



Запорожский государственный
медицинский университет
Кафедра клинической лабораторной диагностики

Клинико-диагностические маркеры патологии сердечно-сосудистой системы



Актуальность

За последние 15 лет смертность от ССЗ в Украине выросла в полтора раза. На сегодня каждый десятый житель Украины в возрасте от 35 до 50 лет имеет кардиопатологию, а в целом ССЗ отмечены почти у 60% россиян. Мужчины в Украине умирают в 7 раз чаще, чем в Англии, и в 8 раз чаще, чем в США. Болезни системы кровообращения являются сегодня главной причиной смертности в Украине, доля смертности от ССЗ достигает 56% (!).

Натрийуретические пептиды

Предсердный (ANP), мозговой (BNP) и С-натрийуретический (CNP) пептиды – члены семейства гормонов, секретируемых предсердием, желудочком и эндотелиальными клетками (ЭК) сосудов, соответственно. В мозге, сосудах, почках, надпочечниках и легких идентифицированы рецепторы для NP – А, В и С. Деградация NP осуществляется ферментом нейтральной эндопептидазой, наибольшее количество которой определяется в эпителиальных клетках проксимального канальца нефрона. Основным стимулом секреции NP является повышение напряжения миокарда при увеличении давления в левом желудочке сердца.

При ССЗ NP отражают сократительную функцию сердца, поэтому могут быть использованы для диагностики сердечной недостаточности до проведения инструментального обследования.

Предсердный натрийуретический пептид (ПНП, предсердный натрийуретический фактор, предсердный натрийуретический гормон, атриопептин) — пептидный гормон, секретируемый кардиомиоцитами и являющийся мощным вазодилататором. Предсердный натрийуретический пептид принимает участие в регуляции водно-электролитного обмена и метаболизма жировой ткани, синтезируется в мышечных клетках предсердий в ответ на повышение кровяного давления. Предсердный натрийуретический пептид снижает объем воды и концентрацию натрия в сосудистом русле.

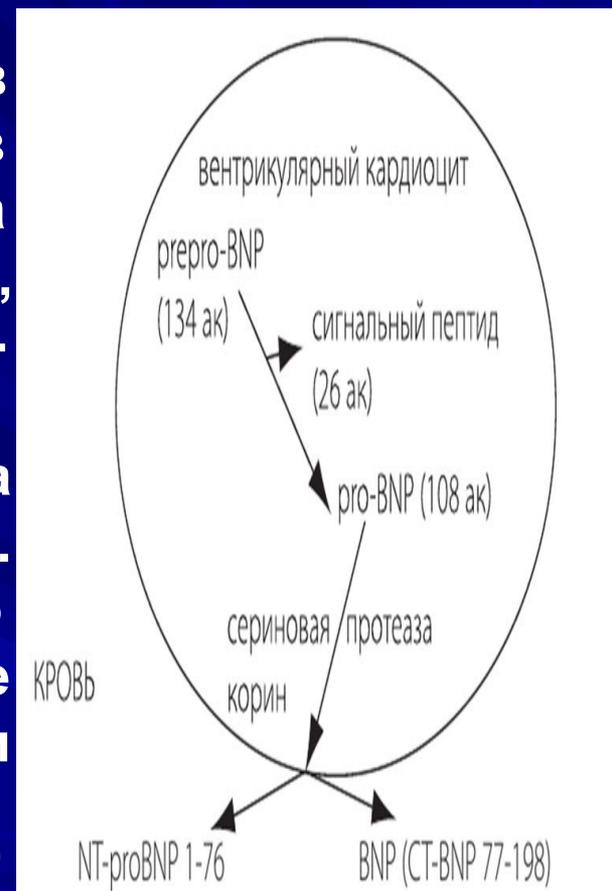
Предсердный натрийуретический пептид секретируется в ответ на:

- растяжение предсердий;**
- стимуляцию β -адренорецепторов;**
- гипернатриемию, хотя повышение натрия в крови не является прямым стимулом к высвобождению ПНП;**
- ангиотензин-II**
- эндотелин**

Предсердный натрийуретический пептид связывается со специфическим набором рецепторов (**рецепторы ПНП**). Присоединение агониста к данным рецепторам вызывает снижение объема циркулирующей крови и системного артериального давления. При этом наблюдается активация липолиза и снижение реабсорбции натрия в почечных канальцах. **Эффект предсердного натрийуретического пептида** противоположен действию на организм ренин-ангиотензиновой системы

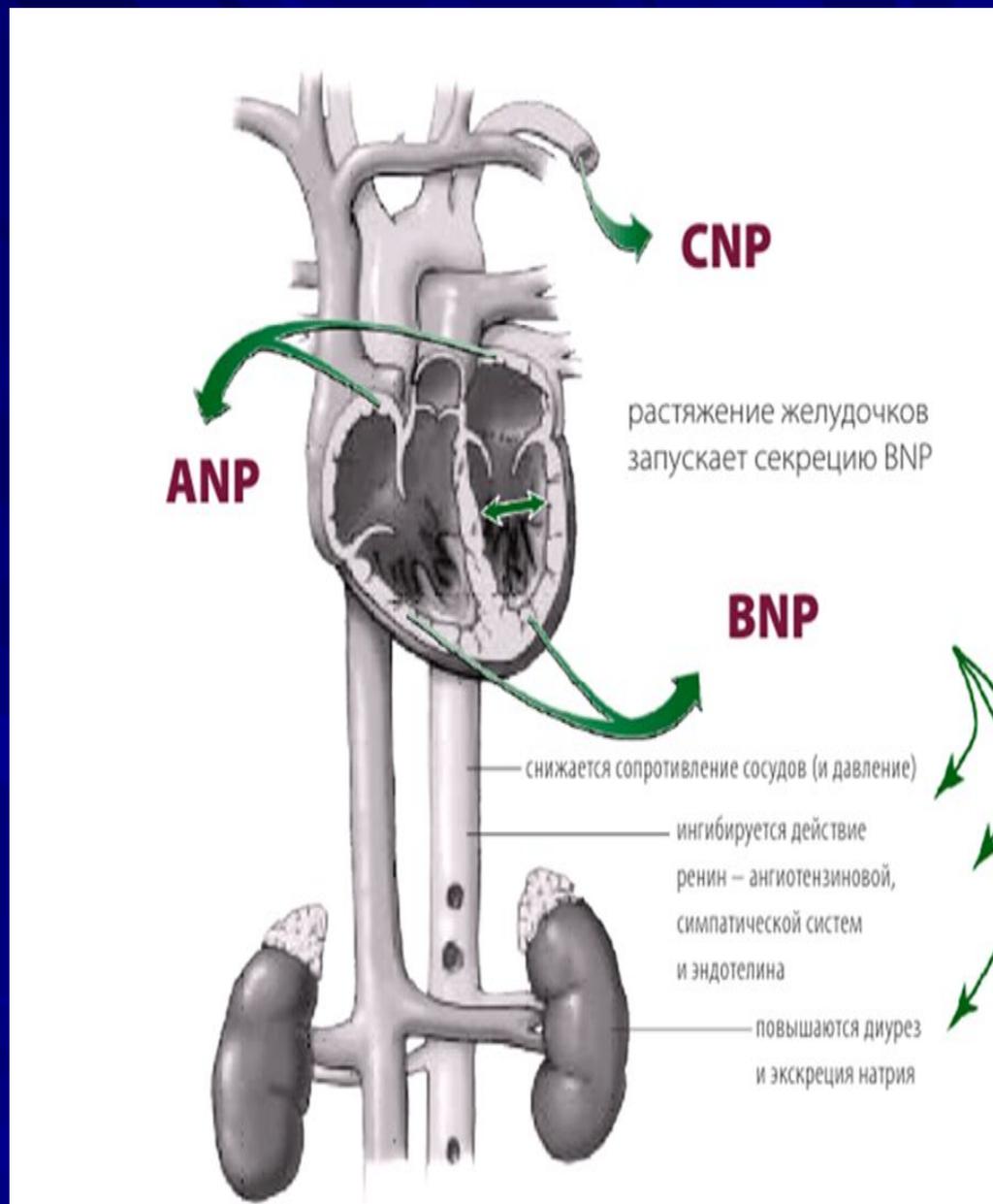
Мозговой натрийуретический пептид (BNP)

BNP был сначала идентифицирован в мозге свиньи и позже был выделен из сердца того же животного. Зрелая форма BNP, секретируемая преимущественно в желудочках сердца, происходит из высокомолекулярного предшественника proBNP (1-108). В плазме циркулируют **BNP-32**, высокомолекулярная форма BNP и N-терминальная часть **proBNP** (1-76), расщепляющаяся впоследствии на **Nt-proBNP** (8-29) и **mid-proBNP** (32-57). Полученные данные свидетельствуют, что концентрация **Nt-proBNP** в четыре раза выше концентрации BNP-32 после ОИМ и хронической сердечной недостаточности, **т. е. это – лучший маркер ранней кардиальной дисфункции по сравнению с BNP-32.**

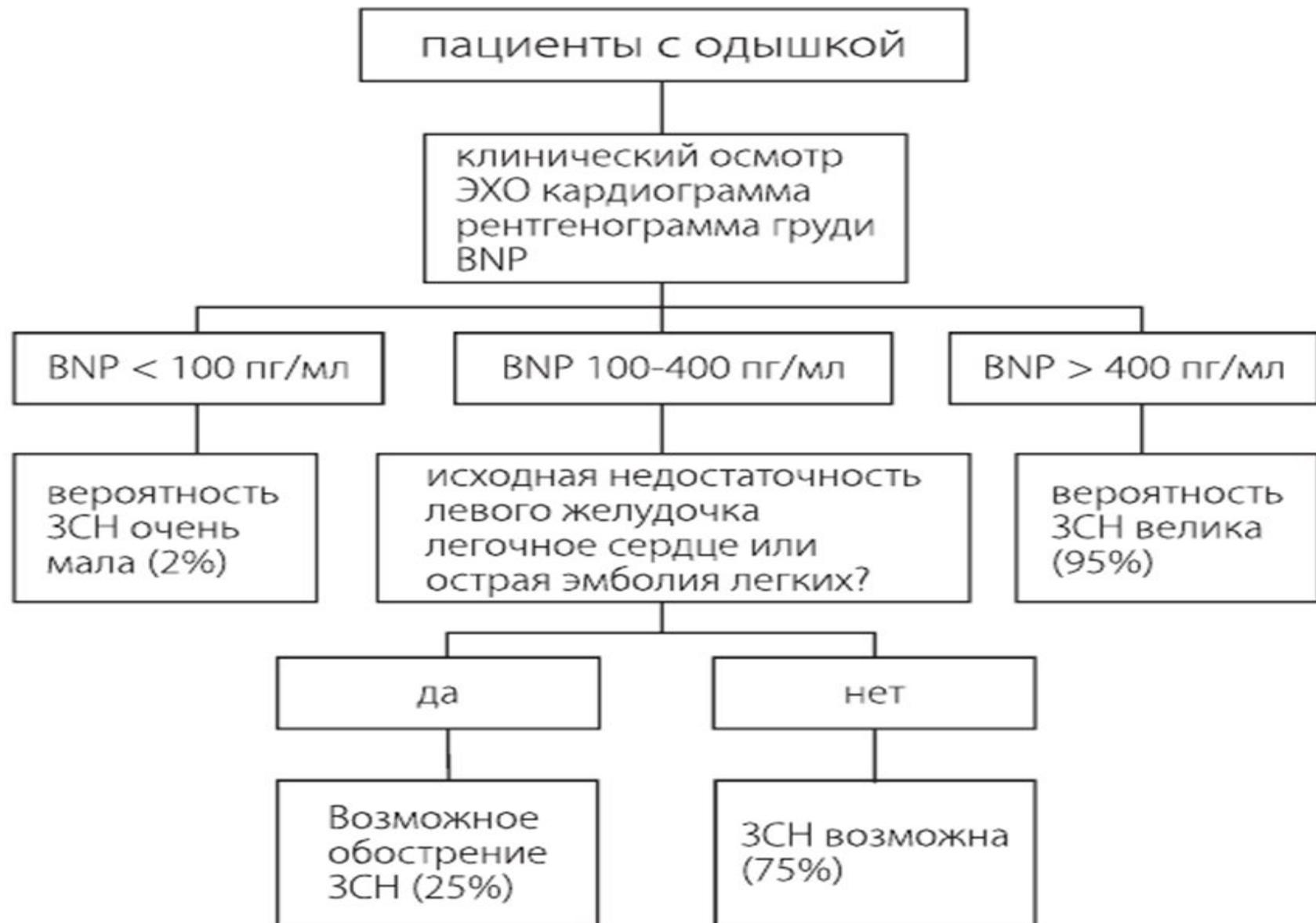


Реализация NP действия при СН

После острого инфаркта миокарда (ОИМ) уровень NP быстро увеличивается. Для диагностических и прогностических целей, BNP является наиболее значимым. Это связано с тем, что BNP секретируется в желудочках сердца, непосредственно отражая нагрузку на миокард, в частности, BNP более точно отражает миокардиальное напряжение в стенке левого желудочка. При мерцательной аритмии содержание в плазме ANP со временем снижается, что отражает уменьшение секреторной активности предсердий.



Протокол исследования



По уровню **BNP** можно четко определить степень развития застойной сердечной недостаточности по классификации NYHA (Нью-Йоркской кардиологической ассоциации). В целом ряде работ по исследованию BNP при сердечной недостаточности предлагается использование этого маркера в оценке эффективности терапии сердечной недостаточности.

Эндотелин (Э)

Эндотелин был впервые идентифицирован в 1988 г. в культуреЭК аорты свиньи. Он является главным вазоконстрикторным пептидом. Вазоконстрикторный потенциал Э в 10 раз выше, чем у ангиотензина II. В настоящее время выделены и очищены три изоформы: Э-1, -2 и -3. Все они состоят из 21 АК остатка. Подобно другим пептидным гормонам Э образуются при протеолитическом расщеплении специфического **препро-Э**. Этот полипептид, известный под названием **Big-эндотелин** (Big-Э), состоит из 38 АК остатков. Процесс превращения Big-Э в Э осуществляется под действием мембраносвязанной металлопротеиназы – **эндотелин-превращающего фермента**. Физиологическое значение расщепления Big-Э состоит в том, что вазоконстрикторная активность Э в 140 раз выше по сравнению с активностью Big-Э.

Эндотелин (Э)

Основной механизм действия эндотелинов заключается в высвобождении кальция, что вызывает:

1. стимуляцию всех фаз гемостаза, начиная с агрегации тромбоцитов и заканчивая образованием красного тромба;
2. сокращение и рост гладких мышц сосудов, приводящие к утолщению стенки сосудов и уменьшению их диаметра — вазоконстрикции.

Синтез эндотелинов усиливают **тромбин** (активизирующий эндотелинпревращающий фермент) и **тромбоциты**. Эндотелины, в свою очередь, вызывают адгезию и агрегацию тромбоцитов.

Э имеет очень короткий период полураспада (около 40 сек.), в то время как период полураспада **Big-Э** намного больше. Было показано, что **Э** и **Big-Э** имеют прогностическое значение при нарушении сердечной деятельности, при ИМ. По уровню **Big-Э** можно делать долгосрочный прогноз выживаемости у пациентов с застойной сердечной недостаточностью. Кроме того, Э является маркером ранней реокклюзии коронарной эндотелиальной дисфункции, нарушения функционирования печени, снижения функции почек. Высокий уровень **Э** в плазме наблюдается при различных состояниях: ишемии, после гемодиализа и эссенциальной гипертензии.

Патофизиологические эффекты

эндотелина

Активация других

Вазоконстракция

Сердце

↑ Синтез
катехоламинов

Периферических
сосудов

Гипертрофия
кардиомиоцитов

↑ Секреция ренина

почек

Пролиферация
фибробластов

↑ Синтез
альдостерона,
вазопрессина

↓ Почечного
кровотока
↓ Клубочковой
фильтрации

↑ Коллагенообразование

↓ диуреза

Маркеры повреждения миокарда

Диагноз ОИМ, согласно рекомендациям ВОЗ, основывается на трех базисных постулатах:

- 1) клинической картине,
- 2) данных ЭКГ-исследований
- 3) выявлении гиперферментемии (повышенной концентрации миокардиальных маркеров).

Диагноз ОИМ считается достоверным в случае, если два из трех названных диагностических критериев являются бесспорными и однозначно трактуемыми.



МВ-фракция креатинкиназы (КК-МВ)

Общая КК в сердечной мышце состоит из двух изоферментов: **КК-ММ** (около 60% общей активности) и **КК-МВ** (около 40%), КК-ВВ отсутствует. КК-МВ – димер, состоящий из двух субъединиц: М (мышечная) и В (мозговая). КК-МВ считается относительно кардиоспецифической. Повышение активности КК-МВ наиболее специфично для ИМ: увеличение наблюдается уже через 4-8 ч после острого приступа и достигает максимума через 12-24 ч, на третьи сутки активность фермента возвращается к нормальным значениям (при неосложненном течении ИМ). При расширении зоны ИМ активность КК-МВ повышена дольше, что позволяет диагностировать ИМ пролонгированного и рецидивирующего течения.

Миоглобин

Миоглобин – гемсодержащий хромопротеид; представляет собой легкую цепь миозина с м.м. 17,6 кДа. Является белком, транспортирующим кислород в скелетных мышцах и миокарде. Миоглобин связывается с белками крови; при повреждении миокарда и скелетных мышц легко и быстро попадает в кровь и затем быстро удаляется почками. Повышение уровня белка в крови наблюдается уже через 2-3 ч после появления боли при ИМ и сохраняется 2-3 суток.

Тропонин

Комплекс **тропонина** входит в состав сократительной системы мышечной клетки. Он образован тремя белками: **тропонином Т** (образующим связь с тропомиозином), **тропонином I** (который может ингибировать АТФ-азную активность) и **тропонином С** (обладающим значительным сродством к Ca^{2+}). Содержание тропонина Т в миокардиоцитах примерно в 2 раза превышает уровень тропонина I.



В кардиомиоцитах экспрессируются сердечные изоформы лишь тропонина Т и тропонина I. Соответственно обнаружение сердечного тропонина Т и тропонина I является высокоспецифичным для повреждения миокарда, что позволило сделать эти маркеры новым **"золотым стандартом"**. В условиях ложноположительных повышений уровня КФК-МВ (например, при травме скелетных мышц) анализ на тропонин окажется способен выявить любое поражение миокарда.

NB!!! Тропонин Т – более кардиоспецифичный
однако:

**1. после инфаркта
инактивируется быстрее,
чем тропнин I;**

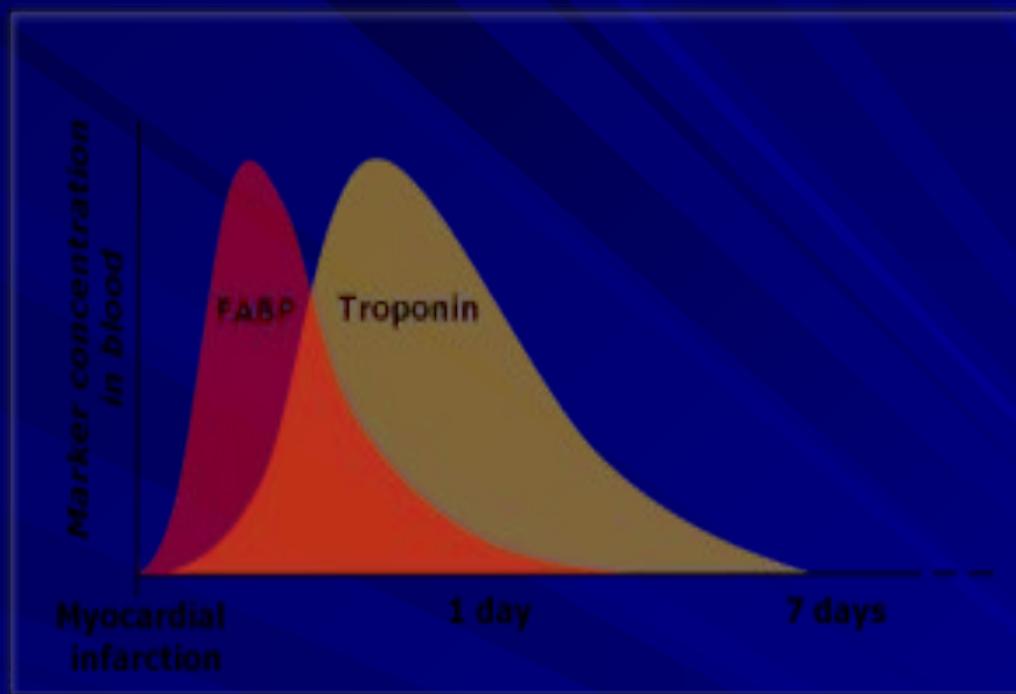
**2. наборы для тропнина Т –
только у Roche-диагностик.**

Чувствительность и специфичность маркеров ИМ

Маркер	Чувствительность			Специфичность
	3 ч	6ч	12ч	
Миоглобин	69 (48-86)	100 (87-100)	100 (87-100)	46 (33-60]
Тропонин I	54 (33-73)	81 (61-93)	100 (87-100)	90 (80-96]
Тропонин T	51 (26-70)	78 (58-89)	100 (82-96)	89 (78-95)
КК-МВ	46 (27-67)	88 (70-97)	100 (87-100)	78 (66-88)

Белок, связывающий жирные кислоты, сердечная форма (H-FABP)

FABPs- класс цитоплазматических протеинов, связывающих длинные цепи жирных кислот. Широко представлены в различных типах клеток и играют важную роль во внутриклеточном катаболизме жирных кислот. Известно, как минимум, 6 тканеспецифичных форм FABP. В мышечной ткани сердца FABP содержится в высокой концентрации – 10-20% от всех цитоплазматических белков. H-FABP (FABP3) – небольшой белок с м.м. 15 кДа, при ОИМ высвобождается в кровь. Наибольшая концентрация H-FABP наблюдается спустя 3 ч после ИМ, в течение 12-24 ч она возвращается в пределы нормальных значений. Благодаря таким свойствам H-FABP используют как чувствительный маркер для ранней диагностики ОИМ и для мониторинга его течения.



Повышенные уровни Н-ФАВР позволяли выявить лиц с большим риском нежелательных событий даже среди больных с нормальным уровнем тропонина I. Кроме того, по концентрации Н-ФАВР можно судить об обширности ИМ.

В сыворотке плазме здоровых людей присутствует около 1,6 нг/мл Н-ФАВР, с возрастом пределы нормальной концентрации незначительно возрастают.

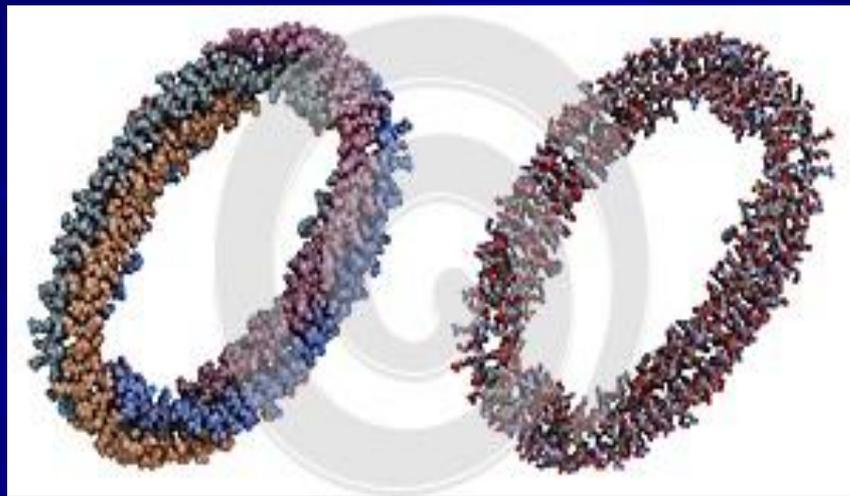
Маркеры риска ССЗ

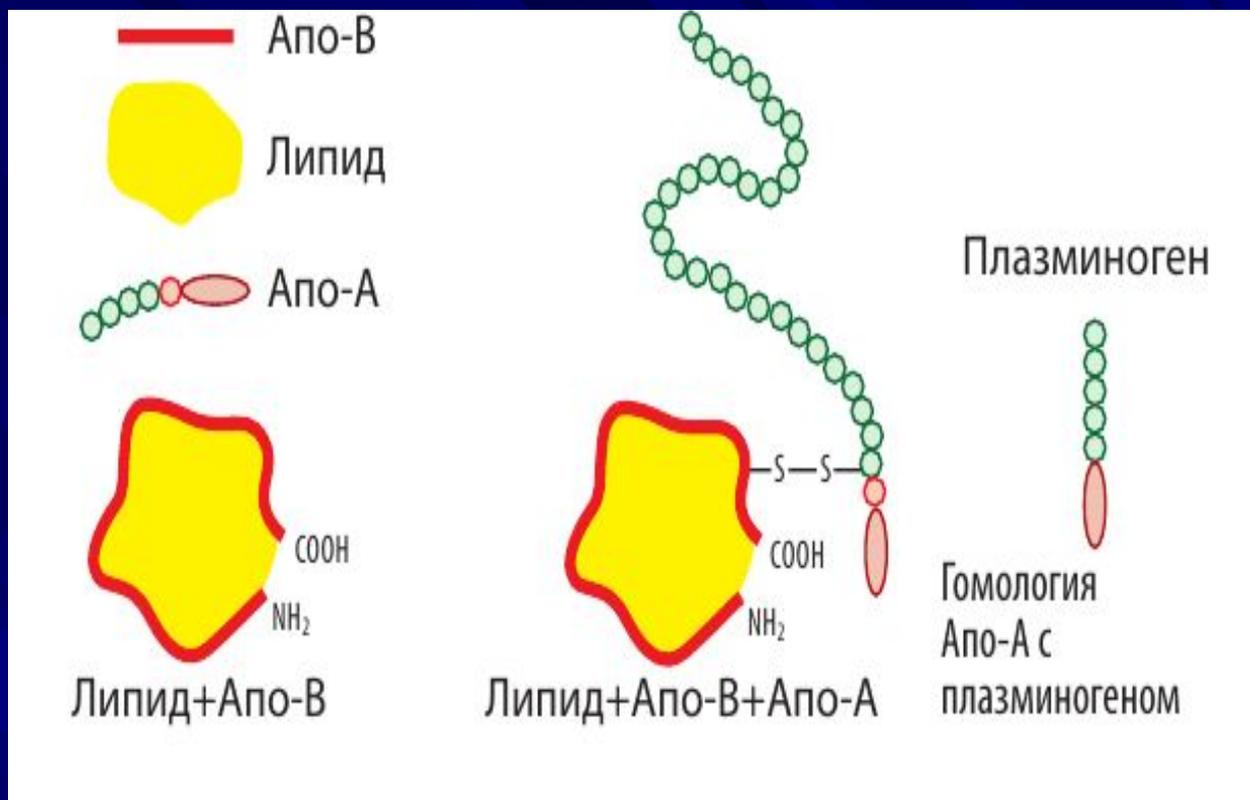
Аполипопротеин А (Апо-А; В)

-Аполипопротеин-1 (Апо-А-1)- основной белок – переносчик т.н. «хорошего холестерина) – ЛПВП. Апо-А-1 является кофактором для реакции, осуществляемой лецитинхолестеринацетилтрансферазой и обеспечивает удаление ХС из клеток.

-Аполипопротеин В (Апо-В) – основной белковый компонент ЛПНП, ЛПОНП, ЛПП и хиломикронов. Существует в виде двух изоформ Апо-В-48 и Апо-В-100. Патогенная роль отводится прежде всего Апо-В-100, поскольку по его количеству можно судить о количестве частиц ЛПНП. Апо-В-100 способствует проникновению ХС в сосудистую стенку и образованию АСБ.

Многочисленные работы доказывают, что уровень циркулирующего Лп(а) является независимым фактором риска развития ССЗ. Так, повышенная концентрация Лп(а) является наследуемым фактором риска для ИБС. Высокий уровень Лп(а) был выявлен при семейной гиперхолестеринемии, и его измерение может быть использовано в клинике для предотвращения развития данного заболевания у таких пациентов. Также были опубликованы результаты о том, что Лп(а) является важным индикатором заболеваний сосудов головного мозга.

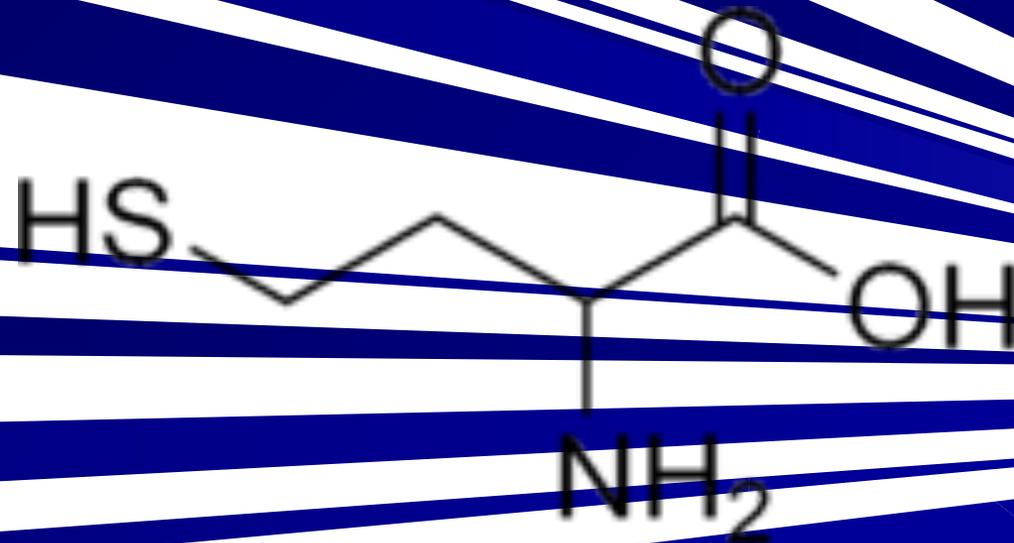




Многочисленные исследования убедительно продемонстрировали: показатель баланса атерогенных и антиатерогенных частиц **Апо-В/Апо-А** – наиболее точный индикатор риска ССЗ у лиц с отсутствием симптомов и лиц, страдающих диабетом. Более того, отношение **Апо-В/Апо-А** – самый адекватный показатель эффективности терапии, направленной на снижение уровней **ЛПНП-ХС**.

Гомоцистеин (ГЦ)

Гомоцистеин — это **непротеиногенная аминокислота**, являющаяся гомологом а/к цистеина и отличается от него наличием метиленовую группу (-CH₂-). Гомоцистеин образуется из метионина.



Гіпергомощієїнеїя і порушення метилування



Гомоцистеин (ГЦ)

По результатам большинства клинических исследований, выявлена достоверная связь повышения уровня ГЦ в плазме крови с увеличением риска ССЗ и их осложнений. У лиц с повышенным содержанием ГЦ увеличивается риск развития ИМ во всех возрастных группах независимо от курения, уровня ХС и артериальной гипертензии. Результаты клинических исследований позволили выявить связь уровня общего ГЦ крови с толщиной слоя интимы-медии артерии, что подтверждает предположение о значимости гипергомоцистеинемии при повреждении стенки сосуда, в том числе и на ранних стадиях АС. У мужчин с уровнем ГЦ всего на 12% превышающим норму, наблюдается тройное увеличение риска сердечного приступа. С гипергомоцистеинемией может быть связано 10% риска коронарной болезни сердца в общей популяции.

Рекомендуется проверять уровень ГЦ у всех лиц с артериальными или венозными тромбозами в анамнезе, коронарной болезнью сердца, всем готовящимся к беременности женщинам, у родственников которых были ИнМ, ИМ и тромбозы в возрасте до 45-50 лет. Изучение связи уровня ГЦ с отдаленными результатами после процедур ангиопластики и стентирования коронарных артерий показали, что гипергомоцистеинемия – независимый фактор риска развития рестеноза у больных ИБС.

Повышенную склонность к гипергомоцистеинемии имеют **курящие**. Потребление **больших количеств кофе** является одним из самых мощных факторов, способствующих повышению уровня гомоцистеина в крови. У лиц, выпивающих **более 6 чашек кофе в день, уровень гомоцистеина на 2-3 мкмоль/л выше,** чем у не пьющих кофе. Негативное действие кофеина на уровень гомоцистеина связано с изменением функции почек. Уровень гомоцистеина часто повышается **при сидячем образе жизни**. Умеренные физические нагрузки способствуют снижению уровня гомоцистеина при гипергомоцистеинемии. Потребление небольших количеств **алкоголя** может снижать уровень гомоцистеина, а большие количества спиртного способствуют росту гомоцистеина в крови.

Высокочувствительный С-реактивный белок (hsCRP)

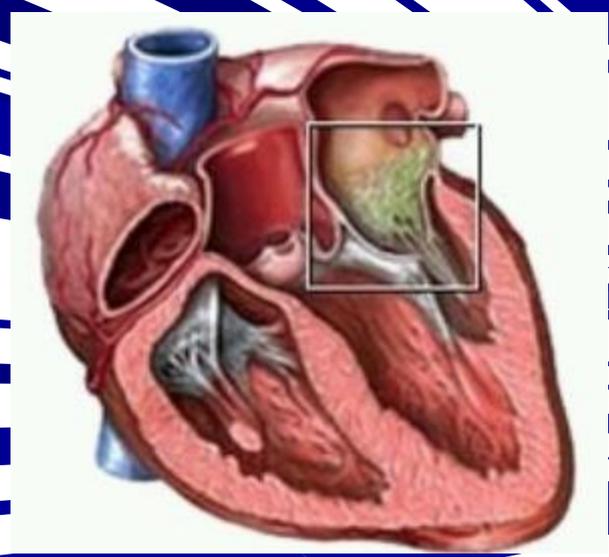
CRP является белком острой фазы и синтезируется исключительно в печени. Этот белок был открыт в 1930 г. в плазме пациентов страдающих пневмонией и получил название за способность связывать С-полисахарид пневмококков. **CRP** относится к семейству пентраксинов, для которого характерен комплекс из 5 дискообразных субъединиц. Каждая субъединица обладает м.м. 23 кДа, а общая масса CRP – 110-115 кДа. Физиологическая роль CRP многообразна, одна из самых важных функций – участие в защитных реакциях организма. **CRP считается очень полезным маркером воспалительных процессов.** **Концентрация CRP в сыворотке или плазме возрастает в течение 24-48 ч после острого повреждения тканей, достигает пика в острой стадии и снижается после разрешения воспаления или травмы.**

Обширные эпидемиологические и клинические исследования, проведенные начиная с середины 90-х годов, показали, что величина базового уровня CRP имеет важное практическое значение, т.к. она непосредственно связана с риском развития тяжелых ССЗ и их осложнений – острого ИМ. Базовый уровень CRP – предиктор смерти от сосудистых и общих причин, особенно у пожилых.



Антитела к кардиолипину (АКА)

Кардиолипин — это фосфолипид, который является важным компонентом внутренней мембраны митохондрий. Его состав включает около 90 % кардиолипина. Согласно последним данным, АКА являются значительную, возможно, ведущую роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, особенно временных патологий и аритмий.



Воспаление в субэндотелиальном слое

Фракталин – представитель подсемейства хемокинов с тремя аминокислотными остатками. Фракталин вызывает адгезию и хемотаксис моноцитов, Т-клеток и естественных киллеров и играет важную роль в патогенезе АС

Салусин-α – усиливает потребление кальция и синтез белка в кардиомиоцитах, является фактором роста и гипертрофии миокарда. Концентрация салусина α в плазме отрицательно коррелирует со степенью развития АС.

Ростовой фактор дифференцировки 15 (GDF-15/MIC-1) – (growth differentiation factor 15 или macrophage-inhibitor cytokine 1). GDF 15 синтезируется в виде 65-аминокислотного белка. В норме данный белок продуцируется различными тканями (главным образом в плаценте и простате), исключая сердце. В сердце GDF 15 начинает экспрессироваться на фоне окислительного стресса при ИМ и других ССЗ. Повышенный уровень GDF15 связан с увеличением риска кардиоваскулярных событий.

Стабильность атеросклеротической бляшки

Ассоциированный с беременностью плазменный протеин-А (РАРР-А) – цинк содержащая металлопротеиназа, способствующая высвобождению активного инсулиноподобного фактора роста. Помимо синтеза РАРР-А во время беременности трофобластами плаценты, также синтезируется в гладких мышцах сосудов и эндотелиальных клетках и усиливается в ответ на повреждение, способствует восстановлению поврежденных тканей.

Тромбоспондин – 2 (TSP2) – экспрессируется фибробластами и гладкомышечными клетками. TSP2 регулирует клеточные взаимодействия с внеклеточным матриксом, обеспечивает жизнеспособность, пролиферацию и хемотаксис эндотелиальных клеток, формирование коллагенового матрикса. Сниженный уровень TSP2 отмечается у пациентов с гипертрофией сердечной мышцы.

Матриксный белок, содержащий γ-карбоксиглутамат (MGP)

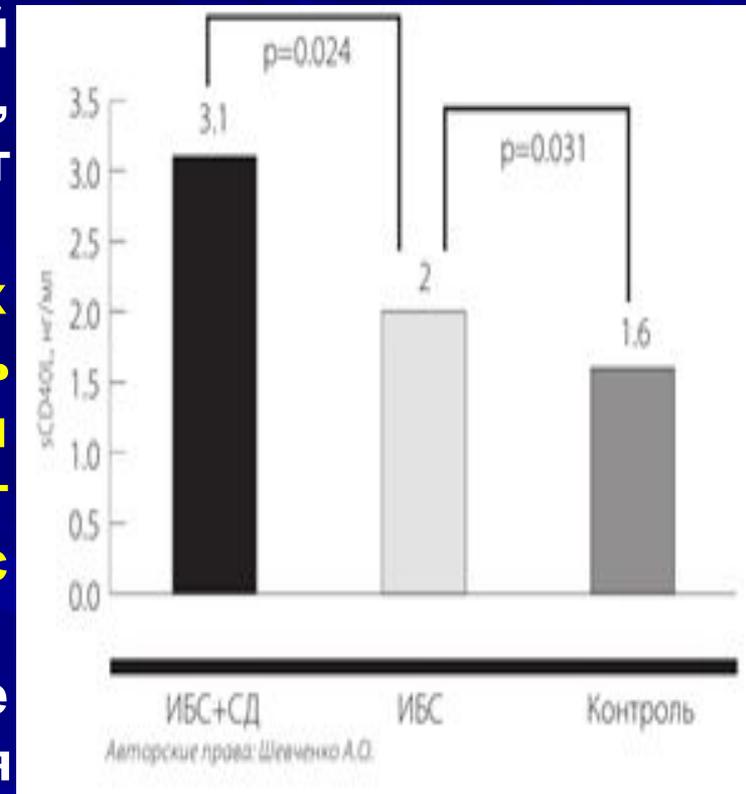
Одним из белков, содержащих γ-карбоксиглутамат, является матриксный GLA белок (MGP), синтезируемый хондроцитами и клетками гладкой мускулатуры сосудистой стенки. **MGP** – пептид, состоящий из 84 АК остатков, первоначально идентифицированный в костной ткани. Он принадлежит группе витамин К-зависимых белков. **MGP** – мощный ингибитор кальцификации тканей. **MGP** может быть легко обнаружен в тканях, где он накапливается в хрящах и сосудах, особенно вокруг зон риска образования кальцификатов и вокруг уже имеющихся отложений солей кальция. **Возможные диагностические приложения: АС, склероз Монкеберга, кальцификаты сердечных клапанов, остеоартрит, спондилит, болезнь Бехтерева.**

Матриксные металлопротеиназы (ММР-1, ММР-3, ММР-9)

Семейство **ММР** состоит не менее чем из 20 протеолитических ферментов. Все они характеризуются наличием следующих общих свойств: разрушают экстрацеллюлярный матрикс, секретируются как профермент и для активации нуждаются в протеолитическом расщеплении, активны в нейтральной среде. Охарактеризованы тканевые ингибиторы ММР, которые блокируют их активность и, таким образом, участвуют в регуляции производимого ими эффекта. Толщина фиброзной капсулы сильно зависит от активности ММР, поскольку они способны расщеплять белки межклеточного матрикса при нейтральном рН. В наиболее уязвимой области АСБ обнаруживается наибольшая активность ММР. В наибольшей степени нестабильность атером определяется активностями ММР-1, -3 и -9.

sCD40L

CD 40-лиганд принадлежит к семейству TNF. В крови присутствует растворимая изоформа лиганда (sCD40L), представляющая собой гомотример с ММ 18 кДа, участвующая в В-клеточной пролиферации и дифференцировке, способная защищать В-клетки от апоптоза. **Растворимый CD40L** участвует в патогенезе АС и острых коронарных синдромов, являясь одновременно медиатором воспаления и тромбообразования. sCD40L имеет прогностическое значение у больных с различными формами ИБС. Так, у больных с ИБС при высоком уровне sCD40L (>1,5 нг/мл) риск развития ишемического ИнМ или ИМ был существенно выше (80%), по сравнению с больными с ИБС с уровнем <1,5 нг/мл (38%).



Хемокины

Хемокины – суперсемейство малых секретлируемых протеинов, функционирующих в качестве межклеточных посредников для контроля активации и миграции различных клеток крови (например: Т- и В-лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов) к очагу воспаления в случае аллергических и других иммунных реакций. Хемокины содержат четыре консервативных цистеина, связанных дисульфидными мостиками. В зависимости от того, разделены первые два консервативных остатка цистеина одной АК или нет, различают два подсемейства хемокинов, СС и СХС. RANTES и MCP-1 принадлежат к СС семейству β -хемокинов.

RANTES

Активность хемокина RANTES не ограничивается только хемотаксисом. Его активность проявляется при острых и хронических воспалительных процессах. С одной стороны, уровень RANTES (наряду с уровнем других хемокинов: MCP-1 и MIP-1 α) возрастает после ИМ и сохраняется повышенным в течение недели. С другой стороны, низкий базовый уровень RANTES является независимым предиктором инфаркта миокарда и смертности от сердечной недостаточности.

Моноцитарный хемотаксический протеин-1 (MCP-1)

MCP-1 (моноцитарный хемотаксический и активирующий фактор – моноцит специфический хемоаттрактант, MCP-1 играет патогенетическую роль при множестве различных заболеваний, характеризующихся инфильтрацией моноклеарных клеток, включая АС. Аналогично RANTES уровень MCP-1 возрастает при ИМ и коррелирует со степенью его тяжести: 295 ± 11 пг/мл ($n=17$) при ОИМ II и III степени, против 203 ± 9 пг/мл ($n=18$) при ОИМ I степени (при значениях в контрольной группе – 125 ± 7 пг/мл).

Фактор Виллебранда (vWF)

vWF – сложный мультимерный адгезивный гликопротеин, синтезируемый мегакариоцитами.

Повышенные уровни vWF или его активности являются индикатором повреждения эндотелия при ССЗ, и предварительные исследования показали, что повреждение эндотелия может быть существенно для гипертензионных сосудистых осложнений. При повреждении кровеносного сосуда vWF способствует адгезии тромбоцитов, связываясь с рецептором адгезивного гликопротеина GPIb. Показано, что наиболее эффективно с рецептором GPIb взаимодействует иммобилизованный vWF или vWF в составе внеклеточного матрикса в условиях значительной деэндотелизации сосуда. **NB!!!** Такой механизм, возможно, является одним из главных этапов начального присоединения тромбоцитов к поврежденной сосудистой стенке.