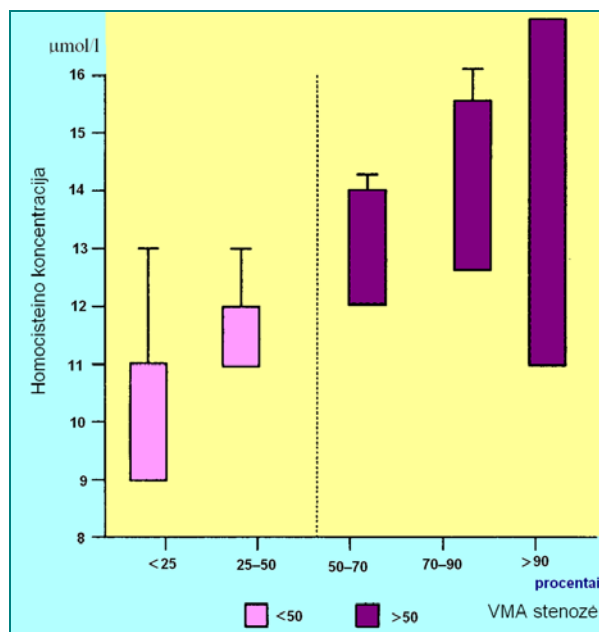
4.1.3. Homocisteino koncentracija ir VMA stenozės laipsnis

Logistinės regresinės analizės metodu nustatėme, kad VMA susiaurėjimas statistiškai patikimai didėja vyresniems ligoniams (jeigu amžius >60 metų, šansų santykis 9,5; pasikliautinis intervalas 95 proc. 2,2–40,0), augant antsvoriui (šansų santykis 19,1; pasikliautinis intervalas 95 proc. 3–15) ir Hc koncentracijai (šansų santykis 19,9; pasikliautinis intervalas 95 proc. 11–60). Statistiškai patikimas ryšys gautas tarp Hc ir VMA susiaurėjimo >50 proc., nors šansų santykis sumažėja iki 15,2 (pasikliautinis intervalas 95 proc. 6–45; $p < 0,001$). Kreatinino ar CRB koncentracijų pokyčiai nepakeičia ryšio tarp Hc ir VMA susiaurėjimo.

4.1.4 lentelė. VMA susiaurėjimo laipsnio priklausomybė nuo įvairių klinikinių ir rizikos veiksnių

	Šansų santykis	95 proc. pasikliautinis intervalas	p
Homocisteinas >12,2 $\mu\text{mol/l}$	19,9	11,0–60,0	<0,001
Lytis (vyrai)	2,5	0,8–8,0	SN
Ligonių amžius >60 metų	9,5	2,2–40,0	<0,001
Arterinė hipertenzija	1	0,5–4,0	SN
Išeminė širdies liga	2,2	0,7–7,2	SN
Cukrinis diabetas	0,3	0,05–1,8	SN
Periferinės arterijų ligos	0,8	0,5–10,0	SN
Antsvoris	19,1	3,0–15,0	<0,005
Rūkymas	1,7	0,5–5,0	SN
Insultas, PSIP	1,5	0,8–6	SN
Insulto sunkumas	2,1	1–6	SN
Hipercholesterolemija	1,2	0,8–5	SN

4.1.4 lentelės duomenys rodo, jeigu Hc koncentracija didesnė kaip 12,2 $\mu\text{mol/l}$, drauge su amžiumi ir antsvoriu sudaro didesnę riziką galvos smegenų insultui išsivystyti. Šį teiginį patvirtina daugiaveiksnė analizė. Įdomu tai, kad nei hipercholesterolemija, nei rūkymas ar arterinė hipertenzija paminėtų santykių iš esmės nekeičia.



9 pav. Ryšys tarp VMA stenozės laipsnio ir homocisteino koncentracijos.

9 paveiksle pateikti duomenys rodo, kad VMA stenozė tiesiogiai asocijuojasi su didėjančia Hc koncentracija. Vidutinė homocisteino koncentracija $13,3 \pm 0,8$ $\mu\text{mol/l}$. Esant VMA stenozei <50 laipsnių Hc koncentracija šios reikšmės nesiekė, o susiaurėjus VMA daugiau kaip 50 laipsnių, Hc svyravo nuo 11 iki 17 $\mu\text{mol/l}$, t.y. reikšmingai aukščiau normalių skaičių.

4.1.4. Ligonių, kurių homocisteino koncentracija kraujo serume padidėjusi arba normali, lyginamoji charakteristika

30-ies ligonių (nuo 21 iki 77 metų), sergančių galvos kraujagyslių išemine liga, vidutinė bendro homocisteino koncentracija kraujo serume siekė $13,3 \pm 0,9$ $\mu\text{mol/l}$ (nuo 6,5 $\mu\text{mol/l}$ iki 26,14 $\mu\text{mol/l}$). Ji viršijo normalią 22 ligonių (73,3 proc.) kraujyje (vidurkis – $16,6 \pm 4,6$ $\mu\text{mol/l}$). Kas penkto ligonio (iš viso 6 ligoniai) Hc koncentracija viršijo 15 $\mu\text{mol/l}$, bet 8-ių ligonių Hc kiekis buvo normalus (vidurkis $8,8 \pm 1,1$ $\mu\text{mol/l}$) (4.1.5 lent.).

Nustatėme, kad ligoniai, kurių Hc kiekis padidėjęs, vyresni ($64,5 \pm 2,9$ metų) negu tie, kurių Hc koncentracija buvo normali ($58,8 \pm 2,8$ metų, $p < 0,005$). Vyrų ir moterų (13 moterų ir 17 vyrų) Hc kiekis kraujo serume skyrėsi. Padidėjęs Hc kiekis buvo nustatytas 10 vyrų (45,5 proc.) ir 12 moterų (54,5 proc.) (procentai skaičiuoti nuo padidinto Hc), o normali Hc koncentracija – 62,5 proc. vyrų ir 37,5 proc. moterų. Visų ligonių, kurių Hc padidintas, 30,4 proc. rūkalių, o iš ligonių, kurių Hc normali, rūkalių – 25 proc.

4.1.5 lentelė. Ligonų, kurių homocisteino koncentracija kraujo serume padidėjusi ir normali, lyginamoji charakteristika (procentais)

	Padidintas Hc (n=22)	Normalus Hc (n=8)	p
Ligonų amžius, metai	64,5±2,9	58,8±2,8	
Lytis:			
Vyrų, %	45,5	62,5	NS
Moterų, %	54,5	37,5	NS
Rūkymas, %	30,4	25,0	NS
Arterinė hipertenzija, %	95,7	100	NS
Cukrinis diabetas, %	13	0	NS
Išeminė širdies liga:	66,7	29,2	NS
miokardo infarktas (MI), %	33,3	0	<0,05
stenokardija be MI, %	33,3	29,2	NS
Virpamoji aritmija, %	33,3	4,2	<0,05
Periferinių arterijų ligos, %	0	0	NS

NS – nepatikima statistiškai, n – ligonių skaičius.

Padidėjusi homocisteino koncentracija dažniau buvo randama sirgusių miokardo infarktu serume (atitinkamai 33,3 proc. ir 0 proc., $p<0,05$). Jiems taip pat dažniau išsivystydavo virpamoji aritmija (33,3 proc. ir 4,2 proc., $p<0,05$). Beveik visi abiejų grupių ligoniai turėjo padidėjusią arterinį kraujospūdį (daugiau kaip 160/90 mmHg, buvo matuojamas tris kartus atsitiktine tvarka). Cukriniu diabetu sirgusiems ligoniams homocisteino kiekis taip pat buvo padidintas (atitinkamai 13 proc. ir 0 proc.).

Ligonų, kurių Hc koncentracija padidėjusi ir normali, kiti hematologinių ir biocheminių rodmenų pakitimai pateikti 4.1.6 lentelėje.

4.1.6 lentelė. Homocisteino koncentracija ir kiti kraujo ir biocheminiai rodikliai

	Padidinta Hc koncentracija (n=22)	Normali Hc koncentracija (n=8)	p
Leukocitai, $10^9/l$	10,3±1,4	8,8±0,8	NS
ENG, mm/h	16±5	5,5±3	NS
C reaktyvusis baltymas, mg/l	26±3	8±2	NS
Bendras cholesterolis, mmol/l	5,6±0,3	4,5±0,1	<0,05
Fibrinogenas, g/l	5,0±0,1	3,6±0,2	<0,05
Kreatininas, $\mu\text{mol/l}$	120±11	99±3	<0,05

NS – nepatikima statistiškai.

Iš 4.1.6 lentelės matome, kad ligonių, kurių Hc buvo padidėjęs, statistiškai patikimai dažniau buvo padidėjusi ir fibrinogeno (atitinkamai 5,0±0,1 ir 3,6±0,2 g/l, $p<0,05$), kreatinino (120±11 ir 99±3 $\mu\text{mol/l}$, $p<0,05$) bei bendrojo cholesterolio (5,6±0,3

ir $4,5 \pm 0,1$ mmol/l, $p < 0,05$) koncentracija kraujo serume. Visi šie patologiniai nuokrypiai (hiperfibrinogenemija, padidintas kreatininas ir dislipidemija) nurodo reikšmingus pasikeitimus ligonių biocheminiuose metabolizmo keliuose, spartinančius kraujotakos sutrikimus.

Neradome statistiškai patikimos koreliacijos tarp padidėjusios Hc ir C-reaktyviojo baltymo koncentracijos. Esant padidėjusiai Hc koncentracijai, CRB vidutinė koncentracijos reikšmė siekė 26 ± 3 mg/l. Ligonų, kurių homocisteino koncentracija buvo padidėjusi, leukocitų skaičius nors ir didėjo, bet tas pokytis buvo statistiškai nepatikimas ($10,3 \pm 1,4 \cdot 10^9$ g/l). Kiti hematologiniai ir biocheminiai rodmenys statistiškai patikimai nesiskyrė.

4.1.5. Insulto etiologija ir homocisteino koncentracija kraujo serume

Vertindami insulto etiologijos ir homocisteino koncentracijos kraujo serume tarpusavio priklausomybę (4.1.7 lent.), nustatėme, kad statistiškai patikimai homocisteinas padidėjo ligonių, kurių galvos smegenų insultas išsivystė dėl kardioembolijos (13 proc. ir 0 proc., $p < 0,05$).

4.1.7 lentelė. Galvos smegenų insulto etiologijos ir homocisteino koncentracijos tarpusavio ryšiai (procentais)

	Padidinta Hc koncentracija (n=22)	Normali Hc koncentracija (n=8)	p
Aterosklerozė, %	65,2	85,7	NS
Kardioembolija, %	13	0	$p < 0,05$
Smulkių kraujagyslių liga, %	4,3	14,3	NS

Reikia pabrėžti, kad tarp ligonių, kurių Hc koncentracija buvo didesnė kaip $15 \mu\text{mol/l}$, užregistruoti net 33,3 proc. kardioembolinės kilmės insultai (palyginti 4,2 proc., kai Hc koncentracija buvo mažesnė negu $15 \mu\text{mol/l}$, $p < 0,005$).

Kardioembolinės kilmės insultai dažniausiai vystosi kai ligoniai patiria širdies ritmo sutrikimus, ypač prieširdžių virpėjimą. Padidina tokių komplikacijų riziką besivystanti miego arterijų stenozė dėl aterosklerotinių plokštelių tūrio progresavimo ir galimo obturuojančio trombo susidarymo esant padidintam trombocitų funkcijos aktyvumui. Visos šios priežastys sparčiau progresuoja hHc sąlygomis ir buvo stebimos tirtiems ligoniams.

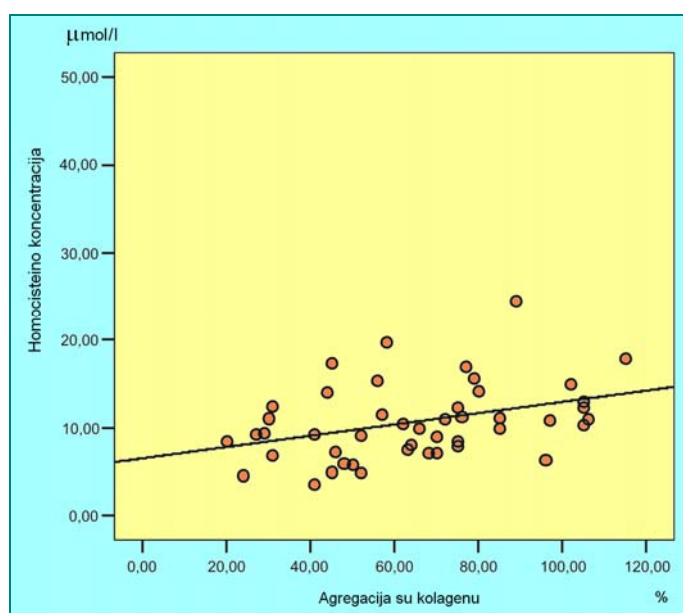
4.2. Homocisteino koncentracija ir trombocitų funkcija

Nustatėme trombocitų funkcijos pakitimus, pasireiškiančius jų agregacijos intensyvumo nuokrypiais, sergančiųjų ūminiais galvos smegenų kraujotakos sutrikimais (išeminis insultas, PSIP), taip pat įvertinome homocisteino koncentracijos poveikį trombocitų agregacijai priklausomai nuo kraujotakos sutrikimų laipsnio, ligonių lyties, amžiaus, kitų rizikos veiksnių ir nustatėme jų tarpusavio ryšio diagnostinę vertę. Ištyrėme trombocitų agregaciją, sužadintą adenozino difosfatu, adrenalinu ir kolagenu, turtingoje trombocitų plazmoje bei ištyrėme homocisteino koncentraciją kraujo serume.

Tirtų ligonių, sirgusių ūmiu galvos smegenų kraujotakos sutrikimu, Hc koncentracijos vidurkis sudarė $12,4 \pm 0,9$ $\mu\text{mol/l}$. Ši koncentracija yra didesnė už normalią (5–10 $\mu\text{mol/l}$).

Homocisteino koncentracija kraujo serume buvo padidėjusi 29 iš 50 ligonių (58 procentai nuo visų ligonių). Visų tirtųjų Hc svyravo nuo 4,89 $\mu\text{mol/l}$ iki 40,2 $\mu\text{mol/l}$. 70-ies procentų tirtų ligonių Hc koncentracija buvo per 9 $\mu\text{mol/l}$, 50-ies procentų – per 11 $\mu\text{mol/l}$, 22-iejų procentų – viršijo 15 $\mu\text{mol/l}$.

24 ligonių (8,3 proc.) trombocitų agregacija buvo normali, o Hc koncentracija buvo didesnė nei 10 $\mu\text{mol/l}$. Tuo tarpu kitoje grupėje (26 ligoniai), kurios trombocitų agregacija buvo padidėjusi, Hc koncentracija buvo didesnė kaip 10 $\mu\text{mol/l}$ net 30,8 proc. ligonių ($p < 0,05$). Palyginus trombocitų agregaciją su visais induktoriais ir Hc koncentraciją, statistškai patikimai gauta koreliacija tarp trombocitų agregacijos su KOL ir padidėjusios Hc koncentracijos ($r = 0,376$, $p < 0,01$) (10 pav.).

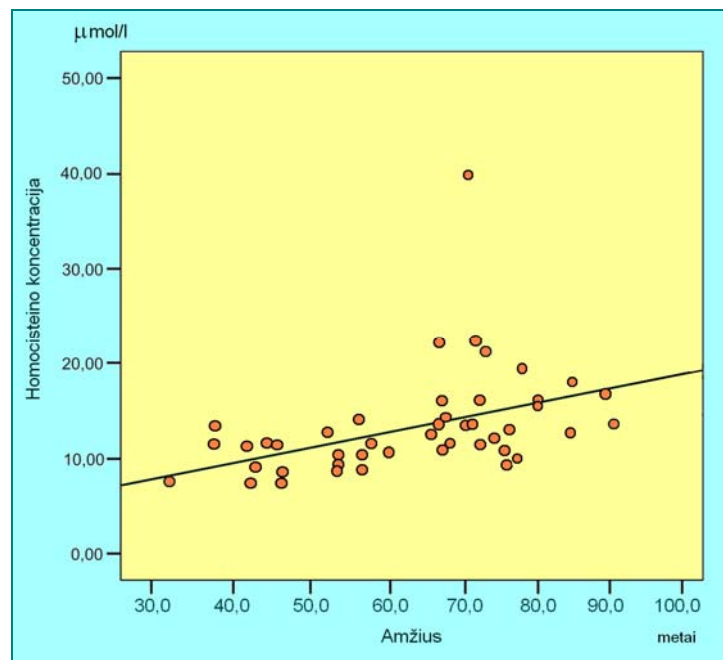


10 pav. Koreliacija tarp trombocitų agregacijos (induktorius kolagenas) ir homocisteino koncentracijos padidėjimo.

Pateikti duomenys parodė, kad trombocitų agregacijos išraiška ne visada tiesiogiai priklauso nuo Hc koncentracijos. Esant žemoms Hc koncentracijoms trombocitų agregacijos intensyvumas taip pat yra žemesnis, bet didėjant ir ypač ryškiai viršijant normalias Hc reikšmes agregacijos intensyvumas progresyviai auga. Tai leidžia teigti, kad hHc yra ne tik palengvinanti insultui vystytis aplinkybė, bet ir trombocitų agregacijos skatintojas, įsiterpiantis į galvos smegenų insulto etiopatogenezę.

4.3. Ligonų amžiaus ir homocisteino koncentracijos ryšys

Juo ligonis vyresnis, juo Hc koncentracija kraujyje didėjo (Pearsono koreliacijos koeficientas $r=0,357$, $p=0,015$) (11 pav.). Tarp amžiaus ir trombocitų agregacijos statistiškai patikimos koreliacijos negauta.

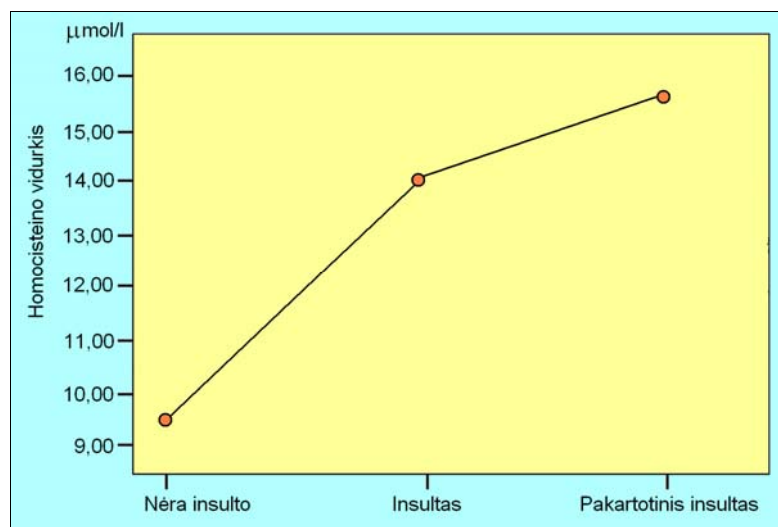


11 pav. Ligonų amžiaus ir homocisteino koncentracijos kraujo serume tarpusavio ryšys.

Nepaisant to, kad homocisteino koncentracija su amžiumi didėja palyginti lėtai, galima išvelgti šio reiškinio gana pavojingą įtaką trombozėms išsivystyti, nes net nedaug padidėjusi Hc koncentracija (keletu $\mu\text{mol/l}$), padidina trombozės riziką keletą kartų. Šie rezultatai svarstant trombozių vystymosi riziką analizuojami retai, esant įprastiniams rizikos veiksniams. Lietuvoje apie hHc epidemiologiją ir jos įtaką kraujagyslinių ligų susirgimams dar iš viso nekalbama. Tai susiję ne tik su metodiniais nustatymo sunkumais (metodika brangi ir reikalauja tikslios chromatografinės technikos), bet ir su nuomone, kad hHc galima lengvai koreguoti nebrangiomis priemonėmis net ir neįrodžius jos būvimą pas ligonį.

4.4. Homocisteino koncentracija ir galvos smegenų kraujotakos sutrikimų sunkumas

Homocisteino rodikliai ligonių, sergančių PSIP, insultu, pakartotiniu insultu, pateikti 4.4.1 lentelėje. Statistiškai patikimi duomenys rodo, kad homocisteino kiekis didėja, sunkėjant galvos smegenų kraujotakos sutrikimams ir jiems kartojantis (4.4.1 lentelė; 12 pav.). Iš mūsų tirtų susirgimų praeinantį smegenų išemijos priepuolį lydi mažiausias Hc koncentracijos padidėjimas. Taigi smegenų kraujotakos sutrikimams yra būdingas Hc koncentracijos padidėjimas gali būti prilygintas predisponuojančiam šių susirgimų prognostiniam žymeniui. Reikia pažymėti, kad išsivysčius pakartotiniam insultui Hc koncentracija dar didesnė, todėl periodinis šio žymens nustatymas galėtų pasitarnauti pakartotinių insultų prevencijai ir tapti pagrindu atitinkamam medikamentiniam gydymui.



12 pav. Ryšys tarp homocisteino koncentracijos ir galvos smegenų kraujotakos sutrikimo pobūdžio.

4.4.1 lentelė. Homocisteino koncentracija ir galvos smegenų kraujotakos sutrikimo pobūdis

Kraujotakos sutrikimo pobūdis	Hc koncentracija, μmol/l
PSIP	9,38±0,57
Insultas	13,9±1,16
Pakartotinis insultas	15,5±5,19

Hc – homocisteinas; $p=0,048<0,05$ (ANOVA)

4.5. Ūminiai galvos smegenų kraujotakos sutrikimai ir trombocitų funkcijos aktyvumas

Trombocitų funkcinį aktyvumą ištyrėme 50 ligonių (20 vyrų, 30 moterų) nuo 33 iki 98 metų (amžiaus vidurkis $63,7 \pm 2,1$ m.), sergančių galvos kraujagyslių liga ūmaus periodo metu (18 sergančių PSIP ir 32 – išeminiu insultu). Diagnozė buvo patvirtinta KT ir kitais klinikiniais tyrimais. Įvertinome MPV (vidutinis trombocitų tūris), trombocitų skaičių, trombocitų agregaciją, sužadintą adenoizino difosfatu, adrenalinu ir kolagenu, turtingoje trombocitų plazmoje.

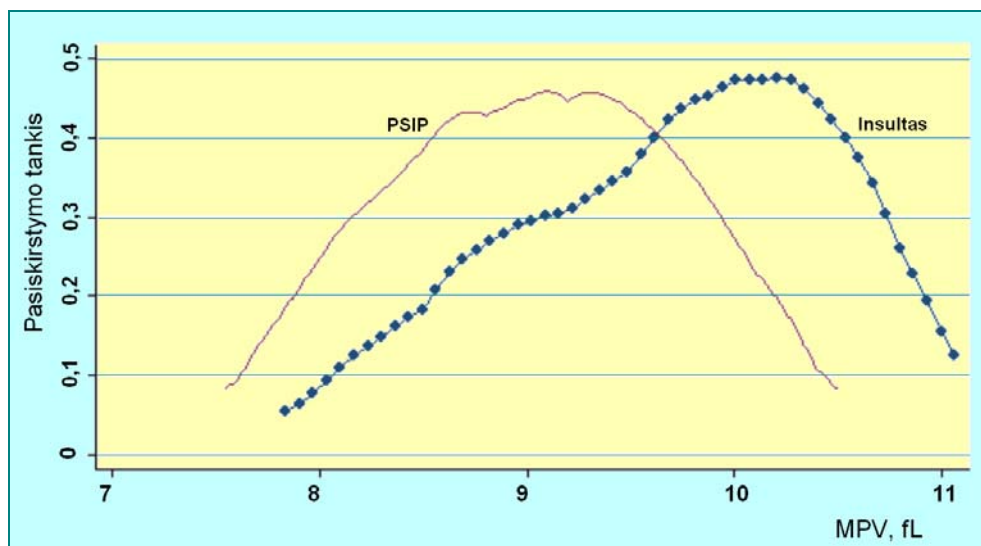
Kontrolinę grupę sudarė 25 sąlygiškai sveiki asmenys (17 vyrų ir 8 moterų) 31–64 metų (amžiaus vidurkis $45,4 \pm 1,9$ m.).

4.5.1. Trombocitų agregacijos pokyčiai išeminio insulto metu

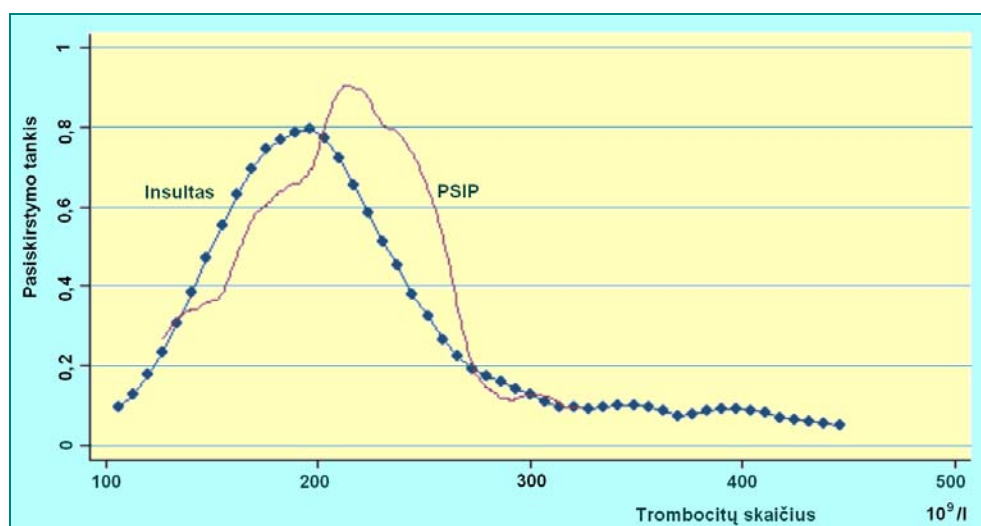
Vidutinis trombocitų tūris (MPV) statistiškai patikimai buvo didesnis ligonių, sirgusių insultu ($9,7 \pm 0,15$ fL), palyginti su ligonių, sirgusių PSIP arba lėtine smegenų išemija ($9,0 \pm 0,16$ fL, $p < 0,01$).

13 pav. pavaizduotas ligonių, sirgusių galvos smegenų insultu ir PSIP, MPV reikšmių pasiskirstymas. Iš kreivės matyti, kad sirgusiųjų insultu MPV rodikliai didesni negu sirgusiųjų PSIP. Vadinasi, didesni trombocitai yra būdingi sunkesniai smegenų audinio pažeidimui. Galima manyti, kad šis rodmuo formavosi dar prieš įvykstant ligos katastrofiškam pablogėjimui.

Nors trombocitų skaičius ir buvo didesnis sergančiųjų insultu grupėje (14 pav.), tačiau statistiškai patikimai nesiskyrė: atitinkamai $218,7 \pm 14,0 \cdot 10^9/l$ sergančiųjų insultu ir $210 \pm 10,2 \cdot 10^9/l$, $p > 0,1$ sergančiųjų PSIP kraujyje.

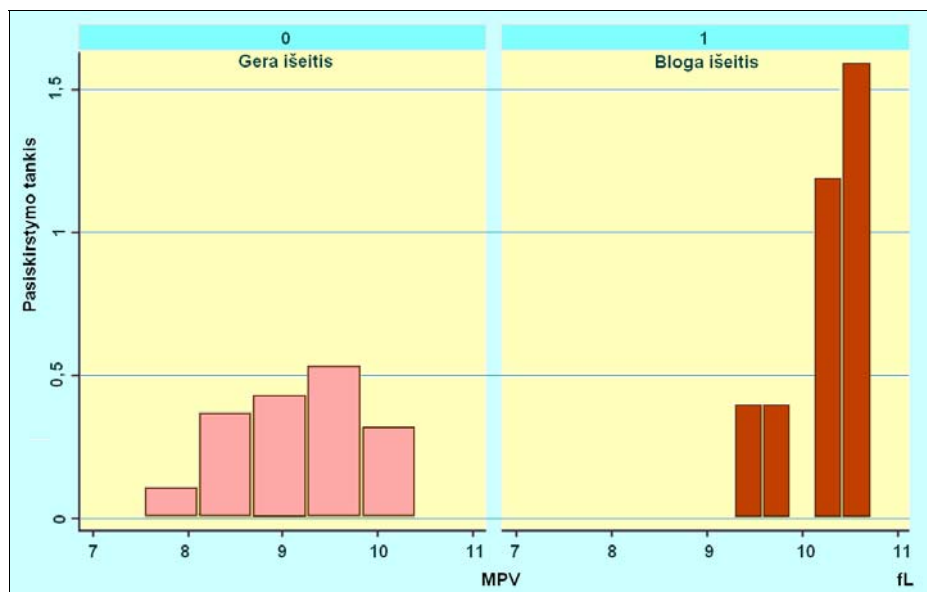


13 pav. MPV reikšmių pasiskirstymas sergančiųjų insultu ir PSIP grupėse, $p < 0,01$.



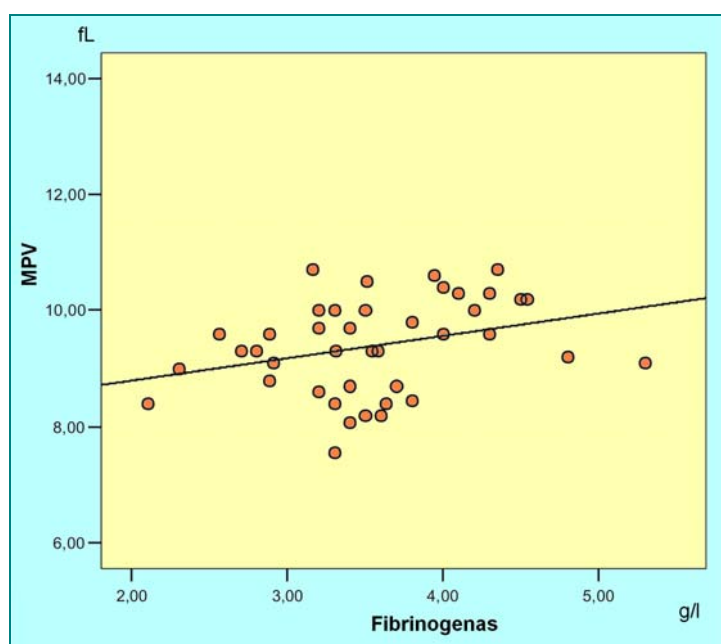
14 pav. Trombocitų skaičiaus pasiskirstymas sergančiųjų insultu ir PSIP grupėse, $p > 0,1$.

Įvertinome MPV įtaką insulto sunkumui. Nustatėme, kad ligonių, kurie po insulto tapo visiškai priklausomi arba mirė, MPV reikšmė statistiškai patikimai didesnė ($10,5 \pm 0,15 \text{ fL}$), palyginti su tais, kurių insulto išeitis geresnė (nepriklausomi arba iš dalies priklausomi) ($9,3 \pm 0,13 \text{ fL}$, $p = 0,011 < 0,05$). Didesni trombocitai gali būti gaminami kaip kompensacinis atsakas į jų sunaudojimą, nes šių ligonių agregacijos intensyvumas, kaip pastebėsime vėliau, taip pat yra didesnis. 15 paveiksle pavaizduota MPV histograma ligonių su gera (kairėje) ir bloga (dešinėje) insulto išeitimi. Akivaizdžiai stebimas poslinkis į gigantiškų trombocitų pusę ligoniams su bloga prognoze.



15 pav. MPV reikšmė insulto sunkumui, $p=0.011<0.05$.

Ištirtų ligonių grupėje MPV padidėjimas koreliuoja su fibrinogeno koncentracijos padidėjimu: $p=0.044<0.05$, Pirsono koreliacijos koeficientas $r=0.316$. Koreliacijos kreivė parodyta 16 paveiksle.



16 pav. MPV ir fibrinogeno koreliacijos kreivė, $p=0.044<0.05$.

Išaiškintas ryšys tarp trombocitų dydžio ir fibrinogeno koncentracijos suteikia prielaidą manyti, kad tai yra viena iš pagrindinių trombocitų padidintos agregacijos priežasčių. Trombocitų agregacijai per GP IIb/IIIa receptorius yra būtinas laisvas fibrinogenas, kurio koncentracija Clauss'o metodu buvo nustatyta šiai ligonių grupei.

4.5.2. Trombocitų agregacijos pakitimai ūminio išeminio insulto ir PSIP metu

Ligonių (sergančių PSIP, insultu) ir kontrolinės grupės asmenų trombocitų agregacijos tyrimų rezultatai pateikti 4.5.1–4.5.7 lentelėse.

Adenozino difosfato (ADP), adrenalino (ADR) ar kolageno (KOL) sukelta agregacija kontrolinių asmenų plazmoje, įgalino nustatyti normalias palyginamąsias jos reikšmes. Normalus agregacijos intensyvumas sveikiems asmenims turi būti ne didesnis kaip 65–85 proc. Nė vienam iš tirtų sveikų asmenų trombocitų agregacija neviršijo 85 proc.

Gauti duomenys tiriant ligonių plazmą atskleidė kai kuriuos trombocitų atsako į panaudotus agregantus skirtumus priklausomai nuo patirtų smegenų kraujotakos sutrikimų. PSIP ir insulto grupėse indukuojant agregaciją ADP ($p<0,05$) ir KOL ($p<0,05$), nustatėme patikimą normalios agregacijos intensyvumo atvejų mažėjimą, o adrenalino sukelta agregacija patikimų nuokrypių nedavė, nors išlaikė tą pačią tendenciją, kaip ir skatinant agregaciją kitais agregantais.

Trombocitų agregacija >85 proc. su visais induktoriais statistiškai patikimai buvo dažnesnė insultų grupėje (4.5.1–4.5.3 lent.).

4.5.1 lentelė. Trombocitų agregacijos, indukuotos adenozino difosfatu (ADP), intensyvumas sveikų asmenų ir ligonių plazmoje (TTP)

ADP, agregacijos proc.	Kontrolinė grupė, atvejų sk., proc. (n = 25)	Sergantieji PSIP, atvejų sk., proc. (n = 18)	Sergantieji insultu, atvejų sk., proc. (n = 32)	Sirgusieji insultu + PSIP, atvejų sk., proc. (n=50)
≤ 85	25 (100)*	17 (94,4)*	26 (81,2)	43(86)*
>85	0 (0)	1 (5,6)	6 (18,8)	7(14)

n – tirtų asmenų skaičius, ADP – adenozino difosfatas. * $p<0,05$, skirtumas tarp kontrolinės grupės ir sergančiųjų PSIP, tarp sergančiųjų PSIP ir insultu nėra patikimas, $p>0,05$, bet $p<0,05$, jeigu kontrolinė grupė lyginama su sergančiųjų (PSIP+insultu) grupėmis.

Svarbu pabrėžti tai, kad agregacijos suaktyvėjimo atvejų nustatyta abiejose grupėse ligonių beveik tiek pat (4.5.2 lent.). Nors ši tendencija akivaizdesnė indukuojant agregaciją kolagenu (4.5.3 lent.). Tai reiškia, kad endotelio disfunkcija, besivystant smegenų kraujotakos sutrikimams, tampa svarbiu rizikos veiksniu galimai kraujagyslių trombozei. Kiekvienas iš tyrimuose panaudotų agregacijos sukėlėjų padidintomis koncentracijomis cirkuliuoja ligonių kraujotakoje prieš ir po kraujagyslinių įvykių ir tampa viena iš pagrindinių insulto priežasčių.

4.5.2 lentelė. Trombocitų agregacijos, indukuotos adrenalinu (ADR), intensyvumas sveikų asmenų ir ligonių plazmoje (TTP)

ADR, agregacijos proc.	Kontrolinė grupė, atvejų sk., proc. (n = 25)	Sergantieji PSIP, atvejų sk., proc. (n = 18)	Sergantieji insultu, atvejų sk., proc. (n = 32)
≤85	25 (100)	16 (88,9)	28 (87,5)
>85	0 (0)	2 (11,1)	4 (12,5)

n – tirtų asmenų skaičius, ADR – adrenalinas. $p > 0,05$, palyginti kontrolinę grupę su sergančiųjų PSIP grupe, kontrolinę grupę su sergančiųjų insultu grupe ir sergančiųjų insultu su PSIP grupes, taip pat kontrolinę grupę su sergančiųjų (PSIP+insultu) grupėmis.

4.5.3 lentelė. Trombocitų agregacijos, indukuotos kolagenu (KOL) intensyvumas sveikų ir ligonių plazmoje (TTP)

KOL, agregacijos proc.	Kontrolinė grupė, atvejų sk., proc. (n = 25)	Sergantieji PSIP, atvejų sk., proc. (n = 18)	Sergantieji insultu, atvejų sk., proc. (n = 32)
≤85	25 (100)*	15 (83,3)	25 (78,1)*
>85	0 (0)	3 (16,7)	7 (21,9)

n – tirtų asmenų skaičius, KOL – kolagenas. * $p < 0,05$, palyginti kontrolinę grupę su sergančiųjų PSIP grupe; * $p < 0,05$ palyginti kontrolinę grupę su sergančiųjų insultu grupe; $p > 0,05$ palyginti sergančiųjų PSIP grupę su sergančiųjų insultu grupe.

Atkreipiant dėmesį į agregacijos intensyvumą (kai ji >85%) sergančiųjų insultu grupėje, susidaro įspūdis, kad skirtingi agregacijos agonistai pasireiškia skirtingai. Tai įrodo skirtingą trombocitų receptorių jautrumą natūriniais agregantams. Jautrumas išsidėsto tokia mažėjančia tvarka: kolagenas – adenosino difosfatas – adrenalinas. Tai parodo, kad ligonių kraujagyslėse atsiranda atviras kolagenas, kuris per tam tikrą laiką sensibilizuoja trombocitus ir priverčia juos agreguotis dažniau negu kiti agregantai. Negalima atmesti prielaidos, kad padidintą trombocitų agregaciją sąlygoja kompleksinis agonistų poveikis, nes sąlygos tokiame vyksmui yra palankios.

4.5.3. Aspirino įtaka trombocitų agregacijai

Aspirinas, pagal naujausias nuorodas, vartojamas insulto profilaktikai, atsiradus širdies ir kraujagyslių patologijos klinikiniais simptomams. Tirtą 50 ligonių kontingento aspiriną profilaktinėmis dozėmis (100–150 mg/d.) vartojo 22 ligoniai, nevartojo 28. Įvertinome aspirino poveikį trombocitų agregacijai, priklausomai nuo kraujotakos sutrikimų laipsnio ir ligonių lyties. Palyginome pokyčius su sveikų asmenų rodikliais.

Suskirstę ligonius į dvi grupes pagal tai, ar jie vartojo aspiriną ar ne iki atvykstant į ligoninę (4.5.4–4.5.6 lent.), nustatėme, kad visų ligonių, kurie vartojo

aspiriną, trombocitų agregacijos intensyvumas buvo mažesnis negu sveikų asmenų. Nors vidutinės aspirino dozės (100–150 mg/d.) patikimai šio rodiklio nepakeitė, tačiau tendencija trombocitų agregacijos intensyvumui mažėti išliko. Priešingai, mažesnė nei normos (<65 proc.) trombocitų agregacija, indukuota KOL, statistiškai patikimai dažniau rasta ligonių, vartojusių aspiriną (atitinkamai 81,8 proc. ir 50,0 proc.; $p<0,05$) grupėje. Analogiški rezultatai gauti ir sukeliant agregaciją ADR (atitinkamai 86,3 proc. ir 57,2 proc.; $p<0,01$).

Aprašyti rezultatai parodė, kad aspirinas, blokuodamas COX-1 receptorius, iš dalies slopino kolageno ir adrenalino receptorius, kurie dažniausiai yra aktyvuojami streso ir arterinės hipertenzijos atvejais. Taip pat stebime, kad tarp nevartojusių ASR buvo daugiau atvejų su padidinta trombocitų agregacija, nepriklausomai nuo agonisto rūšies, nors rezultatai dėl nedidelio ligonių skaičiaus ir nebuvo statistiškai patikimi. Tikime, kad ir padidinus stebimų ligonių kontingentą rezultatas išliktų toks pat.

4.5.4 lentelė. Trombocitų agregacijos, indukuotos kolagenu, pokyčiai ligonių plazmoje, vartojusių aspiriną ir jo nevartojusių

KOL, agregacijos proc.	Nevartojo ASR, atvejų sk., proc. (n =28)	Vartojo ASR, atvejų sk., proc. (n = 22)	p
<65	14 (50,0)	18 (81,8)	<0,05
65–85	8 (28,6)	3 (13,6)	N.S
>85	6 (21,4)	1 (4,6)	N.S

ASR – aspirinas, n – tirtų asmenų skaičius, KOL – kolagenas.

4.5.5 lentelė. Trombocitų agregacijos, indukuotos adrenalinu, pokyčiai ligonių plazmoje, vartojusių aspiriną ir jo nevartojusių

ADR, agregacijos proc.	Nevartojo ASR, atvejų sk., proc. (n =28)	Vartojo ASR, atvejų sk., proc. (n = 22)	p
<65	16 (57,2)	19 (86,3)	<0,01
65–85	6 (21,4)	2 (9,1)	N.S
>85	6 (21,4)	1 (4,6)	N.S

ASR – aspirinas, n– tirtų asmenų skaičius, ADR – adrenalinas.

4.5.6 lentelė. Trombocitų agregacijos, indukuotos adenosino difosfatu (ADP), pokyčiai ligonių plazmoje, vartojusių aspiriną ir jo nevartojusių

ADP, agregacijos proc.	Nevartojo ASR, atvejų sk., proc. (n =28)	Vartojo ASR, atvejų sk., proc. (n = 22)	p
<65	10 (35,7)	19 (86,4)	<0,001
65–85	12 (42,9)	2 (9,1)	<0,01
>85	6 (21,4)	1(4,5)	N.S

ASR – aspirinas, n– tirtų asmenų skaičius, ADP-adenosino difosfatas.

Prieš atvykstant į ligoninę 22 tirti ligoniai vartojo aspiriną, iš jų 10 vyrų ir 12 moterų, 28 – nevartojo. Pastebėję, kad vyrai ir moterys skirtingai reaguoja į aspiriną (4.5.7 lent.), įvertinome trombocitų agregacijos su visais induktoriais pokyčius, panaudoję Fišerio kriterijų.

4.5.7 lentelė. Lyties įtaka trombocitų agregacijos intensyvumui tarp vartojusių aspiriną vyrų ir moterų

Agregacijos induktorius	Lytis	Agregacija <65 proc., atvejų sk.	Agregacija >65%			p
			Agregacija 65–85 proc., atvejų sk.	Agregacija >85 proc., atvejų sk.	iš viso	
ADP	V	7	2	1	3	0,041
	M	12	0	0	0	
ADR	V	8	1	1	2	N.S
	M	11	1	0	1	
KOL	V	6	3	1	4	0,015
	M	12	0	0	0	

ADP – adenosino difosfatas, ADR – adrenalinas, KOL – kolagenas.

Nustatėme, kad statistiškai patikimai ($p=0,041$) agregacijos intensyvumas skiriasi, kai ji sužadinama ADP ir KOL ($p=0,015$). Aspirinas, vartojamas terapinėmis dozėmis, moterims agregaciją mažino labiau. Sugretinus vartojusių aspiriną vyrų ir moterų atvejus, kai agregacija buvo padidinta, radome, kad agregacijos intensyvumas su ADP <65% buvo 75% vyrų vartojusių aspiriną ir visoms 100% moterų, $p=0.041$. Agregacijos intensyvumas su KOL <65% buvo visoms 100% moterų vartojusių aspiriną ir tik 65% vyrų, vartojusių aspiriną, $p=0.015$. Tarp moterų trombocitų agregacijos, viršijančios normą su tais pačiais induktoriais, neradome. Tai reiškia, kad moterys su smegenų kraujotakos sutrikimais reaguoja į terapines aspirino dozes reikšmingiau ir todėl skiriant jį kaip prevencinę priemonę galimai venų trombozei ar kartotinam insultui dozę reiktų mažinti (tai pabrėžiama ir specializuotose nuorodose).

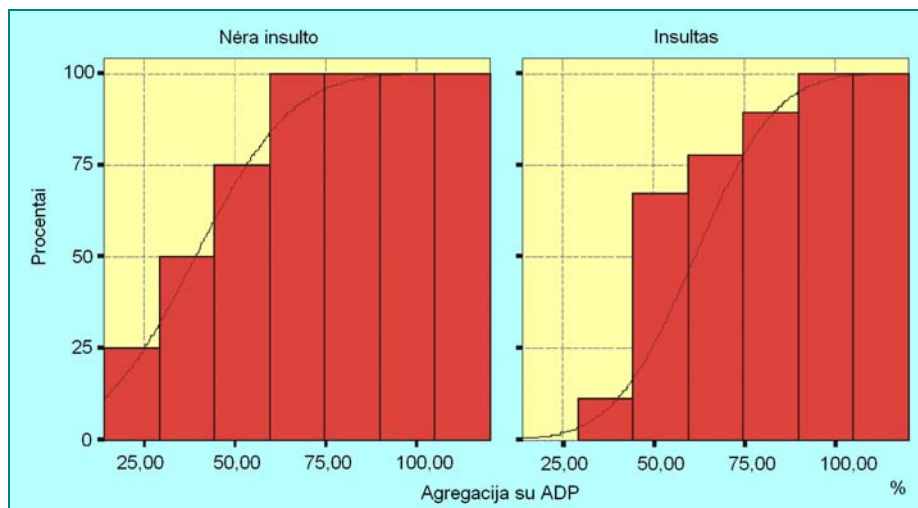
Spontanine trombocitų agregacija tirtųjų asmenų grupėse buvo normos ribose, o jos pokyčiai statistiškai nereikšmingi.

4.5.4. Aspirino rezistencijos įtaka insultui

Ištirta 22 ligoniai, vartoję aspiriną, 8 sirgo insultu, 5 iš jų – pakartotiniu insultu. Šio klausimo nagrinėjimą lėmė paskutiniaisiais metais aprašyti atsparumo aspirinui atvejai, kai trombocitų receptoriai nereagavo į parinktas aspirino dozes, ir todėl antiagregacinis

efektas nebuvo pasiektas. Pasekmės tokios išeities buvo retrombozės ir subokliuzijos tų kraujagyslių, kuriose buvo atlikta intervencija (nuosruvių suformavimas ar stento implantavimas). Atsparumas aspirinui jį vartojant profilaktiniais tikslais gali tokio tikslo nepasiekti ir todėl neapsaugoti nuo kraujagyslinių įvykių, tarp jų ir smegenų insulto ar PSIP. Atsparumo priežastis galėtų atskleisti genetiniai trombocitų receptorių tyrimai.

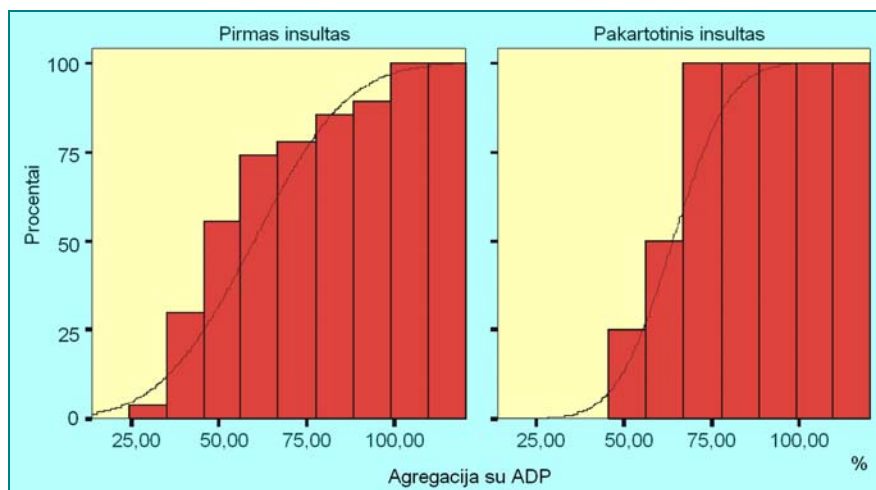
Trombocitų agregacijos indukuotos ADP rodikliai ligonių, vartojusių aspiriną ir sirgusių insultu, gauti statistiškai patikimai didesni negu ligonių, kurie sirgo PSIP arba lėtine galvos smegenų išemija (atitinkamai $61,3 \pm 5,8$ ir $39,2 \pm 3,1$, $p < 0,01$). 17 paveiksle pavaizduota pasiskirstymo kreivė. Vadinasi, praeinanti smegenų išemija darė mažesnę įtaką trombocitų agregacijai, arba aspirinas tokius ligonius geriau apsaugojo nuo galimo insulto.



17 pav. Nesirgusiųjų ir sirgusių insultu trombocitų agregacijos pasiskirstymas (induktorius ADP), $p < 0,01$.

Kiti grupių rodikliai nesiskyrė.

Ligonių, sirgusių pakartotiniu insultu, gauti statistiškai patikimai didesni trombocitų agregacijos rodikliai su ADP, palyginti su ligoniais, kurie pirmą kartą susirgo insultu (atitinkamai $67 \pm 3,2$ ir $49,0 \pm 2,6$, $p < 0,05$). Jeigu insultas pasikartojo, tuomet nebuvo užtikrinta antitrombotinė apsauga. Dėl atsparumo aspirinui ar besitęsiančio kraujagyslių pažeidimo hiperkoaguliacinis ligonio potencialas buvo didesnis negu terapinė pagalba. 18 paveiksle pavaizduota pasiskirstymo kreivė.



18 pav. Ligonų, susirgusių pirmu ir pakartotiniu insultu, trombocitų agregacijos pasiskirstymas (induktorius ADP), $p < 0,05$.

Kiti grupių rodikliai nesiskyrė.

4.6. Hematologiniai pakitimai sergant išeminiu insultu

Kraujo reologijos sutrikimai yra viena iš R.Virchovo triados komponentų. Tėkmės iškraipymas ir kraujo sudėties (biocheminiai ir morfologiniai veiksniai – antra triados komponentė) pokyčiai gali esminiai prisidėti prie apsunkinančių kraujotakos sutrikimus veiksnių. Todėl ištyrėme 184 ligonius, sirgusius išeminiu insultu, ir 50 kontrolinės grupės asmenų. Įvertinome sergančiųjų insultu ir kontrolinės grupės (23 vyrai, 27 moterys) hematologinių bei kai kurių biocheminių rodiklių skirtumus. Išanalizavome šių skirtumų galimą įtaką į smegenų kraujotakos sutrikimų atsiradimą. Hematologinius tyrimus kartojo ne mažiau kaip tris kartus iki išvykimo iš ligoninės arba ligonio mirties (pirmas kraujo tyrimas atliktas ligoniams atvykus). Labiausiai norėjome atkreipti dėmesį į kraujo klampą veikiančius rodiklius, nes jie esminiai gali prisidėti prie išemijos ar trombozės atsiradimo.

4.6.1 lentelė. Hematologinių parametrų vidurkiai išeminių insultų grupėje

Parametrai	Sergančiųjų insultu grupė (n=184)	Kontrolinė grupė (n=50)	p
Hematokritas	0,43±0,001	0,41±0,001	<0,001
vyrai	0,44±0,001	0,42±0,001	NS
moterys	0,42±0,001	0,40±0,001	<0,001
Hb	138,6±1,2	135,9±1,4	<0,005
vyrai	141,5±1,5	141,4±2,0	NS
moterys	135,4±1,9	131,2±1,4	<0,001

Parametrai	Sergančiųjų insultu grupė (n=184)	Kontrolinė grupė (n=50)	p
Eritrocitai	4,6±0,001	4,5±0,001	<0,005
vyrų	4,7±0,001	4,7±0,001	NS
moterų	4,6±0,001	4,4±0,001	<0,01
MCV	91,2±0,5	90,3±0,8	NS
Trombocitai	250±6,1	240±7,7	NS
Leukocitai	9,2±0,6	6,60±0,2	<0,05
vyrų	9,5±0,7	6,6±0,5	NS
moterų	9,1±1,1	6,5±0,4	NS
ENG	16,1±0,8	7,6±0,7	<0,001
vyrų	15,5±1,2	6,7±0,8	<0,001
moterų	16,6±1,3	8,4±1,0	<0,001

Hematokritas statistiškai patikimai buvo didesnis insultų grupėje (4.6.1–4.6.2 lentelės), nors jo vidurkis ir neviršijo normos (0,43±0,001). Daugiau kaip ketvirtadaliui ligonių (28,4 proc.), sergančių insultu, rastas padidėjęs hematokritas, o kontrolinėje grupėje jis tesiekė 10 proc. Panašiai kito ir hemoglobino ir eritrocitų rodmenys. Rasti vidutinių reikšmių nuokrypiai buvo sąlygoti ryškesnių poslinkių moterų grupėje (tai būdingas moterims požymis), o vyrų rodmenys nesiskyrė nuo kontrolinės grupės.

Moterims statistiškai dažniau buvo padidėjęs hematokritas negu vyrams (atitinkamai 38,8 ir 15,1 proc., $p < 0,001$ (19 pav.). Galima manyti, kad eritrocitų kiekis ir susietas su tuo hematokritas, turėjo reikšmės kraujo klampai ir tėkmės sutrikimams.

4.6.2 lentelė. Sveikų asmenų ir sergančiųjų išeminiu insultu hematologinių rodmenų palyginimas (procentais)

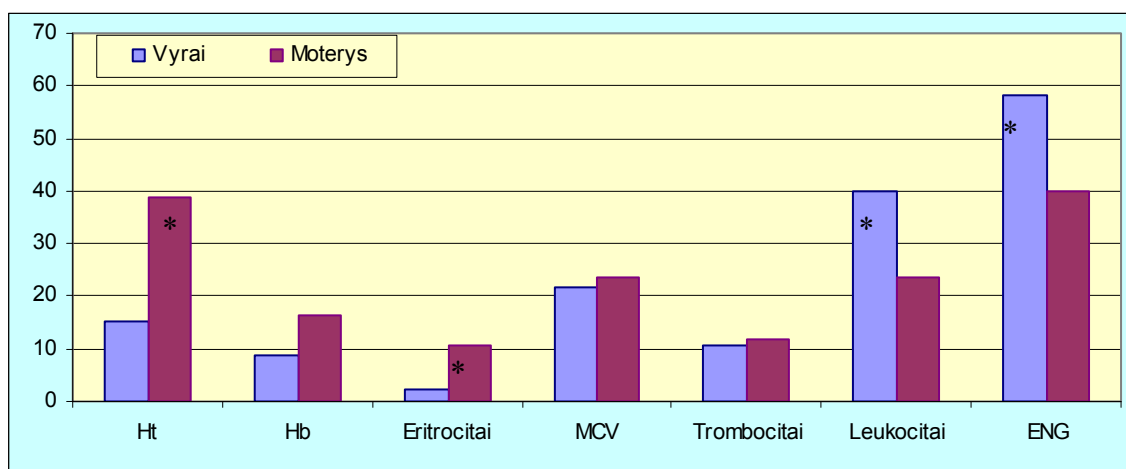
Parametrai	Sergančiųjų insultu grupė (n=184), proc.	Kontrolinė grupė (n=50), proc.	p
Hematokritas	28,4	10	NS
vyrų >0,48	15,1	4,3	NS
moterų >0,42	38,8	25,9	NS
Hemoglobinas	13	4	NS
vyrų >160	8,6	4,3	NS
moterų >150	16,5	3,7	NS
Eritrocitai	6,2	0	NS
vyrų >5,9	2,2	0	NS
moterų >5,2	10,7	0	NS
MCV >95	22,5	18	NS
vyrų	21,5	13	NS
moterų	23,7	22,5	NS
Trombocitai >320	10,9	6	NS
vyrų	10,8	4,3	NS
moterų	11,8	7,4	NS

Parametrai	Sergančiųjų insultu grupė (n=184), proc.	Kontrolinė grupė (n=50), proc.	p
Leukocitai	32,6	8	<0,001
vyrų	39,8	8,7	<0,005
moterų	23,5	7,4	NS
ENG	50,5	14	<0,001
vyrų	58,1	17,4	<0,001
moterų	40	11,1	<0,005

ENG vidurkis buvo gerokai didesnis sergančiųjų insultu grupėje (4.6.2 lent.). Šioje grupėje ENG padidėjo dažniau vyrams (58,1 proc. vyrų ir tik 40 proc. moterų). Trombocitų skaičiaus vidurkis sergančiųjų grupėje statistiškai patikimai nesiskyrė nuo kontrolinės grupės (nors išeminių insultų grupėje buvo didesnis).

Sergančiųjų išeminiu insultu leukocitų skaičiaus nuokrypis nuo vidurkio gerokai padidėjęs. Beveik trečdalis ligonių leukocitų skaičius viršijo $9,0 \times 10^9/l$ ribą ir tik 8 procentams kontrolinėje grupėje ($p < 0,001$) jis buvo žemesnis. Leukocitų skaičius ypač padidėjo 40 procentų vyrų (19 pav.), o moterų nesiekė nė ketvirtadalio ($p < 0,005$).

Kiti grupių hematologiniai duomenys patikimai nesiskyrė.



19 pav. Sergančiųjų išeminiu insultu hematologinių rodmenų palyginimas vyrų ir moterų grupėse (* $p < 0,05$).

Tokiu būdu, mūsų gauti duomenys parodo, kad hematologinių rodmenų nuokrypiai į patologijos pusę galėjo prisidėti prie kraujo tėkėjimo pasunkinimo ir dėl to skatinti išeminio insulto atsiradimą. Mes nežinome kada šie pokyčiai atsirado (anksti prieš insulto išsivystymą ar prieš pat jį, bet jų būvimas nusako tiesioginį ryšį su tiriamąja patologija.

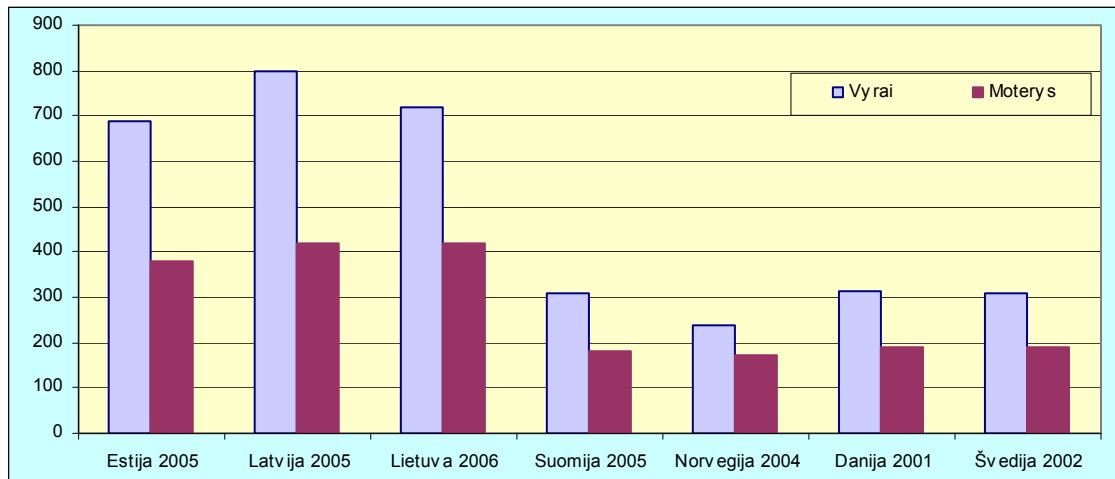
5. REZULTATŲ APTARIMAS

Lietuvos sveikatos informacijos centro 2006 metų statistiniai duomenys parodė, kad vyrų mirtingumas nuo kraujotakos sistemos ligų 100 000 gyventojų siekia 680,8, moterų – 747,8. Šis rodiklis yra didžiausias Europoje, o jo dinamika nuo 1981 iki 2006 metų beveik nesikeičia. Cerebrovaskulinių ligų dinamika įgauna net neigiamą kryptį (20 pav.). Iš Baltijos jūrą supančių valstybių Lietuvos, Latvijos ir Estijos sergančiųjų kraujotakos sistemos ligomis (21 pav.) yra beveik tiek pat, bet daug daugiau negu Švedijoje, Norvegijoje ir Suomijoje. Antroje vietoje pagal mirtingumą esančios onkologinės ligos vyrų mirtį sukelia perpus rečiau (100 000 gyventojų 295,4), moterų – net tris kartus rečiau (100 000 gyventojų 198,4) negu kraujotakos sistemos ligos.



20 pav. Kai kurių ligų standartizuoti mirtingumo rodikliai Lietuvoje
(100 000 gyventojų pagal Europos standartą) (Lietuvos sveikatos statistika 2006
UDK 614(474.5)(083) Li 331)

Apie 50 proc. visų cerebrovaskulinės kraujotakos ligomis sergama dėl ekstrakranijinių arterijų ir rečiau didelių intrakranijinių arterijų patologijos. Pateikti skaičiai įtikinamai parodo, kad kraujotakos sistemos ligų paplitimui Lietuvoje, jų etiologijai ir atsiradimo mechanizmsams tirti būtina skirti daugiau dėmesio, ypač dėl to, kad sumažintume sergamumą ir mirtingumą, išsiaiškintume šios patologijos priežastis ir atrastume galimas prevencijos priemones. Mūsų atliktas tiriamasis darbas prisideda prie šios problemos sprendimo.



21 pav. Sergamumas kraujo apytakos sistemos ligomis Lietuvoje, palyginti su Baltijos ir Šiaurės Europos šalimis (Lietuvos sveikatos statistika 2006 UDK 614(474.5)(083) Li 331)

Galvos smegenų išemiją sukelia kraujotakos sutrikimai, kurių priežastis yra vidinės miego arterijos (VMA) aterosklerozė arba embolija iš aterosklerotinės plokštelės, arba hipoperfuzija dėl jos stenozės. VMA užanka rečiau negu koronarinės arterijos. Tai dažniau susiję su greitesne VMA kraujotaka, todėl užakimą aplenkia užkemšantis jos spindį trombas. Tačiau vien tik susiaurėjimo laipsnio vertinimas negali numatyti klinikinės ligos baigties. Klinikiniai tyrimai parodė, kad reikšminga stenozė tampa insulto priežastimi tik vienam iš keturių simptominių pacientų ir vienam iš 10 asimptominių pacientų [197]. Aterosklerotinės plokštelės nestabilumas ir jos plyšimas su paskesne tromboze yra viena iš svarbiausių insulto priežasčių.

Histologiniai tyrimai parodė, kad nestabili plokštelė susideda iš plonos fibrozinės kepurėlės (dažnai padengtos aktyviais trombocitais), didelės lipidinės nekrotizuotos šerdies, uždegiminio infiltrato (makrofagai ir prouždegiminiai citokinai), neovaskuliarizacijos ir intraplokštelinės hemoragijos. Šių požymių atpažinimas gali duoti didelę naudą, vertinant galimo insulto riziką. Tačiau ne visos embolijos yra iš VMA, kai kurios gali būti ir iš aortos lanko. Todėl ligoniams sergantiems insultu, būtina

ištirti ne tik VMA, bet ir visą aortos lanką. Pastarųjų metų literatūroje daug dėmesio skiriama tyrimams kitų veiksnių, turinčių įtakos VMA susiaurėjimui, aterosklerozės progresavimui, priežastims, dėl kurių sutrinka galvos smegenų kraujotaka. Hiperhomocisteinemija (hHc) pakenkia kraujagyslėms, veikdama deguonies metabolizmą ir biosintetinę funkciją arterijose [28, 103, 162].

Mūsų rezultatai parodė tiesioginę priklausomybę tarp Hc koncentracijos ir VMA susiaurėjimo, jie atitinka tyrinėjusių šią problemą autorių duomenis apie ryšį tarp Hc ir ekstrakranijinės VMA patologijos vyresniame amžiuje [78, 205], esant asimptominiam VMA arterijos pakenkimui.

Homocisteino (Hc) koncentracija kraujo serume rasta didesnė ligonių, sergančių išemine širdies liga [151], rūkančių [185], turinčių padidintą kreatinino ir C-reaktyviojo baltymo koncentraciją. Ligonų su padidinta Hc koncentracija kraujo serume insulto išeitis blogesnė, palyginti su ligoniais, kurių Hc koncentracija buvo mažesnė. Tai iš dalies galima paaiškinti kardiovaskulinių komplikacijų rizikos padidėjimu, didesniu kraujagyslių pažeidimu ir išplintančia patologinio proceso apimtimi [28, 221].

Ryšio buvimą, mūsų duomenimis, tarp Hc ir amžiaus galima paaiškinti tuo, kad šioje grupėje daugiau buvo pacientų, vyresnių nei 60 metų. Dėl vyresnio amžiaus ligonių ryšio tarp Hc ir lyties nenustatyta, nes šis ryšys geriausia išryškėja, kada ligoniai jaunesni negu 60 metų [28].

Hc koncentracija skyrėsi tarp sergančiųjų insultu ir PSIP. Sunkėjant galvos smegenų kraujotakos pobūdžiui, Hc koncentracija didėja, nors kai kurie autoriai teigia, kad Hc įtaka sergant insultu pasireiškia vėlesnėje ligos eigoje [107]. Sergančių cukriniu diabetu Hc koncentracijos padidėjimą radome dažniau, tai atitinka kitų autorių duomenis [28].

Padidėjusi Hc koncentracija turi neigiamą poveikį endoteliui, skatina trombozę, veikia trombocitus ir daug svarbių krešėjimo faktorių. Daugelio tyrimų rezultatai patvirtina, kad net nežymi hHc padidina riziką susirgti ateroskleroze ir insultu. Ryšys tarp hHc ir trombozės aprašytas daugelyje darbų [86].

Sunkesnė hHc randama vyresnio amžiaus asmenims ir siejasi su asimptominiu smegenų infarktu [43, 249]. Tai aiškinama virškinimo funkcijos sutrikimais, kurie turi įtakos vitaminų B₆, B₁₂, folio rūgšties reabsorbcijai žarnyne, mitybos įpročiais ir gyvenimo būdo ypatybėmis. Šių autorių pateikti duomenys siejasi su mūsų tyrimo rezultatais. Vyrų ir moterų Hc koncentracijos skirtumus galima paaiškinti tuo, kad

moterims homocisteino kiekis padidėja, sumažėjus estrogenų kiekiui po menopauzės, bet mechanizmas nėra gerai ištirtas.

Ligoniams, kurie sirgo galvos smegenų infarktu ir rūkė, nustatyta padidėjusi Hc koncentracija. Hc kaupimosi mechanizmas rūkančių organizme yra keleriopas. Kai kurie autoriai teigia, kad metilinimo reakcijai gali turėti įtakos nikotinas. Kita priežastis gali būti fermentų indukcija kepenyse. Rasta, kad ligonių, kurie metė rūkyti, rizika susirgti insultu sumažėjo per 50 proc.

Cukriniu diabetu sergančių ligonių padidėjusį Hc kiekį, mūsų duomenimis, iš dalies nulėmė nefropatija, dėl to albuminų ekskrecija kartu su šlapimu labai padidino Hc kiekį serume. Homocisteinas metabolizuojamas inkstuose. Nedidelė jo dalis išsiskiria su šlapimu. Esant inkstų nepakankamumui, Hc gali kauptis kraujyje [268].

Ligoniams, kuriems Hc padidėjęs, statistiškai patikimai dažniau diagnozuojama hiperfibrinogenemija. Tokioje aplinkoje greitėja fibrinogeno virtimas fibrinu, padidėja kraujo klampa ir susidaro sąlygos formuotis krešuliams, taigi sumažėja kraujagyslių gebėjimas susitraukti ir išsiplėsti. Tai patvirtina ir mūsų duomenys, nes hiperfibrinogenemija buvo neretas radinys ligonių plazmoje.

Vertinant gautus rezultatus, būtina atkreipti dėmesį į tai, kad šiai grupei ligonių rasta sutrikusi ir lipidų apykaita. Bendrojo cholesterolio koncentracija kraujo serume statistiškai patikimai didesnė ligonių su hHc. Hc gali skatinti cholesterolio gamybą žmogaus kepenų ląstelėse, tuo greitinant aterosklerozės progresavimą.

Šiuo metu aktyviai diskutuojama apie uždegiminę aterosklerozės teoriją, kuomet aktyvėja ūminės fazės baltymų gamyba. [115]. Tokia tendencija būdinga ir mūsų tirtų ligonių grupei, nes nustatyta uždegiminio žymens – CRB padidėjusi koncentracija, kurią galima aptikti po 6 valandų nuo infekcijos (audinių griuvimo) pradžios. CRB gali jungtis su pažeistų ląstelių membranomis ir mikrobiniiais polisacharidais ir yra susijęs su invazinių bakterijų agliutinacijos ir precipitacijos reakcijomis. M. Napoli ir bendraautoriai nustatė tiesioginę koreliaciją tarp CRB kiekio kraujo serume ir smegenų infarkto dydžio ligonių, sergančių išeminiu insultu. Leukocitai atlieka pagrindinį vaidmenį vystantis uždegiminiam atsakui ir skatina ūminę smegenų išemiją. Progresuojant išemijai, jų kiekis greitai didėja.

Atliekant ligonių su smegenų kraujotakos sutrikimais trombocitų agregacijos tyrimą ūminiu išeminio insulto periodu, bandyta įvertinti suaktyvėjusios trombocitų funkcijos svarbą smegenų išemijos patogenezėje. Trombocitų agregacija, indukuota pagrindiniais natūriniais trombocitų agonistais adenozino difosfatu (ADP), adrenalinu

(ADR) ir kolagenu (KOL), labiau didėjo, sergančių išeminiu insultu, palyginti su PSIP. Ypač svarbu tai, kad trombocitų aktyvumas pradėjo didėti nuo ūmios fazės, nepriklausomai nuo klinikinės susirgimo išraiškos.

Pagrindinė išeminio insulto priežastis – tromboembolinė ar trombinė arterijų okliuzija. Okliuduojantis trombas patologinio ar angiografinio tyrimo metu randamas apie 80 proc. atvejų. Išemizuoto, bet dar gyvo smegenų audinio gelbėjimo terapinis langas yra labai mažas, nes greitai vystosi negrįžtami biocheminiai ir metaboliniai pokyčiai ląstelėse. Tik atsiradus kompiuterinei tomografijai (KT) tapo įmanoma diferencijuoti hemoraginį insultą, navikus ir kitas neišemines patologijas priežastis, kada antitrombozinė terapija nebegalima. Mūsų tirtiems ligoniams KT buvo atlikta nedelsiant atvykus į stacionarą.

Amerikos Krūtinės gydytojų kolegijos aštuntosios konferencijos „Antitrombozinė ir trombolizinė terapija: įrodymais pagrįstos nuorodos“ išvada, kad ligoniams su ūminiu išeminiu smegenų insultu, kuriems negalima trombolizė, rekomenduojama anksti pradėti gydymą aspirinu po 160-325 mg/d. (rek. lygis 1A) (Hirsh J., Guidelines for antithrombotic therapy (8th Ed., 2008), BC Decker Inc., Hamilton). Aspirino vartojimas mega-studijų duomenimis tik nežymiai, bet patikimai, sumažino blogų išėičių skaičių po ūminio išeminio insulto artimuoju ir atokiuoju periodais. Tik aspirinas, o ne kiti antitrombocitiniai vaistai (tiklopidinas, klopidoogrelis, prailginto veikimo dipiridamolis su aspirinu) statistiškai patikimai sumažino ankstyvojo mirtingumo ir grįžtamojo insulto skaičių. Aspirinas (nesant kontraindikacijų) turi būti pradėtas vartoti per 48 val. nuo simptomų pradžios ir gali būti vartojamas kartu su mažomis nefrakcionuoto heparino (NFH) dozėmis giliųjų venų trombozės (GVT) profilaktikai. Ligoniams, patyrusiems nekardioembolinį insultą ar PSIP (aterotrombotinį, lakunarinį ar kriptogeninį), pradinei terapijai rekomenduojamas aspirinas 50–325 mg/d., arba kartu aspirinas 25 mg ir prailginto veikimo dipiridamolis 200 mg 2 k. per dieną, arba klopidoogrelis 75 mg. Mūsų pacientams buvo skiriamas aspirinas vidutinėmis terapinėmis dozėmis.

Aspirino nauda insulto prevencijoje įrodyta šiose klinikinėse studijose: Švedų mažų dozių aspirino studija: 75 mg/d. sumažino insulto, MI ir kraujagyslinių mirčių skaičių 17 proc. Olandų TIA studija: 30-283 mg/d. Rasta, kad 30 mg/d. nėra blogesnė dozė negu 283 mg/d., o kraujavimų iš virškinamojo trakto problemų buvo kur kas mažiau. UK-TIA studija ir Algra ir van Gijn meta-analizė parodė, kad aspirino dozė 30 mg ar 1300 mg savo veiksmingumu nesiskyrė. ESP study-2 (1996 m.) rado, kad

50 mg aspirino sumažina insulto ir mirties riziką 18 proc., todėl 1998 m. JAV FDA įteisino išeminio insulto prevencijai aspirino dozę 50-325 mg/d.

Literatūroje nurodoma, kad po išemijos trombocitų aktyvumas tęsiasi tris mėnesius ir tik po to normalizuojasi. Jei ir po 3 mėnesių trombocitai išlieka aktyvūs, tuomet didėja pasikartojančio insulto grėsmė. Šiuo požiūriu mūsų rezultatai sutampa su kitų autorių išsakyta nuomone [69]. Nemažą vaidmenį trombocitų aktyvumo procese užima MPV. Didesni trombocitai yra jaunesni ir hemostatiškai aktyvūs. Bręstant trombocitams, jų MPV mažėja [110]. Tai atsispindi ir mūsų gautuose rezultatuose.

Jeigu kraujagyslių endotelis nėra arba labai silpnai pažeistas, išsilaiko dinaminė pusiausvyra tarp aktyvinančių ir slopinančių pirminę (trombocitinę) hemostazę procesų. Todėl kliniškai hemostazės sutrikimai nepasireiškia. Atsiradus stipresniam kraujagyslių endotelio pažeidimui, įvyksta trombocitų morfologiniai bei biocheminiai pokyčiai. Endotelio pažeidimo vietoje atsiranda daug trombocitus aktyvinančių ir juos agreguojančių faktorių: ADP (jis yra kiekvienoje ląstelėje), KOL (atsiveria, pažeidus endoteliocitus), trombinas (susidaro veikiant tromboplastinui ar audinių faktoriui), ADR (pažeidus endoteliocitus) [90, 91]. Iš suaktyvintų trombocitų išsiskiria adrenalinas, serotoninas, trombocitų faktoriai 3 ir 4, β -tromboglobulinas ir kt. Jei pažeidimas didelis, toliau vyksta trombocitų aktyvinimas, t. y. adhezija, agregacija, sekrecija. Tuo pačiu aktyvinamas fiziologinis procesas – fibrinolizė. Sutrikus šiai dinaminei organizmo pusiausvyrai gali išsivystyti kraujavimas ar trombozė.

Ieškant naujų galimybių slopinti trombocitų funkciją, 2007 metais buvo atliktas eksperimentas su pelėmis, kurio metu užblokavo adhezijos ir agregacijos receptorių monokloniniais antikūnais. Tai galėtų būti naujas ir išeminio insulto ir kraujavimo komplikacijų gydymo originalus būdas [120, 127].

Mūsų darbo vienas iš tikslų buvo įvertinti ASR poveikį trombocitų agregacijai ligoniams su ūmiais išeminiais smegenų kraujotakos sutrikimais.

Lyginant agregacijos pokyčius, indukuojant kolagenu, vartojusių ir nevartojusių ASR rasta daugiau padidėjusios agregacijos atvejų tiems ligoniams, kurie nevartojo aspirino (atitinkamai 21,4 ir 4,6 proc.). Ligonų, vartojusių aspiriną profilaktinėmis dozėmis, trombocitų agregacija turėjo tendenciją mažėti, tačiau neapsaugojo nuo insulto ir pakartotinio insulto išsivystymo. Galima įtarti nepakankamą terapinį ASR poveikį dėl kelių priežasčių: nepakankama dozė, rezistentiškumas aspirinui, genetinės ligonio ypatybės, trombocitų receptorių patologija. Deja, nė vienos iš šių priežasčių Lietuvoje kol kas ištirti nėra galimybių.

Mūsų rezultatai apie aspirino nepakankamą efektyvumą trombocitų agregacijai atitinka literatūros duomenis [123]. Vartojant ASR neretai pasitaiko komplikacijų: kraujavimo iš virškinimo trakto, arterinio kraujospūdžio padidėjimo, kas gali iššaukti hemoraginį insultą, kepenų ir inkstų funkcijos sutrikimus, alerginę reakciją. Tenka pripažinti, kad vartojant ASR, ligonius ištinka pakartotiniai insultai. Mūsų darbe 10-čiai ligonių iš 50 įvyko insultai, nors jie ir vartojo ASR. C.M.Helgason ir bendraautoriai, stebėdami ligonius, persirgusius išeminiu insultu, nustatė, kad ne visiems tinka ta pati ASR dozė trombocitų funkcijos slopinimui [102]. J.Eikelbloom ir kiti nustatė rezistentiškumą ASR: ligoniai, kurie vartojo ASR patyrė išeminių komplikacijų [64]. Aiškinant naudos ir komplikacijų santykį šiais atvejais reikėtų atsižvelgti į sudėtingus biocheminius mechanizmus, kuriuose dalyvauja ASR. Dabar kalbama apie kompleksą ypatybių, lemiančių vaisto gydomąjį poveikį, metabolizmo kepenyse greitį ir galimybes, eliminacijos iš organizmo kelius ir t.t. Genetinė ligonio sandara gali skirtis ir tuo nulemti vaisto veiksmingumą. Vienok, jeigu ASR metabolizmas ligonio kepenyse yra pakitęs, tuomet ir mažos dozės vienam organizmui bus pakankamos, o kitam nerodys jokio poveikio laukiamiems rezultatams [92]. Dabartinėse studijose įrodyta, kad 8-45 proc. žmonių ASR yra nejautrūs [149].

Mūsų tyrimai, kuriuose buvo vertinama trombocitų funkcija vyrų ir moterų plazmoje, vartojusių ASR vidutinėmis dozėmis, parodė, kad trombocitų agregacijos intensyvumo padidėjimas virš normos, indukuojant agregaciją adenosino difosfatu ir kolagenu nustatytas tik vyrų plazmoje, o moterų – agregacijos padidėjimo nerasta. Vadinas, ASR veiksmingesnis moterims. Tai atitinka Amerikos insulto asociacijos pateiktus duomenis [86]. Papildomas tyrimas pagerinti ir pagrįsti trombocitų funkcijos pokyčius laboratoriniais mėginiais, geriausia atlikti trombocitų agregacijos tyrimus. Šis būdas gali būti naudingas, parenkant labiau tinkamą antitrombocitinę terapiją bei gydymo strategiją individualiam pacientui. Tai turėtų sumažinti pirmalaikius ir pasikartojančius kraujagyslinius atvejus [106, 183, 224].

Hc koncentracija veikia ir kraujo krešėjimo sistemą. Daugelis autorių nagrinėjo sąsają tarp hHc ir trombocitų funkcijos [166]. Mes trombocitų agregacijos tyrimus atlikome šiuolaikiška standartizuota technika ir metodika, gauti rezultatai parodė kai kurias trombocitų funkcinio aktyvumo patologines išraiškas sergant smegenų kraujotakos ligomis. Hc koncentraciją taip pat tyrėme modernia skysčių chromatografine sistema. Tas leido gauti aukštą rezultatų patikimumą, kuriuo remiasi pateikiamos išvados.

Nustatėme statistiškai patikimą tiesioginę koreliaciją tarp Hc koncentracijos ir trombocitų agregacijos su kolagenu (KOL): didėjant Hc kiekiui ligonių kraujyje, didėja ir trombocitų agregacija plazmoje. Tai atitinka literatūros duomenis, kad hHc nuo 10 iki 100 $\mu\text{mol/l}$ didina trombocitų adheziją ir agregaciją, indukuotą kolageno signaliniu keliu per komponentus – glikoproteiną VI ir integriną $\alpha 2\beta 1$ [152].

Besivystant periferinių kraujagyslių susiaurėjimui, bet nepadidėjus Hc, trombocitų funkcija neaktyvinama. Jeigu randamas kraujagyslės susiaurėjimas ir aukšta Hc koncentracija, tuomet polinkis trombocitų aktyvacijai trombozės rizikai padidėja. Neigiama hHc įtaka siejama su arachidoninės rūgšties metabolizmu, tromboksano A_2 susidarymu, kuris yra potencialus vazokonstriktorius ir trombocitų agregacijos induktorius. Esant išeminiam insultui į pataloginį procesą įtraukiami ne tik galvos smegenų struktūriniai elementai, bet ir kraujagyslių sienelės komponentai. Kai kurie autoriai savo darbuose nurodo, kad sergant ūmiu išeminiu galvos smegenų insultu, kraujyje gerokai padidėja antikūnų prieš kolageną koncentracija, kuri didėja iki 10–21 dienos (3,8 ir 5,3 karto). Tas parodo, kad nuo pirmų išeminio insulto valandų vyksta kraujagyslių sienelės pažeidimas.

Kaip jau anksčiau minėjome, su amžiumi bHc koncentracija plazmoje palaipsniui didėja tiek vyrams, tiek moterims. Daugeliu atvejų visa tai susiejama su amžiaus fiziologiniais pakitimais. Vyresnio amžiaus žmonėms aptinkama folatų ir vitamino B_{12} stoka, kuri susijusi su atrofiniu gastritu, blogesne maisto rezorbcija žarnyne. Hc kaupimasis taip pat susijęs su inkstų funkcija, kuri su amžiumi silpnėja ir net nedidelis sutrikimas gali sukelti hHc išsivystymą. Su amžiumi sutrinka ir daugelis kitų fiziologinių funkcijų, turinčių įtakos Hc metabolizmui [103]. Vidutinio amžiaus moterų kraujyje Hc kiekis šiek tiek mažesnis nei vyrų, tačiau menopauzės metu moterims Hc koncentracija aplenkia vyrų reikšmes. Mūsų kontingente moterų ir vyrų Hc kiekis kraujyje smarkiai nesiskyrė.

Žinoma, kad NO/ciklinis 3'5'-guanosino monofosfatas (cGMF) vietiškai reguliuoja trombocitų agregaciją. Su amžiumi šis jautrumas mažėja, todėl didėja trombocitų agregacija [8]. Mūsų tirtų ligonių trombocitų agregacijos intensyvumas nuo amžiaus nepriklausė.

Mokslininkai ieškojo ryšio tarp galvos smegenų insulto išsivystymo ir bHc kiekio bei kitų rizikos veiksnių. Nustatė, kad Hc koncentracija yra ryškus ir nepriklausomas veiksnys, perspėjantis tiek apie pirmą, tiek apie pasikartojantį insultą

[87, 181]. Tai sutampa su mūsų duomenimis: Hc koncentracija didėja, sunkėjant galvos smegenų kraujotakos sutrikimo pobūdžiui.

Klinikinių studijų duomenimis patvirtinta, kad esant hHc insulto rizika padidėja du kartus. 2006 metų Amerikos Širdies Asociacija nuorodose rekomenduojama pradėti vitaminų terapiją (folatai, vitaminai B6 ir B12), kai Hc kiekis kraujo serume vyrams – $>9,5 \mu\text{mol/l}$, o moterims – $\geq 8,5 \mu\text{mol/l}$ ir ją tęsti du metus [86]. Sergantiems išeminiu insultu ar PSIP ir turintiems padidintą Hc koncentraciją $>10 \mu\text{mol/l}$ rekomenduojama vitaminų dozė B6 (1,7 mg/d), B12 (2,4 $\mu\text{mol/l}$) ir folatų (400 $\mu\text{mol/l}$). Toks vitaminų vartojimas gerokai sumažina Hc koncentraciją serume, nes vitaminas B6 slopina prostaglandino E₂, tromboksano B2 ir leukotrieno B4 sintezę, apsaugo žmogaus kraujagyslių endotelio ląsteles nuo pažeidimo, didina prostaciklino produkciją.

Kai kuriems mūsų kontingento ligoniams, profilaktiškai vartojusių ASR iki atvykstant į ligoninę, nepavyko išvengti insulto. Aspirinas nors ir slopino agregaciją, bet nuo išeminio insulto išsivystymo neapsaugojo. Šiam pastebėjimui patvirtinti reikėtų išsiaiškinti keletą dalykų: ar reguliariai ligoniai vartojo aspiriną, kokiomis dozėmis ir kuriuo paros metu jis buvo vartojamas, ar ligoniai gerai toleravo šį medikamentą ir ar nebuvo rezistentiškumo ar atsparumo požymių. Retrospektyviai tokie duomenys negali būti surinkti, o atsparumo klausimas kol kas Lietuvoje dar nėra sprendžiamas dėl argumentacijos ir tyrimo galimybių (nėra aparatūros) stokos.

Didėjant hHc ligonių serume, sunkėja ir galvos kraujotakos pobūdis, nepriklausomai, ar ligoniai vartojo, ar nevariojo ASR. Todėl galima įtarti nepakankamą ASR apsauginį poveikį ir eilę kitų priežasčių. Viena iš jų – trombocitų rezistentiškumas ASR, kurį gali sukelti ir Hc koncentracijos padidėjimas. Reikia pažymėti, kad kraujagyslių aterosklerotinių pakitimų patogenezė, padidinta trombo susidarymo rizika, esant hHc žmogaus organizme, yra ne visiškai aiški. Pasaulinėje literatūroje paskelbta keletas šimtų originalių darbų ir apžvalginių straipsnių, paskirtų kraujagyslių pakenkimo patogenezei ir endotelio disfunkcijai išaiškinti, esant hHc. Galutinio sprendimo nėra, todėl ši problema reikalauja tolimesnių tyrimų.

Smegenų insulto patofiziologijoje, greta trombocitų ir Hc pokyčių, nemenkesnį indėlį teikia ir sergančiojo kraujo morfologijos ir krešėjimo veiksnių koncentracijos pakitimai. Jų tarpusavio sąveikas sudėjome kaip veiksnių visumą. Santykinė policitemija atsiranda dėl plazmos tūrio sumažėjimo. Hipovolemiją sukelia diuretikai, alkoholis, dehidratacija, hipertenzija, nutukimas. Kiekvienas organas turi specifines galimybes kontroliuoti kraujagyslių perfuziją. Šis specifiskumas leidžia laiku numatyti

skysčių takumą, esant išemijai. Kraujo klampos reikšmė gali būti nepakankamai vertinama. Gebėjimas kontroliuoti kraujo klampą yra labai svarbus terapinėje praktikoje. Hemoreologinių savybių pasikeitimas (leukocitų, hemoglobino, ENG, hematokrito) kartu su klinikiniais simptomais vetinama, kaip rizikos faktorius insulto išsivystymui ir jo pasikartojimui. Antrinė policitemija vystosi dėl eritrocitų masės padidėjimo (hipoksija, rūkymas, smegenų hemangioblastoma, inkstų navikas ir kt.). Mūsų duomenimis, moterims dažniau negu vyrams radome padidėjusį hematokritą. Tą galima paaiškinti tuo, kad moterys dažniau sirgo ligomis, kurios apsunkina hipoksiją: virpamoji aritmija, arterinė hipertenzija. Kraujo tėkmę smegenų kraujotakoje lėtina padidintas hematokritas, hiperfibrinogenemija ir eritrocitų rigidiškumas. Padidėjęs Ht nepriklausomai gali asocijuojotis su didesniu galvos smegenų infarktu po išeminio insulto. Taip pat Ht gali būti potencialus dydis, kurį reguliuojant, galima sumažinti penumbros zonos pažeidimą.

Kraujo tirštėjimas (klampa) gali veikti neigiamai mikrocirkuliaciją, todėl natūralu, kad insultų grupėje buvo daugiau žmonių, kuriems nustatėme padidėjusį hematokritą negu kontrolinėje grupėje. Auganti tendencija trombams susidaryti yra susijusi ne tik su padidėjusia kraujo klampa, bet ir su trombocitų skaičiumi, jų aktyvumo pasikeitimais. Šiame procese labai svarbūs didelio tūrio trombocitai ir jų aktyvumas. Trombocitų hiperaktyvumas atsiranda ūminėje išeminio insulto fazėje. Toks pokytis nustatytas ir mūsų tirtų ligonių kraujyje. Padidėjęs trombocitų kiekis stiprina vietinės smegenų kraujotakos sutrikimus, o didelio laipsnio stenoze ir paviršiaus nelygumai aktyvuoja trombocitus. Negrįžtami trombocitų pakitimai atsiranda po 2-3 min. po kraujagyslių endotelio pažeidimo. Trombocitais turtingas trombas didina ir siaurina kraujagyslės spindį, ypač ten, kur greičiausia kraujotaka ir didžiausias šlyties slėgis.

Pastarųjų metų literatūroje teikiamas vis didesnis dėmesys trombocitų morfologijai [110], atspindinčiai jų funkcijos ir aktyvacijos laipsnio didėjimą. Vidutinis trombocitų dydis koreliuoja su agregacijos rodmenimis, tromboksano sinteze, beta-tromboglobulino ekspresija, prokoagulantinės funkcijos didėjimu, adhezijos molekulių ekspresija. Tai kompleksas požymių, apibrėžiančių akivaizdžią trombocitų įtaką krešėjimo sutrikimams vystytis, komplikuojantiems galvos smegenų kraujotakos sutrikimus. Insulto ar PSIP atsiradimas yra tik finalinė tų pokyčių fazė. Mūsų gauti rezultatai visiškai patvirtina šiuos atradimus ir todėl gali būti kvalifikuojami kaip apsunkinantys ir pagreitinantys ligos vystimosi eigą, ypač kai randami ir angiografiniai

stenozės požymiai. Ryškūs trombocitų morfologijos pakitimai (ženklus dydžio didėjimas) ligos eigoje ar prieš jai vystantis yra blogas prognostinis požymis. Kol kas nėra duomenų kodėl pasikeičia megakariocitų patofiziologiniai mechanizmai kai pradedami gaminti gigantiški trombocitai – trombozės pranašai. Manoma, kad trombocitų morfologijos tyrimas galėtų būti prognostiniais požymiais, nesunkiai kontroliuojamais įprastinės hematologinės analizės metu.

Išeminiu insultu sergančiųjų grupėje leukocitų skaičius padidėjo beveik trečdaliui ligonių, daugiau vyrams nei moterims. Tą galima paaiškinti tuo, kad leukocitų dažniau padidėja rūkantiems žmonėms, o vyrai rūkė dažniau negu moterys. Leukocitų skaičiaus padidėjimas yra rizikos veiksnys, susietas su vykstančiais galvos smegenyse procesais ir yra organizmo atsakas į juos.

Atsakas į pažeidimą gali būti sisteminis ir lokalus. Vietinio atsako mechanizmą sąlygoja kraujagyslių pralaidumo pakitimai ir biologiškai aktyviųjų komponentų atpalaidavimas (lizosominių fermentų, vazoaktyviųjų peptidų, arachidono rūgšties metabolitų – prostaglandinų, leukotrienų), polipeptidinių hormonų arba citokinų išlaisvinimas iš ląstelių. Sisteminė reakcija formuoja uždegimą, daugėja cirkuliuojančių granulocitų. Su tuo susijęs ir leukocitų kiekio padidėjimas periferiniame kraujyje. Kinta metabolinis kepenų ir kitų audinių aktyvumas. Pastaruoju metu daug kalbama apie uždegiminį ūminių išeminių sutrikimų aspektą, aterosklerotinės plokštelės nestabilumą, biologinius ir mechaninius plokštelės nestabilumo faktorius. Sisteminiai plokštelės nestabilumo faktoriai yra leukocitų ir monocitų skaičiaus padidėjimas, hiperfibrinogenemija, CRP. Rasta tiesioginė priklausomybė tarp plokštelės nestabilumo ir leukocitų skaičiaus, monocitų aktyvumo bei fibrinogeno lygio [197].

Paprastai endotelis nuolat išskiria azoto oksidą (NO), kuris slopina trombocitų agregaciją ir kontroliuoja antitrombozinį aktyvumą, slopina endotelio ir leukocitų sąveiką. Leukocitai turi didelę įtaką esant antriniam smegenų pažeidimui po išemijos. Leukopenija mažina antrinį pažeidimą. Leukocitų aktyvumui, kiekio padidėjimui ir adhezijai svarbią reikšmę turi trombocitų aktyvacijos faktorius (PAF). Manoma, kad nuolatinis ir didelis PAF išskyrimas į kraują sužalojus smegenis, gali sukelti leukocitų skaičiaus padidėjimą ir adheziją. Vykstantis insulto metu smegenų kraujagyslių pažeidimas, dėl ko formuojasi ne tik lokali, bet ir sisteminė organizmo reakcija, formuojanti uždegimą, greitėja ENG. Šio rodiklio padidėjimas nustatytas daugiau nei pusei insultu sirgusių mūsų tirtų ligonių.

Pateikta mūsų duomenų analizė ir jų sugretinimas su paskelbtais tarptautinėje ir lietuviškoje literatūroje duomenimis turėtų įtikinti, kad homocisteino biologija ir trombocitų funkcija, vystantis galvos smegenų kraujotakos sutrikimams (PSIP, insultas) vaidina labai svarbų vaidmenį ir neveltui yra pasaulio medicinos biologų, patologų ir biochemikų akiratyje. Lietuvoje trombocitų agregacijos tyrimai neurologijoje iki šiol nebuvo atliekami, ypač su plačiu agregantų panaudojimo spektru. Todėl mūsų sukaupta medžiaga, patirtis ir padarytos išvados yra originalūs, atskleidžia naujus faktus ir ryšius tarp homocisteino koncentracijos pokyčių ir trombocitų agregacijos ypatumų, sukeliant ją natūriniais agonistais (adrenalinas, kolagenas, adenozino difosfatas). Gauti duomenys gali tapti pagrindu patikslinti insulto gydymo gaires Lietuvoje, priklausomai nuo insultą lydinčių patologinių būsenų ar medikamentinio gydymo.

6. IŠVADOS

1. Ištyrus sergančiųjų ūminiais galvos smegenų kraujotakos sutrikimais homocisteino koncentraciją kraujo serume ir trombocitų agregaciją kraujo plazmoje su pagrindiniais natūriniais agregantais (adenozino difosfatas, adrenalinas, kolagenas), nustatyta teigiama koreliacija tarp:

- padidėjusio homocisteino kiekio ir insulto su dideliu neurologiniu deficitu, išeminės širdies ligos, kreatinino ir C-reaktyviojo baltymo koncentracijų;
- vidinės miego arterijos stenozės laipsnio ir homocisteino koncentracijos kraujo serume;
- homocisteino koncentracijos kraujo serume ir amžiaus;
- padidintos homocisteino koncentracijos ir pasikartojančio insulto, todėl homocisteino koncentracijos lygis gali būti panaudotas kaip blogas prognostinis rodiklis naujam ar kartotiniam ūminiam galvos smegenų kraujotakos sutrikimui išsivystyti.

2. Trombocitų agregacija turtingoje trombocitais plazmoje ūminio išeminio galvos smegenų kraujotakos sutrikimo periode statistiškai patikimai padidėja insultu sergančiųjų grupėje, nepriklausomai nuo susirgimo sunkumo.

3. Profilaktinės aspirino dozės hiperhomocisteinemijos fone dalį ligonių neapsaugo nuo išeminio insulto išsivystymo. Aspirino vartojimas turi veiksmingesnį antiagregacinį poveikį moterims nei vyrams: moterų plazmoje trombocitų agregacijos intensyvumas buvo žemesnis su visais agonistais, o vyrų trombocitai, atvirkščiai, į juos reagavo viršnorminiu atsaku.

4. Išeminiu insultu sirgusių ligonių kraujyje dažniau randami policitemija, padidėjęs leukocitų skaičius, ENG, hiperfibrinogenemija kraujo plazmoje – veiksniai, bloginantys kraujo reologines savybes ir dėl to skatinantys kraujagyslių spindžio ir kraujo tėkmės mažėjimą, sukeliantys išeminį insultą.

7. LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Aarden L, Helle M, Boeije L, et al. Differential induction of interleukin-6 production in monocytes, endothelial cells and smooth muscle cells. *Eur Cytokine Netw* 1991;2:115-20.
2. Abahji TN, Nill L, Iole N, et al. Acute hyperhomocysteinemia induces microvascular and macrovascular endothelial dysfunction. *Arch Med Res* 2007;38; 411-6.
3. Abdella NA, Mojiminiyi OA, Akauji AO, et al. Associations of plazma homocysteine concentration in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 2002 Dec;39(4):183-90.
4. Adam Splaver , Gervasio A. Lamas, Charles H. Hennekens. Homocysteine and cardiovascular disease: Biological mechanisms, observational epidemiology, and the need for randomized trials. *Am Heart J* 2004;148:34-40.
5. Adams AK, Wermuth EO, McBride PE. Antioxidant vitamins and the prevention of coronary heart disease. *Am Fam Physician* 1999;60:385-904.
6. Adunsky A, Weitzman A, Fleissig Y, et al. The relation of plazma total homocysteine levels to prevalent cardiovascular disease in older patients with ischemic stroke. *Aging (Milano)* 2000 Feb;12(1):48-52.
7. Ala Y, Palkey O, Favero J, et al. Hypoxia / reoxygenation stimulates endothelial cells to promote interleukin – 1 and interleukin – 6 productions. Effects of free radical scavengers. *Agents Actions* 1992;37:134-9.
8. Albers GW, Amarenco P, Easton JD, et. al. Antithrombotic and Thrombolytic Therapy for Ischemic Stroke. The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy *Chest* 2004;126:483S-512S.
9. Andersson A, Hultberg B, Brattstrom L. et al. Decreased serum homocysteine in pregnancy. *Eur J Clin Chem Biochem* 1992;30:377-9.
10. Anker G, Lonning PE, Ueland PM. et al. Plasma concentration of the atherogenic amino acid homocysteine in post-menopausal women with breast cancer treated with tamoxifen. *Int J Cancer* 1995;60(3):365-8.
11. Armando D, Angelo, Tavola A, Fermo I, et al. Moderate Hyperhomocysteinemia and Central Retinal Vein Occlusion. *Thromb Haemost* 2002;87:1078-9.
12. Aslan K, Bozdemir H, Unsal C, et al. The effect of antiepileptic drugs on vitamin B12 metabolism. *Int j Lab Hematol* 2008;30:26-35.

13. Aubard Y, Darodes N, Cantaloube M. Hyperhomocysteinaemia and pregnancy-review of our present understanding and therapeutic implications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000;93(2):152-65.
14. Azzabi S, Barhoumi A, Omar S, et al. Late revelation of homocysteinuria: Clinical, biological and progressive aspects. *Pathol Biol* 2008, 27.
15. Badarienė J, Petrulionienė Ž, Dženkevičiūtė V, ir kt. Pacientų, sergančių koronarine širdies liga, hiperhomocisteinemijos dažnis ir jos ryšys su kitais rizikos faktoriais. *Kardiologijos seminarai* 2001, t 7, Nr.3.
16. Baltrušaitis K, Lubyte J, Slavėnienė LI, ir kt. Jungiamasis audinys. Kraujas ir limfa. *Histologija*. Vilnius: Mokslas;1990. p.127-8.
17. Basu TK, Mann S. Vitamin B₆ normalizes the altered sulphur aminoacid status of rats fed diets containing pharmacological concentration of niacin without reducing niacin hypolipidemic effect. *J Nutr* 1997;127:117-21.
18. Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E. et al. Increased intake of calcium reverses vitamin B₁₂ malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care* 2000;23(9):1227-31.
19. Baushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995 Oct 4;274(13):1049-57.
20. Bazzano LA, He J, Muntner P, et al. Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United states. 3 June 2003;138(11):891-897.
21. Becker A, Kostense PJ, Bos G, et al. Hyperhomocysteinaemia is associated with coronary events in type 2 diabetes. *J Intern Med* 2003 Mar;253(3):293-300.
22. Berdnarek- Tupikowska G, Tupikowski K, Bohdanowicz- Pawlak A, et al. Evaluation of the influence of sex hormones on homocysteine concentration in pre- and postmenopausal women. *Pol Merkur Lekarski* 2005;18:189-91.
23. Berger P. Hyperhomocysteinemia:an important risk factor for cardiovascular disease? Not yet! *J Thromb Haemost* 2003;1:1876-7.
24. Berkowitz SD, Frelinger III AL, Hillman RS. Progress in point-of-care laboratory testing for assessing platelet function. *Am Heart J* 1998;136:S51-S65.
25. Birgül Vanizor Kural, Asim Örem, Gülseren Cimsit et al. Plasma homocysteine and its relationships with atherothrombotic markers in psoriatic patients. *Clinica Chimica Acta* 2003;332:23-30.

26. Blann AD, Ridker PM, Lip GY. Inflammation, cell adhesion molecules, and stroke: tools in pathophysiology and epidemiology? *Stroke* 2002;33:2141-2143.
27. Boggild H, Knutsson A. Shift work, risk factors and cardiovascular disease. *Scand J Work Environ Health* 1999;25:85-99.
28. Bolander-Gouaille C. PS on homocysteine as a risk factor of cardiovascular disease. *Lakartidningen* 2000;97(22):2786-7.
29. Born GVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 1962;194:927-9.
30. Bottiglieri T, Laundy M, Crellin R, et al. Homocysteine, folate, methylation and monoamine metabolism in depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000;69:228-232.
31. Bottiglieri T, Parnetti L, Arning E, et al. Plasma total homocysteine levels and the C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR) gene: a study in an Italian population with dementia. *Mech Ageing Dev* 2001;122(16):2013-23.
32. Boushey CJ. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 1995;274:1049-1057.
33. Brattstrom LE, Wileken DE. Homocysteine and cardiovascular disease: cause or effect? *Am J Clin Nutr* 2000;72(2):315-23.
34. Brattstrom LE. Vitamins as homocysteine lowering agents. *J Nutr* 1996;126:1276-1280.
35. Budrys V. Galvos smegenų insultas: fatališka neišvengiamybė ar...? *Neurologijos seminarai* 1998 Nr. 1(3) psl.5-7.
36. Buysschaert M, Dramais AS, Wallemaca PE, et al. Hyperhomocysteinemia in type 2 diabetes: relationship to macroangiography, nephropathy, and insulin resistance. *Diabetes Care* 2000 Dec;23(12):1816-22.
37. Burke AP, Fauseca V, Kolodgie F, et al. Increased screen homocysteine and sudden death resulting from coronary atherosclerosis with fibrous plaques. *Arteriocler Thromb Vasc Biol* 2002 Nov 1;22(11):1963-41.
38. Carper J. Būkime visada jauni! *Alma littera* . Vilnius. 2000, P.78-79.
39. Carson NA, Neill DW. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. *Arch Dis Child* 1962 Oct; 37:505-13.
40. Cattaneo M, Baglientto L, Zighetti ML, et al. Tamoxifen reduces plasma homocysteine levels in healthy women. *Brit J Cancer* 1998;77:2264-6.

41. Cattaneo M, Lambardi R, Lechi A, et al. Low plasma levels of vitamins B(6) are independently associated with a heightened risk of deep-vein thrombosis. *Circulation*. 2001 Nov 13;104(20):2442-6.
42. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia: an important risk factor for cardiovascular disease? Potentially, yes. *J Thromb Haemost* 2003;1;1878-9.
43. Cherian P, Hankey J, Eikelboom JW, et al. Endothelial and platelet activation in Acute Ischemic Stroke and Its etiological Subtypes. *Stroke* 2003;34:2133-2137.
44. Christ-Crain M, Meier Ch, Guglielmetti M, et al. Elevated C-reactive protein and homocysteine values: cardiovascular risk factors in hypothyroidism? A cross – sectional and a double – blind, placebo – controlled trial. *Atherosclerosis* 2003;166: 379-386.
45. Christen WG, Ajani UA, Glynn RJ, et al. Blood levels of homocysteine and increased risks of cardiovascular disease: causal or casual? *Arch Inter Med* 2000;160:422-434.
46. Cybulsky MI, Gimbrone MA. Endothelial expression of a mononuclear leucocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 1999;251:788-91.
47. Ciccarone E, Di Castelnuovo A, Assanelli D. et al. Homocysteine levels are associated with the severity of peripheral arterial disease in Type 2 diabetic patients. *J Thromb Haemost* 2003;1:2540-7.
48. Clarke R. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomized trials. *BMJ* 1998 March 21;316(7135):894-898.
49. Clarke R., Armitage J. Vitamin supplements and cardiovascular risk: review of the randomized trials of homocysteine – lowering vitamin supplement. *Semin Thromb Haemost*. 2000; 26:341-348.
50. Čerkauskienė R, Kaltenis P, Ročkienė R, ir kt. Gliukokortikoidams jautrių nefrozinių sindromų sergančių vaikų homocisteino apykaita. *Laboratorinė medicina* 2003 Nr. 1(17) psl. 14-17.
51. D'Angelo A, Coppola A, Madonna P, et al. The role of vitamin B₁₂ in fasting hyperhomocysteinemia and its interaction with the homozygous C₆ 77TT mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene. A Case – control study of patients with early – onset thrombotic effects. *Thromb Haemost* 2000;83:563-70.
52. Danavahi R, Cossrow N, Kushner H, et al. Plasma homocysteine concentration and blood pressure in young adult African Americans. *Am J Hypertens* 2003;16:767-770.

53. Dardik R, Varon D, Tamarin I, et al. Homocysteine and oxidized low density lipoprotein enhanced platelet adhesion to endothelial cells under flow conditions: distinct mechanisms of thrombogenic modulation. *Thromb Haemost* 2000;83:338-344.
54. Davidson M, Kuo CC, Middaugh JP, et al. Confirmed previous infection with *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) and its presence in early coronary atherosclerosis. *Circulation* 1998;98:628-33.
55. De Bree A, Verschuren WM, Blok HJ, et al. Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in a general population sample. *Am J Epidemiol* 2001;154(2):150-4.
56. De Logeril M, Salen O, Paillard F, et al. Lipid-lowering drugs and homocysteine. *Lancet* 1999;353:209-10.
57. Demuth K, Atger V, Borderie D, et al. Homocysteine decreases endothelin-1 production by cultured human endothelial cells. *Eur J Biochem* 1999;263:367-76.
58. Desouza C, Keebler M, NeNamara DB, et al. Redrugs affecting homocysteine metabolism: impact on cardiovascular risk. *Drugs* 2002;62:605-16.
59. Didier Leys (Lilis). Aterotrombozė: viena svarbiausių sveikatos problemų. *Neurologijos seminarai* 2001; Priedas 1: 7-8.
60. Dierkes J, Westphal S, Luley C. Serum homocysteine increases after therapy with fenofibrate or bezafibrate. *Lancet* 1999;354:219-20.
61. Doshi SN, McDowell IF, Moat SJ, et al. Folic acid improves endothelial function in coronary artery disease via mechanisms largely independent of homocysteine lowering. *Circulation* 2002;105:22-6.
62. Drunat S, Moatti N, Paul J, et al. Homocysteine-induced decrease in endothelin-1 production is initiated at the extracellular level and involves oxidative products. *Eur J Biochem* 2001;268:5287-94.
63. Eikelboom JW, Hankey GJ, Anand SS, 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 May; 31(5):1069-75.
64. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, et al. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002;105(140):1650-1655.
65. Eikelboom JW, Lonn E, Genest JJ, et al. Homocysteine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiological evidence. *Ann Intern Med* 1999;131:363-375.

66. Elliott WJ. Circadian variation in the timing of stroke onset: a meta analysis. *Stroke* 1998;29:992-996.
67. Ercan M, Konukoglu D. Role of plasma viscosity and plasma viscosity and plasma homocysteine level on hyperinsulinemic obese female subjects. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008;38:227-34.
68. Exner M, Hermann M, Hobauer R, et al. Homocysteine promotes the LDL oxidase activity of ceruloplasmin. *Febs Lett* 2002;531(3):402-6.
69. Fateh-Moghadam S , Htun P, Tomandl B, et al. Hyperresponsiveness of platelets in ischemic stroke. *Thromb Haemost* 2007;97(6):974-978.
70. Feigin RD, Klainer AS, Beisel WR. Circadian periodicity of blood amino-acids in adult men. *Nature* 1967;215:512-514.
71. Ferraris E, Marzocchi N, Brovia D, et al. Homocysteine levels and cardiovascular disease in migraine with aura. *J Headache Pain* 2003;4:62-66.
72. Ferretti G, Bacchetti T, Marrotti E, et al. Effect of homocysteinylolation on human high-density lipoproteins: a correlation with paraoxonase activity. *Metabolism* 2003;52(2):146-51.
73. Fijnheer R. Homocysteine methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, antiphospholipid antibodies and tromboembolic events in SLE: A retrospective study. *J Rheumatology* 1998;25:9.
74. Finkelstein JD. Homoceptine: a. history in progress. *Nutr Rev* 2000 Jul; 58(7):193-204.
75. Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, et al. Prospective study of coronaary heart disease incidente in relation to fasting total homocysteine related genetic polymorphism and B vitamins: the atherosclerosis risk in communities (ARIC). *Circulation* 1998;98:204-210.
76. Fonseca VA, Dicker-Brown A, Ranganathan S, et al. Effects of a high fat-sucrose dict on enzymes in homocysteine metabolism in the rat. *Metabolizm* 2000;49(6):736-41.
77. Fonseca VA, Mudaliar S, Schmidt B, et al. Plasma homocysteine concentrations are regulated by acuta hyperinsulinemia in non-diabetic but not type 2 diabetic subjects. *Metab Clin Exp* 1998;47:686-89.
78. Fujisawa M, Okumiya K, Matsubayaski K, et al. Factors associated with carotid atherosclerosis in community-dweling oldest elderly aged over 80 years. *Geriatr gerontol Int* 2008;8:12-8.

79. Franken DG, Boers GH, Blom BJ, et al. Treatment of mild hyperhomocysteinemia in vascular disease patients. *Arterioscler Thromb* 1994;14(3):465-470.
80. Gambacciani M, Mannella P. Homocysteine, menopause and cardiovascular disease. *Menopause Int* 2007;13:23-6.
81. Gawaz M. Blood platelets. Stuttgart-New York: Thieme 2001.
82. Gerdes VEA, Kremer Hovinga HA, Ten Cate H, et al. Homocysteine and markers of coagulation and endothelial cell activation. *J Thromb Haemost* 2004;2:445-51.
83. Gerritsen T, Vaughn JG, Waisman HA. The identification of homocysteine in the urine. *Biochem Biophys Res Commun* 1962 Dec;19(9):493-6.
84. Gibson JB, Carson NA, Neil DW. Pathological findings in homocystinuria. *J Clin Pathol* 1964 Jul;17:427-37.
85. Giltay EJ, Hoogeveen EK, Ellers JM, et al. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy nonobese subjects. *Atherosclerosis* 1998;139:197-98.
86. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ et al; American Heart Association; American Stroke Association Stroke Council. Primary prevention of ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council: cosponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Council; and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. *Circulation* 2006;113(24):873-923.
87. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, et al. Primary Prevention of ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/ American Stroke Association Stroke Council: cosponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group. *Stroke* 2006;37(6):1583-1633.
88. Graeme J, Hankey. *Insultas*. Vilnius: UAB "Vaistų žinios". 2007m. -398 p.
89. Green TJ, Houghton LA, Donovan U, et al. Oral contraceptives did not affect biochemical folate indexes and homocysteine concentrations in adolescent females. *J Am Diet Assoc* 1998;98:49-55.
90. Grybauskas P. Kraujo krešėjimo sistemos funkcionavimo ir laboratorinio tyrimo pagrindai. Kaunas: KMA leidykla; 1995. p. 4-7

91. Grybauskas P. Kraujo krešėjimo sistemos struktūra ir krešulio susidarymo biologinė esmė. Ultragarsinė koaguliometrija. Kaunas: KMU Kardiologijos institutas; 1998. p.155-63.
92. Grybauskas P. Trombocitų agregaciją slopinantys vaistai: veksminga širdies ir smegenų kraujagyslių trombozės profilaktika. Gydytojas 2002;04(80):69-70.
93. Grybauskas P. Trombocitų funkcijos reguliavimo galimybės: aspirino ir tienopiridino(klopidogrelis) vartojimo problemos. Gydytojas 2007m. Nr. 11(146) p. 20-25.
94. Gurbel PA, Blinden KP, Hayes KM, et al. Platelet activation in myocardial ischemic syndromes. Expert Rev Cardiovasc Ther 2004;2:535-545.
95. Hajjar KA. Homocysteine- induced modulation of tissue plasminogen activator binding to its endothelial cell membrane receptor. J Clin Invest 1993;91:2873-2879.
96. Hajjar KA. Homocysteine: asulfrous fire. J Clin Invest, 2001;107:663-664.
97. Hakan AY, Arsova EM, Tokgozoglul SL, et al. Hyperhomocysteinemia is associated with the presence of left atrial Thrombus in Stroke patients with nonvalvular atrial fibrillation . Stroke 2003;34:909-912.
98. Haltmayer M, Mueller T, Lange W, et al. Relation between homocysteine and non-fatal stroke in peripheral arterial disease. Eur J Neurol 2002 Nov;9(6):609-14.
99. Hankey GJ. Preventable stroke and stroke prevention. J Thromb Haemost 2005;3:1638-45.
100. Harats D, Yodfat O, Dodman R, et al. Homocysteine elevation with fibrates: is it a class effect? Isr Med Assoc J 2001;3:243-6.
101. Harrison P. Platelet function analysis. Elsevier 2004. Available from: <http://www.elsevierhealth.com/journals/blre>
102. Helgason CM, Bolin KM, Hoff JA, et al. Development of aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke. Stroke 1994;25:2331-2336.
103. Herrmann W, Knapp JP. Hyperhomocysteinemia: a new risk factor for degenerative diseases. Clin Lab 2002;48(9-10):471-81.
104. Hiroyuki Morita, Hiroki Kurihara, Tomoyuki Kuwaki, et al. Homocysteine as a Risk Factor for Restenosis after Coronary angioplasty. J Thromb Haemost 2000;84:27-31.

105. Hogeveen EK, Kostense PJ, Jakobs C, et al. Hyperhomocysteinemia increases risk of death, especially in type 2 diabetes: 5 – year follow-up of the Noorn Study. *Circulation Research* 2000;101:1506-1511.
106. Hohlfield T, Weber AA, Junghans U, et al. Variable platelet response to aspirin in patients with ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 2007;24(1):43-50.
107. Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA*. 2002 Oct 23-30;288(16):2015-22.
108. Hossain GS, van Thienen JV, Werstuck GH et al. TDAG51 is induced by homocysteine, promotes detachment mediated programmed cell death, and contributes to the development of atherosclerosis in hyperhomocysteinemia. *J Biol Chem* 2003;278(32):30317-27.
109. Hussein WI, Green R, Jacobsen DW, et al. Normalization of hyperhomocysteinemia with L – thyroline in hypothyroidism. *Ann Intern Med* 1999;131(5):348-51
110. Ihara A, Kawamoto T, Matsumoto K, et al. Relationship between platelet indexes and coronary angiographic findings in patients with ischemic heart disease. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2006;35:376-9.
111. Inamoto N, Katsuya T, Kokubo Y, et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism with carotid atherosclerosis depending on smoking status in a Japanese general population. *Stroke* 2003;34(7):1628-33.
112. Yun Jong Lee, Seong Wook Kang, Jog In Yang, Youg – Mi Choi, et al. Coagulation parameters and plasma total homocysteine levels in Bencet's disease. *Thrombosis Research* 2002;106:19-24.
113. Jacques PF, Bostom AG, Selhub J, et al. Effects of polymorphisms of methionine synthase and methionine synthase reductase on total plasma homocysteine in the NHLBI family heart study. *Atherosclerosis* 2003;166:49-55.
114. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996;93:7-9.
115. Jarosz A, Nowicka G. C- reactive protein and homocysteine as risk factors of atherosclerosis. *Przegl Lek* 2008;65:268-72.

116. Jandrot-Perrus M, Busfield S, Lagrue AH, et al. Cloning, characterization and functional studies of human and mouse glycoprotein VI: a platelet-specific collagen receptor from the immunoglobulin superfamily. *Blood* 2000;96(5):1798-807.
117. Jong SC, de Stehouwer CDA, Berg M, et al. Endothelial marker proteins in hyperhomocysteinemia. *Thromb Haemostas* 1997;78:1332-1337.
118. Joosten E. Homocysteine, vascular dementia and Alzheimer's disease. *Clin Chem Lab Med* 2001;39(8):717-20.
119. Kahleova R, Palyzova D, Zvara K, et al. Essential hypertension in adolescents: association with insulin resistance and with metabolism of homocysteine and vitamins. *Am J Hypertens* 2002;15:857-864.
120. Kahn ML. Platelet-collagen responses: molecular basis and therapeutic promise. *Semin.ThrombHemost* 2004;30(4):419-25.
121. Karčiauskaitė D, Kučinskienė Z. Streso fiziologija ir jo vaidmuo aterosklerozės patogenezėje. *Laboratorinė medicina* 2008, t.10,Nr.2(38), p 115-119.
122. Karabudak O, Ulosoy RE, Erikci AA, et al. Inflammation and hypercoagulable state in adult psoriatic men. *Acta Derm Venerol* 2008;88:337-40.
123. Kawasaki T, Ozeki Y, Igawa T, et al. Increased platelet sensitivity to collagen in individuals resistant to low dose aspirin. *Stroke* 2000;31:591-5.
124. Keijzer MB, den Heijer M, Blom HJ, et al. Interaction between hyperhomocysteinemia, mutated methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR) and inherited thrombophilic factors in recurrent venous thrombosis. *Thromb Haemost* 2002;88(5):723-8.
125. Kelly PJ, Furie KL, Kistler JP, et al. Stroke in young patients with hyperhomocysteinemia due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Neurology* 2003 Jan 28;60(2):275-9.
126. Kelly PJ, Rosand J, Kistler JP, et al. Homocysteine, MTHFR 677CT polymorphism, and risk of ischemic stroke: results of a meta-analysis. *Neurology* 2002 Aug 27;59(4):529-36.
127. Kleinschnitz C, Pozqajova M, Pham M, et al. Targeting platelets in acute experimental stroke: impact of glycoprotein Ib, VI, and IIb/IIIa blockade on infarct size, functional outcome, and intracranial bleeding. *Circulation* 2007;115(17):2323-30.
128. Knutsson A, Boggild H: Shiftwork and cardiovascular disease:review of disease mechanisms.*Rev Environ Health* 2000;15:359-372.

129. Koga T, Claycombe K, Meydani M. Homocysteine increases monocyte and T-cell adhesion to human aortic endothelial cells. *Atherosclerosis* 2002;161:365-374.
130. Kokame K, Kato H, Mlyata T. Homocysteine respondent genes in vascular endothelial cells identified by differential display analysis. *J Biol Chem* 1996;271:29659-65.
131. Kozlovaitė V. Aterosklerozė ir trombocitų disfunkcija. *Biomedicina*. 2002. T.2, N.1, p.81-83.
132. Kučinskienė Z. Biocheminiai aterosklerozės žymenys. *Laboratorinė medicina* 1999 Nr.1. p. 23-31.
133. Laucevičius A. Kraujagyslių biologija. *Internistas*. 2003;8, p.54.
134. Lauricella AM, Quintana IL, Kordich LC. Effects of homocysteine thiol group of fibrin networks: another possible mechanism of harm. *Thromb Res* 2002; 107: 75-79.
135. Lavie L, Lavie P. Daily rhythms in plasma levels of homocysteine. *Journal Circadian Rhythms* 2004 Sep 3;2(1):5.
136. Leblhuber F, Walli J, Artner-Dworzak E, et al. Hyperhomocysteinemia in dementia. *J Neural Transm* 2000;107:1469-1474.
137. Lee JM, Zipfel GJ, Choi DW. The changing landscape of ischemic brain injury mechanisms. *Nature* 1999;399(Suppl);A7-A14.
138. Lehman M, Gottfries CG, Regland B. Identification of cognitive impairment in the elderly: homocysteine in an early marker. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1999;10(1):12-20.
139. Lendz SR, Sadler JE. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. *J Clin Invest* 1991;88:1906-1914.
140. Lentz SR, Sobey SG, Piegors DJ, et al. Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocysteinemia. *J Clin Invest* 1996; 98:24-29.
141. Leung WK, Ma PK, Choi PC, et al. Correlation between *Helicobacter pylori* infection, gastric inflammation and serum homocysteine concentration. *Helicobacter* 2001 Jun;6(2):146-50.
142. Lien EA, Nedreb BG, Varhaug JE, et al. Plasma total homocysteine levels during short-term iatrogenic hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1049-1053.

143. Lynch SM, Campione AL, Moore MK. Plasma thiols inhibit hemin – dependent oxidation of human low density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 2000;1485:215-21.
144. Ling Q, Haijar KA. Inhibition of endothelial cell thromboresistance by homocysteine. *J Nutr* 2000;130:373S-376S.
145. Lynn OK, Chung YH, Siow YL, et al. Homocysteine stimulates the production and secretion of cholesterol in hepatic cells. *Biochim Biophys Acta* 1998 Aug ;1393(2-3):317-24.
146. Loscalzo J. Homocysteine and dementias. *N Engl J Med* 2002 Feb 14;346(7):466-8.
147. Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocysteinemia. *J Clin Invest* 1996;98:5-7.
148. Lubec B, Arbeiter K, Hoeger H, et al. Increased cyclin dependent kinase in aortic tissue of rats fed homocysteine. *Thromb Haemostas* 1996;75:542-545.
149. Macchi L, Sorel N, Christiaens L. Aspirin resistance: Definitions, mechanisms, prevalence, and clinical significance. *Curr Phar. Des.* 2006;12(2): 251-8.
150. Maclean KN, Gaustadnes M, Oliverinsova J, et al. High homocysteine and thrombosis without connective tissue disorders are associated with a novel class of cystathionine beta-synthase (CBS) mutations. *Hum Mutat* 2002 Jun;19(6):641-55.
151. Mayer EL, Jacobsen DW, Robinson K. Homocysteine and coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:517-527.
152. Majors A, Ehrhart LA, Pezacha EH. Homocysteine as a risk factor for vascular disease. Enhanced collagen production and accumulation by smooth muscle cells. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2074-2781.
153. Majors AK, Sengupta S, Willard B, et al. Homocysteine binds to human plasma fibronectin and inhibits its interaction with fibrin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002 Aug 1;22(8):1354-9.
154. Mangoni AA, Sherwood RA, Swift CG, et al. Folic acid enhances endothelial function and reduces blood pressure in smokers: a randomized controlled trial. *Intern Med* 2002;252(6):497-503.
155. Marcucci R, Prisco D, Brunelli T, et al. Tissue factor and homocysteine in ischemic heart disease are associated with angiographically documented clinical recurrences after coronary angioplasty. *Thrombosis Haemostasis* 2000;83:826-832.

156. Marčiulionienė E. „Yourlife“ vitaminų širdžiai derinys – paprasta ir veiksminga širdies ir kraujagyslių ligų profilaktika. *Gydymo menas* 2001;2 (65).p.70-73.
157. Martins PJF, D’Almeida V, Vergani N, et al. Increased plasma homocysteine levels in shift working bus drivers. *Occup Environ Med* 2003;60:662-666.
158. Martinez Laborda S, Salazar Garcia-Blanco MI, Rodrigual M, et al. Total homocysteine levels in children with diabetes type 1. Conditional factors. *An Pediatr (Bars)* 2008;68:264-8.
159. Mattencci E, Rossi L, Mariani S, et al. Blood levels of total homocysteine in patients with type 1 diabetes (with no complications, diabetic nephropathy and / or retinopathy) and in their non-diabetic relatives. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2002 Aug; 12(4):184-9.
160. McCarty MF. Increased homocysteine associated with smoking, chronic inflammation and aging may reflect acute – phase induction of pyridoxal phosphate activity. *Med Hypotheses* 2000;55:289-93.
161. McDonald CC, Alexander FE, White W, et al. Cardiac and vascular morbidity in women receiving adjuvant tamoxifen for breast cancer in a randomized trial. *Br Med J* 1995;311:977-80.
162. Me Cully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nat Med* 1996;2: 386-389.
163. Mehrabi MR, Hubert K, Serbecic N, et al. Elevated homocysteine serum level is associated with low enrichment of homocysteine in coronary arteries of patients with coronary artery disease. *Thromb Res* 2002;107:189-196.
164. Melenovsky V, Stulc T, Kozich V, et al. Effect of folic acid on fenofibrate-induced elevation of homocysteine and cysteine. *Am Heart J* 2003;146(1):110.
165. Mikalauskaitė D. Mitybos normos ir sveikata . *Mokslas ir gyvenimas* 2001 Nr.6. p. 11.
166. Mohan IV, Jagroop IA, Mikhailidis DP et al. Homocysteine activates platelets in vitro. *Clin Appl Thromb Hemost* 2008;14:8-18.
167. Morita H, Kurihara H, Tsubaki S, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke in Japanese. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998 Sept;18(9):1465-9.
168. Mukherjee D, Moliterno DJ. Applications of anti-platelet monitoring in catheterization laboratory. *J of Thrombosis and Thrombolysis* 2000;9:293-301.

169. Musarrat K, Kalathil D, Varughese GI. Metformin, B12 and homocysteine levels: the plausible cause or effect? *J Formos Med Assoc* 2008; 107:505-6.
170. Mutus B, Rabini RA, Staffolani R, et al. Homocysteine – induced inhibition of nitric oxide production in platelets: a study on healthy and diabetic subjects. *Diabetologia* 2001;44(8):979-82.
171. Nagy ZS, Smith MZ, Esiri MM, et al. Hyperhomocysteinaemia in Alzheimer's disease and expression of cell cycle markers in the brain. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000;69(4):565-6.
172. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997;337:230-6.
173. Nestel PJ, Chronopoulos A, Cehun M. Arterial stiffness is rapidly induced by raising the plasma homocysteine concentration with methionine. *Atherosclerosis* 2003;171(1):83-6.
174. Ndrepepa G, Kastrati A, Braun S, et al. Circulating homocysteine levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008;18:66-73.
175. Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, et al. Assessment of platelet function assays. *American Heart Journal* 1998;135:S170-S178.
176. O'Callaghan P, Meleady R, Fitzgerald T, Graham I. and the European COMAC group. Smoking and plasma homocysteine. *European Heart Journal* 2002;23:1580-1586.
177. O'Grady HL, Leaky A, Cormick P et al. Oral folic acid improves endothelial dysfunction in cigarette smokers. *J Surg Res* 2002;106:342-5.
178. Olas B, Kedzierska H, Wachowicz B. Comparative studies on homocysteine and its metabolite-homocysteine thiolactone action in blood platelets in vitro. *Platelets* 2008;19:520-7.
179. Orzechowska-Povilojc A, Lewczuk A, Sworczak k, et al. The influence of thyroid hormones on homocysteine and atherosclerotic vascular disease. *Endocrinol Pol* 2005;56:194-202.
180. Pagan K, Hou J, Goldenberg RL, et al. Effect of smoking on serum concentrations of total homocysteine and B vitamins in mid-pregnancy. *Clin Chim Acta* 2001;306:103-9.
181. Pay JG, Harvey DT. Hyperhomocysteinemia as a cause of premature stroke in young patients. *Arch Phys Med Rehabil* 1998;79(3):343-345.

182. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Zeimbekis A, et al. The association between lifestyle-related factors and plasma homocysteine levels in healthy individuals from the „Attica“ study. *Intern J Cardiol* 2005 ;98(3):471-7.
183. Pangraz E. Measurement of platelet aggregation during antiplatelet therapy in ischemic stroke. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004;30(3-4):237-42.
184. Papatheodoru L, Weiss N. Vascular oxidant stress and inflammation in hyperhomocysteinemia. *Antioxid Redox Signal* 2007;1941-58.
185. Parry IJ, Retsum H, Morris RW, et al. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 1995;346:1395-1396.
186. Pavia C, Artuch R, Ferrer I, et al. Total homocysteine in patients with Type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2000;23:84-87.
187. Perna A, Ingrosso D., Galletti P, Zappia V, et al. Membrane protein damage and methylation reactions in chronic renal failure. *Kidney Int* 1996;50:358-366.
188. Pober JS, Coutran RS. The role of endothelial cells in inflammation. *Transplantation* 1990;50:537-44.
189. Potter k, Hankey GJ, Green DJ, et al. The effect of long-term homocysteine-lowering on carotid intima-media thickness and flow-mediated vasodilatation in stroke patients;a randomised controlled and meta- analysis. *Cardiovasc Disord* 2008;20:8-24.
190. Prestigiacomo CJ, Klim SC, Conndly E, et al. Cd-18 mediated neutrophil recruitment contributes to the pathogenesis of reperfused but not nonreperfused stroke. *Stroke* 1999;30:1110-1117.
191. Ray JG. Meta-analysis of hyperhomocysteinemia as a risk factor for venous thromboembolic diasease. *Arch Intern Med* 1998 Oct 26;158(9):2101-6.
192. Rajani Dinavahi, Bonita Falkner. Relationship of Homocysteine With Cardiovascular Disease and Blood Pressure. *J Clin Hypertens* 2004;6(9):494-500.
193. Ratnam S, Maclean KN, Jacobs RL, et al. Hormonal regulation of cystathionine beta-sythase expression in liver. *J Biol Chem* 2002 Nov 8; 277(45):42912-8.
194. Reis RP, Azinheira J, Reis HP, et al. Influence of smoking on homocysteinemia at baseline and after methionine load. *Rev Port Cardiol* 2000;19:471-4.
195. Ross R. Atherosclerosis, an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.

196. Rothenbacher D, Fischer HG, Hoffmeister A, et al. Homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase genotype: association with risk of coronary heart disease and relation to inflammatory, hemostatic, and lipid parameters. *Atherosclerosis* 2002;162:193-00.
197. Sacco RL, Adams R, Albers G, et al. American Heart Association/American Stroke Association Council on Stroke; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; American Academy of Neurology. Guidelines for prevention of stroke in patients with ischemic stroke or transient ischemic attack: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association Council on Stroke: co-sponsored by the Council on Cardiovascular Radiology and Intervention: the American Academy of Neurology affirms the value of this guideline. *Circulation* 2006;113(10):e409-49.
198. Sacco RL. Newer risk factors for stroke. *Neurology* 2002;57(5 Suppl 2):831-4.
199. Sainani GS, Sainani R. Homocysteine and its role in the pathogenesis of atherosclerotic vascular disease. *J Assoc Physicians India* 2002;Suppl.:16-23.
200. Salardi S, Cacciari E, Sassi S, et al. Homocysteinemia, serum folate and vitamin B₁₂ in very young patients with diabetes mellitus type 1. *J Pediatr Endo Metab* 2000;13(9):1621-1627.
201. Santi R, Demicheli M, Contino L, et al. Homocysteine plasma levels after suspension of vitamin treatment. *J Thromb Haemost* 2003;1:1330-2.
202. Sasaki T, Watanabe M, Nagai Y, Hoski T, Takasawa M, et al. Association of plasma homocysteine concentration with atherosclerotic carotid plaques and lacunar infarction. *Stroke* 2002 Jun;33(6):1493-6.
203. Savage D G, Lindenbaum J, Stabler S P, et al. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinants for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med* 1994;96:239-246.
204. Schimke RN, Mckusich VA, Huang T, et al. Homocystinuria. Studies of 20 families with affected members. *JAMA* 1965 Aug 30;193:711-9.
205. Selhub J, Bagley LC, Miller J, et al. B Vitamins, homocysteine, and neurocognitive function in the elderly. *Am J Clin Nutr* 2000;71:614S-20S.
206. Sen S, Oppenheimer SA, Lima J, et al. Risk factors for progression of aortic atheroma in stroke and transient ischaemic attack patients. *Stroke* 2002;33:930-5.

207. Sener U, Zorlu Y, Karaguzel O et al. Effects of comon antiepileptic drug monotherapy on serum levels of homocysteine vitamin B12, folic acid and vitamin B6.
208. Seshadri S, Beiser A, Selhub J, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002;346(7):476-483.
209. Severus WE, Littman AB. Stoll AL. Omega-3 fatty acids, homocysteine , and the increased risk of cardiovascular mortality in major depressive disorder. *Harv Rev psychiatry* 2001;9(60):280-93.
210. Sharabi Y, Doolman R, Rosenthal T, et al. Homocysteine levels in hypertensive patients with with a history of cardiac or cerebral atherotrombotic events. *Am J Hypertens* 1999;12:766-771.
211. Shimomura T, Anan F, Umeno Y, et al. Hyperhomocysteinemia in a significant risk factor for white matter lesions in Japanese type 2 diabetic patients. *Eur J Neurol* 2008;15:289-94.
212. Shipchandler MT, Moore EG, Rapid, fully automated measurement of plasma homocyst(e)ine with the Abbott IMX analyser // *Clin Chem* 1995;41:991-994.
213. Signorello MG, Pascale R, Leoncini G. Effect of homocysteine on arachidonic acid release in human platelets. *Eur J Clin Inves* 2002;32:279-284.
214. Songailienė J, Kaubrys G, Bogušienė I, ir kt. Homocisteinas, demencija ir aterosklerozė. *Laboratorinė medicina* 2003, Nr. 3(19). p. 8-15.
215. Stalioraitytė E, Ptašekas R, Pangonytė D. ir kiti. *Patologinė anatomija*. Kaunas 2001. p. 106-107.
216. Stamler JS, Osborne JA, Jarakt O, et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium – derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest* 1993;91:308-318.
217. Stamler JS, Osborne JA, Jarakt OD, et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium – derived survey epidemiologic follow-up study. *Stroke* 1995;26:166-170.
218. Stanger OH, Semmelrock HJ, Rehak P, Tiran B, et al. Hyperhomocysteinemia and Chlamydia pneumoniae IgG seropositivty in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2002;162:157-162.
219. Stangl V, Gunther C, Jarrin A, et al. Homocysteine inhibits TNF-alpha induced endothelial adhesion molecule expression and monocyte adhesion via nuclear factor-koppaB dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;280:1093-100.

220. Stehouwer CD, Gall MA, Hougaard P, et al. Plasma homocysteine concentration predict mortality in non-insulin-dependent diabetic patients with and without albuminuria. *Kidney International* 1999;55:308-14.
221. Streifler JY, Rosenberg N, Chetrit A, et al. Cerebrovascular events in patients with significant stenosis of the carotid artery are associated with hyperhomocysteinemia and platelet antigen-1(Leu-33 Pro) polymorphism. *Stroke* 2001;32:2753-2758.
222. Subar AF, Harlan LC, Mattson ME. Food and nutrient differences between smokers and nonsmokers in the US. *Am J Public Health* 1990;80:1323-9.
223. Sutton-Tyrrell K, Bostom A, Selhub J, et al. High homocysteine levels are independently related to isolated systolic hypertension in older adults. *Circulation* 1997;96:1745-1749.
224. Sztriha LK, Sas K, Vecsei L. Aspirin resistance in stroke. *J. Neurol Sci* 2005;15(5):229-230, 163-9.
225. Tanis BC, Blom HJ, Bloemenkamp DGM, et al. Folate, homocysteine levels, methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR) 677C-T variant, and the risk of myocardial infarction in young women: effect of female hormones on homocysteine levels. *J Thromb Haemost* 2004;2:35-41.
226. Tanis BC, van den Bosch MA, Kemmeren JM, et al. Oral contraceptives and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001;345:1787-93.
227. Targher G, Bertolini L, Zenari L, et al. Cigarette smoking and plasma total homocysteine levels in young adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2000;23:524-528.
228. Tawakol A, Forgiione MA, Stuehlinger M, et al. Homocysteine impairs coronary microvascular dilator function in humans. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1051-1058.
229. Thambyrajah J, Towhnd JN. Homocysteine and atherothrombosis – mechanism for injury. *Eur Heart J* 2000;21:967-74.
230. Thomas D. Venous thrombogenesis. *Br Med Bull* 1994;50:803-812.
231. Toborek M, Kopieczna-Grzebioniak E, Drozd M, et al. Increased lipid peroxidation as a mechanism of methionine-induced atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 1995;115(2):217-224.
232. Tonon G, Boyd K, Lecchi A, et al. Plasma homocysteine levels in 10 patients with polycythemia. *Haematologica* 1997;82:343-4.

233. Topol EJ, Byzova TV, Plow EF. Platelet GPIIb-IIIa blockers. *Lancet* 1999;353:223-227.
234. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, et al. Promotion of vascular smooth muscle cells grow by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:6369-6373.
235. Ueland PM, Refsum H, Beresford SA, et al. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2000;72(2):334-4.
236. Ulvik A, Evensen ET, Lien EA, et al. Smoking, folate and methylentetrahydrofolate reductase status as interactive determinants of adenomatous and hyperplastic polyps of colorectum. *Am J Med Genet* 2001;101(3):246-54.
237. Upchurch GRJr, Welch GN, Fabrian AJ, et al. Homocysteine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 1997;272:17012-7017.
238. Urgert R, van Vliet T, Zack PL, et al. Heavy coffee consumption and plasma homocysteine: a randomized controlled trial in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr* 2000;72:1107-1110.
239. Valaikiene J. Dementavičienė J. Galvos smegenų insultas: etiopatogenezė, paplitimas, diagnostikos metodai ir jų vertė parenkant optimalią gydymo taktiką. Lietuvos radiologų asociacijos konferencijos „Radiologija 2007“ medžiaga.
240. Valiūnienė J, Jablonskienė V, Kučinskienė Z. Sergančiųjų koronarine širdies liga homocisteino koncentracijos kraujo serume ir lipidų peroksidacijos ryšys. *Laboratorinė medicina* 2002 Nr.1(13) p. 9-12.
241. Van Aken BE, Dekkers PEP, Pajkrt D, den Heijer M, et al. Hyperhomocysteinemia in experimental endotoxemia in humans. Thesis university of Amsterdam, 1999.
242. Van Aken BE, den Heijer M, Bos GMJ, et al. Cytokine levels in subjects with moderate hyperhomocysteinemia before and after vitamin supplementation. Thesis University of Amsterdam, 1999.
243. Van Aken BE, Jansen J, van Deventer SJ, et al. Elevated levels of homocysteine increase IL-6 production in monocytes. Mono Mac 6 cells. *Blood Coagul fibrinolysis* 2000;11:159-64.
244. Van Aken BE, Trip MD, Jansen J, Kastelein JJP et al. Inflammatory markers and homocysteine in patients with premature atherosclerosis. Thesis University of Amsterdam, 1999.

245. Van der Put NM, Blom HJ. Neural tube defect and a disturbed folate dependent homocysteine metabolism. *Eur J. Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000;92(1):57-61.
246. Van der Put NM, van Sraaten HW, Trijbels FJ, et al.. Folate, homocysteine and neural tube defects. An overview. *Exp Biol Med* 2001; 226:243-70.
247. Van Etten RW, De Koning EJ, Verhaar M, et al. Impaired NO – dependent vasodilation in patients with Type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus is restored by acute administration of folate. *Diabetologia* 2002;45:1004-1010.
248. Varela ML, Adamczuk YP, Forastiero RR, et al. Major and potential prothrombotic genotypes in a cohort of patients with venous thromboembolism. *Thromb Res* 2001;104:317-24.
249. Vermeer SE, van Dijk EJ, Koustaal PJ, et al. Homocysteine, silent brain infarcts, and white matter lesions: the Rotterdam Scan Study. *Ann Neurol* 2002;51:285-9.
250. Vivian A, Fonseca A, Louis M, et al. Insulin sensitivity and plasma homocysteine concentrations in nondiabetic obese and normal weight subjects. *Atherosclerosis* 2003;167:105-109.
251. Vocaro O, Perna AF, Mancini FP. et al. Plasma homocysteine and microvascular complications in type 1 diabetes. *Nutr Metab Card* 2000;10(6):297-304.
252. Vollset SE, Refsum H, Irgens LM, et al. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 2000;71:962-968.
253. Vollset SE, Refsum H, Tverdal A, et al. Plasma total homocysteine and cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 2001;74(1):130-6.
254. Voroneckienė V, Kučinskienė Z. Sergančiųjų išemine širdies liga homocisteino koncentracija kraujo serume: serumo šaldymo įtaka tyrimo rezultatams. *Laboratorinė medicina* 2000 Nr. 3(7) p.19-22.
255. Voroneckienė V, Kučinskienė Z. Sergančiųjų koronarine širdies liga homocisteino koncentracija kraujo serume. *Laboratorinė medicina* 1999 Nr. 2. p. 7-9.
256. Voutilainen S, Rissanen TH, Virtanen J, et al. Low dietary folate intake is associated with an excess incidence of acute coronary events: The Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study. *Circulation* 2001;103:2674-80.
257. Walker MC, Smith GN, Perkins SL, et al. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180(3Pt1):660-4.

258. Wang H, Jiang XH, Yang F, et al. Cyclin A transcriptional suppression is the major mechanism mediating homocysteine-induced endothelial cell growth inhibition. *Blood* 2002;99:939-45.
259. Wei Yu Fu, Dudman NPB, Perry MA, et al. Leukocytes extravasation in acute homocysteinemic rats. *Atherosclerosis* 2002;161:177-183.
260. Weisel J, Veklich Y, Collet J, et al. Structural studies of fibrinolysis by electron and light microscopy. *Thromb Haemost* 1999;82:277-282.
261. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *NEJM* 1998;338:1042-1050.
262. Widiana IG, Suwitra K. Relationship between creatinine clearance and plasma homocysteine levels in predialytic chronic renal failure patients. *Acta Med Indones* 2004;36:15-18.
263. Wiesli P, Maly FE, Meniconi A, et al. Chlamydia pneumoniae serositivity and hyperhomocysteinemia are linked in patients with atherosclerosis. *Clin Chem* 2001;47(7):1304-6.
264. Wijekoon EP, Brosnan ME, Brosnan JT. Homocysteine metabolism in diabetes. *Biochem Soc Trans* 2007;35:1175-9.
265. Wilcken DEL, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. *J Clin Invest* 1976;57:1079-1082.
266. Willems HP, Den Heijer M, Bos GM. Homocysteine and venous thrombosis: outline of a vitamin intervention trial. *Semin Thromb Hemost* 2000;26(3):297-304.
267. Wu D, Neville R, Finkel T. Homocysteine accelerates endothelial cell senescence. *FEBS Lett* 2000;470:20-34.
268. Zaleskis G. Pagrindinių laboratorinių tyrimų žinynas. *Vaistų žinios* 2002. p. 96-108.

8. SPAUSDINTŲ DARBŲ SĄRAŠAS

1. Sabaliauskienė Z., Gaigalaitė V. Hematologiniai pakitimai sergant insultu. *Medicina* 2001; 37: 81–93.
2. Sabaliauskiene Z., Gaigalaitė V. Galvos smegenų išeminė liga ir homocisteino koncentracija kraujo serume. *Laboratorinė medicina* 2003, Nr. 1(17), p. 19–22.
3. Sabaliauskienė Z., Grybauskas P. Homocisteino įtaka kraujagyslių funkcijai ir kraujo krešėjimo sistemai. *Lietuvos bendrosios praktikos gydytojas* 2003, tomas VII, Nr. 9, p. 571–574.
4. Сабаляускиене З., Гайгалайте В. Гипергомоцистеинемия у больных с атеросклеротической экстракраниальной болезнью сонной артерии. Клиническая лабораторная диагностика. Издательство „Медицина“ 2006, стр. 20–22, 35.
5. Sabaliauskiene Z., Grybauskas P., Gaigalaitė V., Ptašėkas J. Ūminių smegenų kraujotakos sutrikimų įtaka trombocitų agregacijos intensyvumui. *Medicina (Kaunas)* 2008, 44 (2):922-928.

Žodiniai pranešimai:

1. Sabaliauskienė Z. Homocisteino įtaka insulto išsivystymui. Mokslinė-praktinė konferencija „Smegenų kraujotakos sutrikimų diagnostikos ir gydymo naujovės“. Vilnius 2004 m. birželio 4 d.