

ОБЗОРИ
REVIEWS

ЛИПИДНИ, ХЕМОСТАЗНИ И ВЪЗПАЛИТЕЛНИ МАРКЕРИ ЗА АТЕРОТРОМБОЗЕН РИСК

Н. Дончева¹ и Ю. Няголов²¹Лаборатория по клинична липидология, Медицински институт на МВР²Катедра по физиология, Медицински университет – София

LIPID, HEMOSTATIC AND INFLAMMATORY MARKERS OF ATHEROTHROMBOTIC RISK

N. Doncheva¹ and Y. Nyagolov²¹Department of Clinical Lipidology, Medical Institute © Ministry of Interior²Department of Physiology, Medical University – Sofia

Резюме:

Дислипидемията е най-честата обменна аномалия на съвременния човек и заема важно място в патогенезата на атеросклерозата. Клетъчни и хуморални компоненти на многофакторния атеротромботичен процес създават възпалително и протромботично състояние. В България хората, прекарвали миокарден инфаркт и мозъчен инсулт, са около 1 350 000, а прогнозата е тревожна. Това налага познаване на рисковите фактори за ранна или прогресираща атеросклероза, връзките между тях, както и навременна лабораторна диагностика и адекватна профилактика. Разглежда се ролята на съдовия ендотел, тромбоцитите, фактори и инхибитори на кръвосъсирването. Представят се литературни факти и данни от собствени проучвания за известни и нови биомаркери от липидната обмяна, кръвосъсирването и възпалението (LDL-C, sdLDL, oxLDL, Lp(a), apo B, apo A-I, apo A-V, Lp-PLA₂; тромбоцити, тъканен фактор, фибриноген, факторите II, VII, VIII, IX, X, XI, V Leiden, CD 40 лиганд, hsCRP, серумен амилоид A, P-Selectin, тумор-некротизиращ фактор-α, асиметричен диметиларгинин, миелопероксидаза, клетъчни и съдови адхезионни молекули, цитокини, както и ролята на хомоцистеина и повишените нива на гама-глутамилтрансферазата). Обсъжда се тяхното независимо и синергично участие в развитието и усложняването на атеросклеротичния процес. При дислипидемия без клинично проявена коронарна болест има увеличен коагулационен потенциал, а при манифестна атеросклеротична болест – протромботично състояние. Генният полиморфизъм при елементи на липидната обмяна, хемостазата и възпалението също има значение за усложняване на атеросклерозата с артериални тромбози.

Ключови думи:

атеросклероза, дислипидемия, коагулация, възпаление

Адрес за кореспонденция:

Доц. д-р Надежда Дончева, д.м., Отделение „Лаборатория по клинична липидология“, Медицински институт на МВР, бул. „Скобелев“ № 79 А, 1606 София, тел. 9821- 416, e-mail: ndon4eva@abv.bg

Summary:

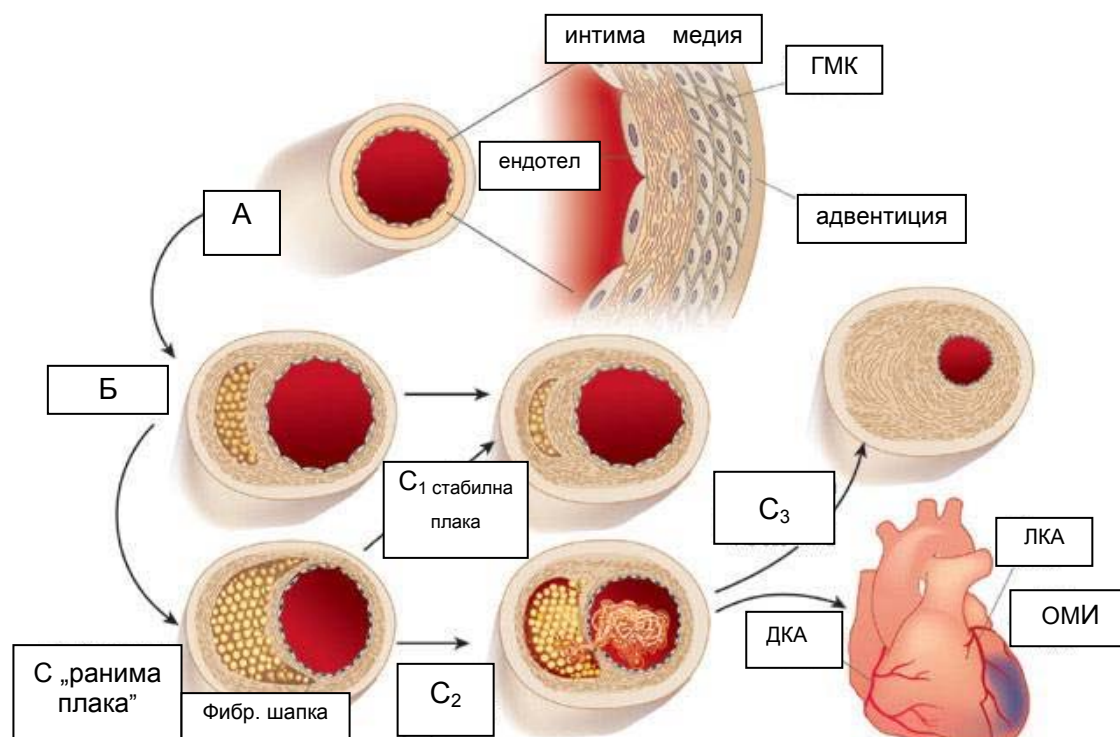
Dyslipidemias are most frequent metabolic disorders of contemporary man that are involved in pathogenesis of atherosclerosis. Cellular and humoral components of multifactor atherothrombotic process create inflammatory and prothrombotic state. People in this country who have suffered myocardial infarction and stroke are approximately 1 350 000 and prognosis is disturbing. This requires knowledge of risk factors of early and progressing atherosclerosis, their interrelationships, immediate laboratory diagnostics and adequate prophylaxis. The roles of vascular endothelium, platelets and clotting factors are reviewed. Literature facts and own data about classical and new biomarkers of lipid metabolism, blood clotting and

Key words: Address for correspondence:	inflammation are presented (LDL-C, sdLDL, oxLDL, Lp (a), apo B, apo A I, apo A-V, Lp-PLA₂; platelets, tissue factor, fibrinogen, clotting factors II, VII, VIII, IX, X, XI, V Leiden, CD 40 ligand, coagulation inhibitors, hsCRP, serum amyloid A, P-selectin, TNF-alpha, asymmetric dimethylarginine, myeloperoxidase, cellular and vascular adhesion molecules, cytokines, homocysteine and gamma-glutamyl transferase). Their independent and synergistic involvement in the development and complications of atherosclerosis is discussed. Dyslipidemias without clinical expression of CAD are associated with an elevated procoagulation potential, while manifested atherosclerosis is accompanied by a prothrombotic condition. Gene polymorphism of factors of lipid metabolism, hemostasis and inflammation may be essential for thrombotic complications of atherosclerosis. atherosclerosis, dyslipidemia, coagulation, inflammation Assoc. Prof. N. Doncheva, M. D., PhD, Department of Clinical Lipidology, Medical Institute, Ministry of Interior, 79 A, Skobelev Blvd., Bg – 1606 Sofia, tel. +3592 9821 416, e-mail: ndon4eva@abv.bg
--	---

УВОД

Атеросклерозата е водеща причина за смъртност в света. Тя е тиха, повсеместна и животозастрашаваща. Прогнозата за смъртност от коронарна болест (КБ) в света нараства алармиращо от 7 милиона през 1996 г. до 11.1 милиона за 2020 г. В България хората, прекарвали миокарден инфаркт и мозъчен инсулт, са около 1 350 000. Атеросклерозата води до увреждане на съдовата стена на средните и големите артерии в трите главни съдови области © сърце, мозък и крайници. Главните ѝ клинични услож-

нения са КБ, мозъчносъдова болест и периферна съдова болест. Еволюцията на атерома е в две посоки: 1) наличие на ранима плака с тънка фиброзна шапка, голям липиден пул и много инфламаторни клетки; 2) наличие на стабилна плака с малък липиден пул, дебела фиброзна шапка, запазен лумен. Ранимата плака може да финализира с тромбоза на руптурирала плака и остър миокарден инфаркт (ОМИ) или при овладяване на тромбозата със стесняване на лумена на съда и значима фиброза на интимата на плаката (фиг. 1).



Фиг. 1. А) нормална артерия; Б) ранен атером; С) ранима плака с тънка фиброзна шапка, голям липиден пул, много инфламаторни клетки; С₁) стабилна плака с малък липиден пул, дебела фиброзна шапка, запазен лумен. Ранимата плака С може да финализира с тромбоза на руптурирала плака и ОМИ (С₂), или при овладяване на тромбозата със стесняване на лумена и значима

В миналото (до 1990 г.) релативният риск от атеросклеротична съдова болест (АСБ) и нейните усложнения се определяше от рисковите фактори (РФ) диабет, хипертония, тютюнопушене, дислипидемия (ДЛП) и затлъстяване. Днес РФ и биомаркери са много повече и могат да се разделят в няколко групи [15, 30, 35].

Липидни фактори: LDL холестерол (LDL-C), HDL холестерол (HDL-C), общ холестерол (TC), триглицериди (TG), малки, плътни LDL липопротеини (sdLDL), липопротеин (а) (Lp(a)), окислително модифициран LDL (oxLDL), аполипопротеини AI и аполипопротеин B (ApoAI, ApoB), аполипопротеин E (Apo E), отломки от липопротеините (remnant LP).

Протромботични фактори: фибриноген (FG), фактори на кръвосъсирването (тъканен фактор TF, FV, FVII, FVIII, F IX и др.), тъканен активатор на плазминогена (t-PA), инхибитор на активатора на плазминогена-1 (PAI-1), Д-димери (DD), фибринопептид А (FPA), протромбинов фрагмент 1+2 (PF₁₊₂), протеин С (Pr C), агрегация, активност, размер и обем на тромбоцитите.

Проинфламаторни фактори: високочувствителен С-реактивен протеин (hsCRP), интерлевкин-6 и интерлевкин-1 (IL-6, IL-1), серумен амилоид А (SAA), тумор-некротизиращ фактор-алфа (TNF-α), съдови клетъчни адхезионни молекули (VCAM), вътресъдови клетъчни адхезионни молекули (ICAM), CD 40-лиганд, Р-селектин (P-selectin), миелопероксидаза (MPO), левкоцити, скорост на утаяване на еритроцитите (СУЕ).

Други РФ: липопротеин-свързана фосфолипаза A₂ (Lp-PLA₂), хомоцистеин (HCY), асиметричен диметиларгинин (ADMA), микроалбумин, генотип на липидни и хемостазни РФ, Ъпстрийм транскрипционен фактор-1 (USF₁), дефицит на АТР свързани касетни транспортери ABCA₁ и ABCG₁ на макрофагите (МФГ), гама-глутамил-трансфераза (GGT) и др.

Инфекциозни агенти: Cytomegalovirus, Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, Herpes simplex virus, Epstein-Barr virus (EBV), хепатит А, Toll-like рецептори.

В патогенезата на атеросклерозата участват и **психосоциални фактори**, както някои маркери за **субклиничната атеросклероза**.

ДЛП са най-честата обменна аномалия на съвременния човек. По епидемиологични данни за България от Monica Project честотата им е 1 049 000, от които 200 000 са диагностицирани, лечение провеждат 70 000 от пациентите, но само 20 000 достигат прицелни безрискови нива [53]. По данни от Sofia Heart Study (SHS) от 2000 г. относителната честота на ДЛП е 20 %, но Бъл-

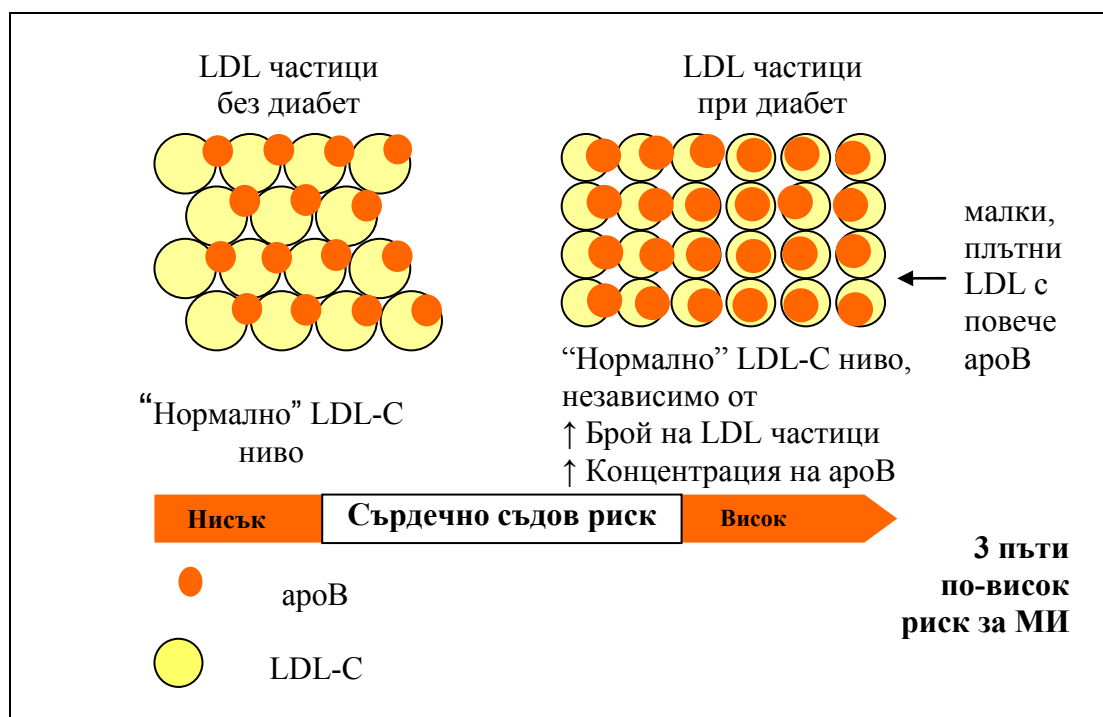
гария все още не разполага с достатъчно мащабно популационно проучване и оценка за реалната им честота в страната. Голям напредък е направен в разбирането за атерогенезата отвъд представата, че в основата е само натрупването в атеросклеротичната плака на отделен LDL-C. Днес вниманието е пренасочено от високостенотичните, относително стабилни коронарни лезии към нестабилната плака и артериалното ремоделиране. Акцентът се поставя върху оксидативния стрес, възпалителните промени, прокоагулантните фактори и ендотелната дисфункция.

Наличието на ДЛП, повишени нива на LDL и богати на апо-В-липопротеини (ЛП) в кръвта води до проникването им в съдовата стена. Това провокира експресия на адхезионни молекули, които залавят моноцитите (Мо) и ги привличат в интимата. Настъпва диференциация до МФГ, при което се освобождават инфламаторни цитокини. Те допълнително засилват залявя

сове с определяне на апо В. Има доказана връзка между повишените TG и ниския HDL-C и синдрома на инсулинова резистентност [5, 27]. LDL-C не винаги е повишен при метаболическия синдром, но sdLDL с диаметър $< 255 \text{ \AA}$ са увеличени на брой, което генерира висок сърдечно-съдов риск. Лицата с висок брой sdLDL най-често имат и понижен HDL-C и повишени TG. При диабетици "нормалното" LDL-C ниво е подвеждащо, защото при тях броят на sdLDL е много висок, респективно и концентрацията на апо В. Рискът от миокарден инфаркт (МИ) е 3 пъти по-висок риск от този при недиабетици. LDL фенотипът се унаследява [5, 6, 67] (фиг. 2).

АпоВ, АпоАI и съотношението АпоВ/АпоА са по-точни предиктори на риска за МИ от TC, TG и LDL-C, особено при пациенти с умерени и ниски стойности на LDL-C. АпоАI е главният носещ белтък на HDL и кофактор за лецитин-холестерол ацилтрансферазата, която участва в образуването на холестероловите естери. АпоАI усилва пренасянето на TC от тъканите към черния дроб и е простагландин (PGI_2) стабилизиращ фактор с антикоагулантен ефект. Съотношението АпоВ/АпоАI е високоинформативен предиктор на риска за МИ [3, 78, 81]. АпоАI Milano е естествена мутация на АпоАI. Носителите на тази мутация имат нисък HDL-C, но нямат повишен сърдечно-съдов риск. АпоАI Milano има статистически значим ефект за намаляване прогресията на плаките. Естес-

твени Апо АI и Апо АI (Milano) се открити в някои растителни източници (див шафран). Проучването The Apolipoprotein-related Mortality Risk (AMORIS) сравнява АпоВ, АпоАI и други липидни параметри по отношение ролята им на маркери за риска от коронарна смърт, дължаща се на МИ. Резултатите показват, че АпоВ, АпоАI и отношението АпоВ/АпоАI са по-добри предиктори от TC и LDL-C. Те са предиктивни при лица под и над 70 години, докато LDL-C е предиктивен само при лица под 70 години. АпоВ, АпоАI и АпоВ/АпоАI имат предсказваща стойност и при двата пола, докато LDL-C е предиктивен само при мъже. Определянето на АпоВ и АпоАI добавя допълнителна информация за риска при всички нива на LDL-C, но особено при лица с умерени и ниски нива на LDL-C по данни на Walldius и сътр. [78]. В проучването The INTERHEART при 15 152 случая на ОМИ и 14 820 контроли от 52 страни е проучена връзката между тютюнопушенето, артериалната хипертония, диабета, хранителните навици, алкохолната консумация, аполипотеините и психичните фактори и риска от МИ. Всички РФ са значимо свързани с риска от МИ с изключение на алкохола. Проучването установява, че тютюнопушенето и отношението АпоВ/АпоАI са двата най-силни предиктора, следвани от диабета, артериалната хипертония и психосоциалните фактори за последващ МИ [81].



Фиг. 2. “Не размерът, а броят на LDL определя риска

Аполипопротеин Е (Аро Е) и аполипопротеин А-V (Аро А-5)

Гените Аро А-V и Аро Е са определящи за плазмените нива на TG и TC. Аро Е е структурен компонент на богатите на TG-ЛП. Установена е връзка между изоформите на Аро Е, серумните липиди и риска от КБ при постменопаузни жени на хормонозаместителна терапия. При жените има значимо взаимодействие между Аро А5 и Аро Е вариантите и липидите. Носителите на Аро Е₄ са с по-високи концентрации на LDL-C, а тези с Аро Е₂ са с по-високи TG и по-нисък LDL-C. Белтъкът, кодиран от Аро А-V гена, е аро А5 и е важна детерминанта на нивата на плазмените TG, които са РФ за КБ и биомаркер за метаболитен синдром. Аро А5 е локализиран върху богатите на TG ЛП (VLDL), хиломикроните и върху HDL-C и играе роля за активиране на липопротеинлипазата. Аро А5 повлиява ЛП метаболизъм чрез взаимодействие с LDL рецептора [26, 29].

Хипертриглицеридемията беше подценяван в миналото РФ за сърдечно-съдов риск. Днес TG са равностоеен на холестерола РФ и повишението им е свързано с натрупване на хиломикрони и VLDL отломки, образуване на sdLDL, понижен HDL-C и хиперкоагулабилитет (повишаване на PAI-1, коагулационна активност на фактор VII (Ф VII:C) и активиране на протромбина до тромбин.

oxLDL е важен предиктор за коронарния риск. Индуцираният от oxLDL оксидативен стрес играе централна роля в активирането на Мо по време на атерогенезата и прогресията ѝ. Директно активира мононуклеарните клетки и повишава стимулираната от TNF- α адхезивност на Мо към ендотела. Повишава активността на фосфолипаза A₂, стимулира тромбоцитната агрегация, секрецията на TF и PAI-1 от ендотелните клетки (ЕК). Потиска активността на Pг С върху ендотела, като допълнително създава прокоагулантно състояние. Повишените концентрации на oxLDL са прогностичен маркер за бъдещи коронарни събития при здрави мъже [7, 44, 74]. Методът за определяне на oxLDL в клиничната лаборатория е имунологичен (ELISA).

Lp(a) е независим рисков фактор за АСБ и е свързан с кръвосъсирването. Повишеното фибриново отлагане и високите стойности на Lp(a) са синергични фактори при атерогенезата. Аполипопротеин аро (a) показва 80% структурно сходство с човешкия плазминоген. Lp(a) пренася холестерол към пролифериращите клетки, като се свързва с фибрин на местата на ендотелно увреждане. Потиска фибринолизата, като намалява t-PA и повишава PAI-1, инхибира ос-

вобождаването на азотния окис (NO) и плазминообразуването. Lp(a) има висок афинитет към фибронектина. Повишен е при безсимптомна атеросклероза на аа. carotides. Стойности на Lp(a) над 30 mg/dL удвояват релативния риск за КБ, а съчетанието му с повишен LDL-C повишава риска 5 пъти [15, 54, 60].

HDL-C е основен предиктор за сърдечно-съдови събития. HDL-C намалява окисляването на LDL (намалява образуването на пенести клетки и цитотоксичността на LDL за ЕК), потиска продукцията на липидни пероксиди, отстранява холестерола от периферните тъкани, коригира ендотелната дисфункция, поддържа интегритета, улеснява съдовата релаксация, потиска клетъчната адхезия и подобрява фибринолизата. По-високите HDL-C нива намаляват поемането на LDL-C от ЕК чрез конкурентно потискане на LDL рецепторното свързване. HDL-C повишава продукцията на простаглицлин, намалява тромбоцитната агрегабилност с участието на аро AI и потиска индуцираното от LDL-C активиране на тромбо

HDL осигурява ендотелна протекция, като повишава производството на NO и простагландин I_2 и намалява активността на активирания тромбоцитен фактор (PAF). Нивата на фактор VIII фон Вилебранд (vWF) корелират отрицателно с HDL-C, като се предполага неговата инхибираща роля върху продукцията му. Чрез въздействието си върху ЕК HDL повлиява едновременно съдовия тонус и тромбогенността. HDL не повлиява продукцията на TF от ЕК, но потиска активността му чрез специфично взаимодействие с HDL аполипопротеините. HDL противодейства на активирането на FX по външната система. HDL повишават антикоагулантната активност на активирания Pr C чрез увеличаване активността на протеин S. HDL увеличава индуцираната от активирания Pr C инактивация на FVa и FVIII:C, HDL намалява t-PA, като корелира негативно с него и PAI-1. Тази корелация отразява *in vitro* инхибиторен ефект на HDL върху секрецията на tPA и PAI от ЕК [11, 66]. Следователно чрез повлияване на съдовия тонус, възпалението, хемостазата и ендотелния интегритет HDL-C осигурява ендотелна протекция, като намалява атеросклерозата, риска от ерозия (руптура) на плаката, артериалните тромбози, рестенозите и исхемията на миокарда [66].

Липиди и кръвосъсирване

В условията на ендотелно увреждане както при начална, така и при усложнена плака процесите на хемостазата са преплетени с паралелно протичащите промени в липидния метаболизъм. Предразположение към тромбози създава субклиничното активиране на коагулацията – протромботично състояние [22, 23, 24, 33, 38, 42, 64]. Активираният тромбоцит, FГ, FII, FVII, FVIII, vWF, t-PA, PAI-1, Pr C и др. активно участват в образуването на атероматозната плака. Атеросклерозата прогресира бавно, докато тромбозите, главно нейно клинично усложнение, настъпват остро и са трудно предсказуеми. Предразположение към тромбози създава субклиничното активиране на коагулацията – протромботично състояние. Съдовият ендотел участва активно в регулацията и инициацията на реакциите на коагулация и фибринолиз. ЕК синтезират някои от факторите на кръвосъсирване и простагландини, съдържат рецептори за някои от инхибиторите, на мембраните им се извършват процеси на активиране и инактивация на фактори на коагулацията.

Тромбоцитите и ЛП играят важна роля в ранната и късна атеросклероза. Промените в липидното съдържание на тромбоцитната мембрана водят до модифициране на функциите им. При ДЛП тромбоцитите са активирани, хи-

перагрегабилни и със скъсена преживяемост. Маркери за активиране на тромбоцитите са тромбоцитен фактор 4 (PF4), β -тромбоглобулин (β -TG) и P-selectin [23, 55, 65, 80].

Факторите на коагулацията FII, FV, FVII, FX и FXI са независими РФ за АСБ. Тромбинът е активната форма на FII и ефектът му върху увреждения ендотел води до прогресиране на атеросклерозата. В процеса на активиране от протромбиновата молекула се отцепва един активен полипептид (PF_{1+2}), маркер за активиране на коагулацията *in vivo*. FVIII (FVIII:C/vWF) създава риск за ранна атеросклероза и артериални тромбози и има предсказваща стойност за реинфаркт заедно с FG и Pr C. LDL и VLDL повишават освобождаването на vWF от ЕК. TF е липопротеин и клетъчен рецептор за FVII, а липопротеин-свързаният коагулационен инхибитор (TFPI) се синтезира от ЕК и черния дроб. TF се освобождава от видоизменените от LDL и VLDL ЕК, свързва се с FVII и отключва кръвосъсирването. Честотата на КБ е по-строго и независимо свързана с повишените нива на FVII:C (коагулационна активност) и FG, отколкото с холестерола. Повишени стойности на

дни след началото на фибриновите отлагания [2, 13, 14, 36, 43, 61, 70].

Установена е връзка между липидите и почти всички фактори и инхибитори на кръвосъсирването: тромбоцити, TF, FG, FII, FVII, FV, FVIII:C/vWF, FIXP (пептид), FXR (пептид), FXI, антитромбин III (ATIII), Pr C, t-PA, PAI-1, TFPI. Маркери за хиперкоагулабилитет са PF4, PF₁₊₂, FPA, FIXP, FXR, тромбин-анти тромбин комплексите в ранния стадий и DD в крайния стадий. Установени са множество корелации между липидите и ЛП и показателите на хемостазата и плазмения вискозитет (Пв).

Таблица 1. Корелации между липидите и показателите на хемостазата

Положителни корелации		Отрицателни корелации	
TC	FVII:ag, FVII:C, PF1+2, TFPI, Пв	TC	t-PA и Pr C
LDL-C	FG, FVIII, PF1+2, TFPI	TG	AT III и TFPI
HDL-C	FG и TFPI	Apo B	Pr C
TG	FVIIag и FVII:K, PAI-1 и Пв		
Apo AI, и Apo B, Lp (a)	TFPI и PAI-1		

В наше проучване върху 38 клиничнолабораторни липидни и хемостазни показателя при болни с ДЛП без КБ бяха установени повишени нива на PF4, FII, FVIII, плазминоген, PAI-1, DD, Пв и нисък ATIII. При болните с ДЛП се установи повишен коагулационен потенциал преди клинична проява на КБ. При болни с ДЛП и доказана КБ се установиха по-силно изразени промени в хемостазата с участието и на FVII, FX и повишено ниво на циркулиращи тромбоцитни агрегати (ЦТА), хиперкоагулабилитет и повишен риск от тромбоза и ОМИ. Статистически бяха изведени 4 показателя с достатъчна информативност за **прогнозиране риска от преход на ДЛП към клинично проявена ИБС: HDL-C, FG, ЦТА и FII**. FG беше с най-висока предиктивна стойност. Повишаването му с 1 беше свързано с 6.02 пъти по-висок риск от КБ. Въз основа на тези данни е предложен прогностичен маркер за КБ в клиничната практика. Това е липидно-фибриногеновият атерогенен индекс, чиито стойности над 4.0 са свързани с повишен риск от КБ [1]. Индексът нараства при ниски нива на HDL-C и високи за FG и LDL-C.

Липидно-фибриногенов индекс $\frac{FG + ЛНП-Хол}{ЛВП-Хол}$

Артериалните тромбози зависят и от **генетичния полиморфизъм** на факторите и инхибиторите на кръвосъсирването. Известен е по-

лиморфизмът на гените за FG 2455G/A (алел A), PAI –1 4G/5G (4G), FVII 402G/A, ATIII, Pr C, Pr S, тромбомодулин, ICAM-1. Prothrombin 20210A мутацията е свързана с 20% по-високи нива на протромбина и 2.7-4.8 пъти по-висок риск от тромбоза и ранен МИ или инсулт. F V Leiden мутация (APCR, резистентност към активиран Pr C) е свързана с 30-50 пъти повишен риск за МИ, инсулт и КБ при жени на орална контрацепция [33, 34, 49, 71].

Немският патолог Рудолф Вирхов публикува през 1852 г. своя знаменателен труд „Възпалението в съдовата стена“ и зададе на медицинската общност въпроса „Възпалително заболяване ли е атеросклерозата?“, с което промени парадигмата в кардиологията [76]. Сто четиридесет и седем години по-късно Russ

турбидиметрия, имунодифузия и видима аглутинация. Рискът от КБ се приема за висок при нива на hsCRP над 3.0 mg/dl.

Таблица 2. Прогнозни рискови нива на hsCRP

CRP mg/dl	Сърдечно-съдов риск
< 1.0	Нисък
1.0-2.9	Междинен
> 3.0	Висок

Все още няма категорично становище дали hsCRP е маркер за или медиатор на възпалението. Американският център за контрол на заболяванията (CDC) и Американската кардиологична асоциация (AHA) препоръчват използването на CRP като допълнение към оценката на глобалния съдов риск при пациенти с междинен риск за КБ. The Third National Health and Nutrition Examination Survey установи, че повишените нива на CRP в общата популация са адитивни към конвенционалните РФ. Показателят има слаба специфичност и се позитивира при ревматоиден артрит, травма, карцином, изгаряния, инфекции, хронични белодробни заболявания, дори гингивит. Препоръчва се да се измерва за прогноза на риска само след отзвучаване на налична инфекция и не се препоръчва измерването на hsCRP за оценка на риска в общата популация [9, 21, 45, 50, 73]. Релативният риск от ОМИ при здрави мъже на средна възраст, оценен в проучването The Physicians' Health study от P. Ridker и съавт. показва, че Lp(a) и хомоцистеин не предсказват бъдещ МИ при здрави мъже на средна възраст, докато FG, tPA antigen, TC/HDL и hsCRP са значими предиктори. Комбинацията от hsCRP и отношението TC/HDL-C са най-значимите предиктори и са по-добри в сравнение с който и да е индивидуален фактор [57, 58]. Повишен hsCRP преди перкутанна коронарна ангиопластика PTCA е маркер за лоша прогноза. Нивото на hsCRP преди дехоспитализация след остър коронарен синдром е маркер за риск от повторно събитие до 90-ия ден по данни на Ferreiros et al. [19].

Възпалението и хемостазата си взаимодействат в атерогенезата. По време на съдовото увреждане и възпаление в отговор на продукция на цитокини се повишават острофазовите белтъци, някои от които са и фактори на кръвосъсирването и всички са маркери за степента на отговора на артериалната стена на възпалението. В последните години бяха открити нови маркери. **P-selectin** представлява връзка между възпалението и тромбозите © адхезионна молекула, намираща се в секреторните гранули (Wiebel-Palade) на активираните ендотелни клет-

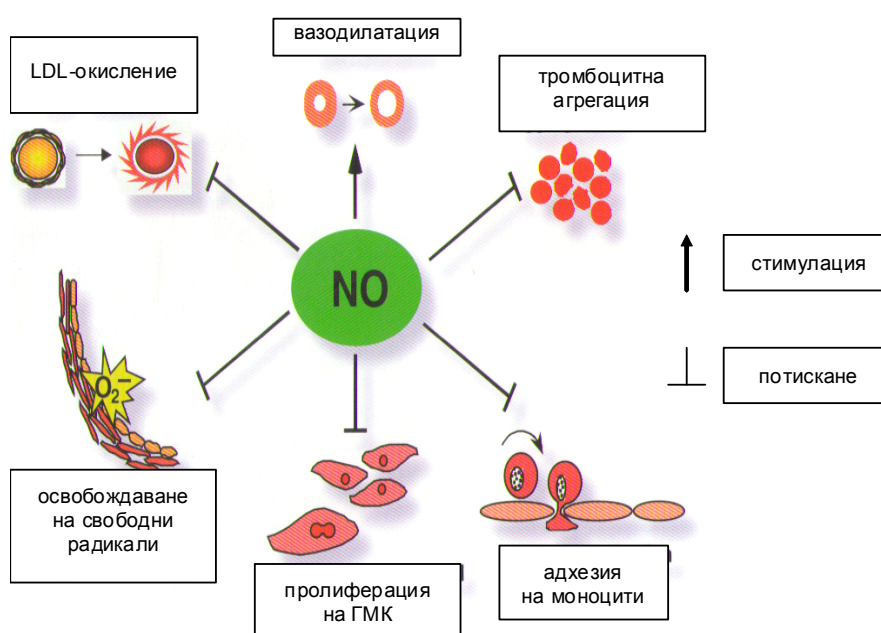
ки и върху мембраната на активираните тромбоцити. Модулира взаимодействието между кръвните клетки и ендотела и е отговорен за адхезията на тромбоцити и левкоцити към ендотела и миграцията на Мо в атеросклеротичните лезии. Медиатори причиняват секреция и експресия на повърхността на ЕК на vWF и P-Selectin. P-selectin glycoprotein ligand-1 е свързан с TF, а активираните тромбоцити осигуряват подходяща повърхност за образуване на тромбин. P-selectin може допълнително да осигури TF и да ускори по-нататъшното тромбинообразуване. Разтворими форми на плазмения P-selectin се намират в активните атеросклеротични плаки и са предиктори за неблагоприятни съдови събития. Повишен P-selectin се намира при ОМИ, сърдечна недостатъчност, исхемичен инсулт, артериална хипертония и захарен диабет. P-selectin е маркер за активиране на тромбоцитите. Установено е, че лечението със статини намалява плазмените му нива [10, 40]. Методите за определяне на P-selectin са флуориметрия и ELISA.

Серумният амилоид А (SAA) е маркер за възпаление и се синтезира в черния дроб в отговор на инфекции, възпаление, увреда или стрес. При острофазова реакция се секретира като преобладаващ апопротеин на HDL и изм

на **исхемично модифицирания албумин** се открива исхемия при липса на некроза, но показателят е труден за валидиране. **Холин** се освобождава от фосфолипидите и определянето му служи като маркер за исхемия и/или некроза. Плазменият **протеин, свързан с бременността**, е инсулиноподобен растежен фактор и маркер за започваща руптура на плаката [28, 47]. **Липопротеин-свързаната фосфолипаза A₂** (Lp-PLA₂) е ензим, който хидролизира окислените фосфолипиди до лизофосфатидилхолин и окислени неестерифицирани мастни киселини с проинфламаторни ефекти. Lp-PLA₂ е независим предиктор за риска от КБ и инсулти в общата популация. При пациенти с нисък LDL-C, Lp-PLA₂ и hsCRP взаимно се допълват при идентифициране на риска от съдови събития. При здрави мъже с умерено повишен ТС повишените нива на Lp-PLA₂ предсказват бъдещо коронарно събитие независимо от нивата на hsCRP. Активността на Lp-PLA₂ корелира позитивно с LDL-C и отношението LDL/HDL и отрицателно с HDL-C. Lp-PLA₂ се свързва към ароВ на LDL-C, и така се транспортира в предразположените към образуване на плаки сегменти на артериалната стена. Последващото окисление на LDL-C води до образуване и отцепване на фосфолипиди, податливи на ензимна хидролиза от Lp-PLA₂. Получават се два биоактивни медиатора, лизофосфатидилхолин и окислени неестерифицирани мастни киселини, които играят важна роля в насочването на възпалителни клетки към атеросклеротичните лезии и локално повишаване на възпалителните медиатори.

Навлизането на клетки на възпалението бързо повишава концентрацията на Lp-PLA₂ в съдовата стена. Биоактивните медиатори, генерирани от Lp-PLA₂, са също и цитотоксични за МФГ и спомагат за образуването на некротично липидно сърце в напредналите лезии. Методът за определяне на Lp-PLA₂ е ELISA [8, 25, 37, 52, 82].

Асиметричният диметиларгинин (ADMA) е маркер за ендотелна дисфункция. Диметиларгинините се образуват при протеолизата на метилираните протеини. ADMA се синтезира от ендотела и има структурна хомоложност с L-arginine, като интерферира в производството на азотен окис. Освобождаването на ADMA от ЕК е значимо повишено при наличието на нативен или oxLDL. Различава се от L-arginine по съдържанието на 1 или 2 метилови групи, което го прави инхибитор на NO. Метаболитно се разгражда с участието на ензима диметил-аргинин диметиламинохидролаза (DDAH). Активността на DDAH намалява в условия на оксидативен стрес, а HCY потиска активността на DDAH и повишава концентрацията на ADMA. Повишението на ADMA причинява релативен функционален дефицит на L-arginine, повлияващ се терапевтично от хранителна суплементация с L-arginine (нормализира се отношението L-arginine/ADMA при повишени плазмени нива на ADMA). ADMA е повишен при КБ, сърдечна недостатъчност, периферна съдова болест, артериална хипертония, хиперхолестеролемия и диабет. Най-често използваните методи за определяне са HPLC и ELISA [51] (фиг. 4).



Фиг. 4. Роля на азотния окис в организма. AD

Хомоцистеинът (НСУ) е независим рисков фактор за КБ, мозъчносъдова и периферносъдова болест. НСУ е S-съдържаща аминокиселина и метаболит на метионина. Хипер-НСУ се дължи на генетична мутация или придобити дефекти. НСУ е неспецифичен показател. Повишава се при карцином, хипотиреоидизъм, възпаления на дебелото черво и трансплантация. Механизмите, по които проявява своята токсичност в организма, са: освобождаване на свободни радикали, намаляване на NO и увреждане на съдовата дилатация. Повишава експресията и секрецията на химиокини и клетъчни адхезионни молекули (моноцит-хемиаатрактантен протеин-1, VCAM-1, ICAM-1 и E-selectin). НСУ индуцира ендотелна адхезивност на моноцити и левкоцити и отключва атеросклерозата. НСУ притежава прокоагулантна активност. Методите за определяне на НСУ са: HPLC, газхроматография с масспектрометрия и имунологични методи. НСУ задължително трябва да се изследва при лица с фамилна анамнеза за сърдечносъдови заболявания, лица с преждевременна атеросклероза и без други РФ, деменция и болест на Алцхаймер, както и при всяко лице на възраст над 60 год. Състоянията на хиперкоагулабилитет днес рутинно трябва да включват определяне на НСУ [18, 39, 69].

Triple marker test е най-съвременният критерий, с най-висока предиктивна стойност за разграничаване на здрави лица от пациенти с КБ и риск от усложнения и представя връзката между липидите и възпалението. Получава се след определянето на 3 отделни високочувствителни маркера – OxLDL, HDL-C и hsCRP, и представлява отношение между първите два, умножено по hsCRP: **OxLDL/HDL-C x hs CRP** [32, 72].

Още нови – нетрадиционни – биомаркери

Тромбозите зависят и от генетични фактори. FV Leiden мутацията (APCR, резистентност към активиран Рг С) не е свързана с повишен риск за МИ, инсулт и КБ при жени на орална контрацепция, но рискът от венозни и артериални тромбози нараства 30-50 пъти при носителките на мутацията. От 40 гена, които се контролират от Ъпстрийм транскрипционен фактор 1 (USF1), няколко са свързани с контрол на глюкозния и липидния метаболизъм и участват в патогенезата на ранната атеросклероза, като създават патологичен фенотип на артериалната стена. Ф VII активиращата протеаза (FSAP) повлиява фибринолизата и играе ключова роля в потискането на пролиферацията и миграцията на ГМК. Повишението на FSAP в нестабилни плаки води до дестабилизиране на плаката и промени в хе-

мостазния баланс [34, 45]. HDL и неговите апо-липопротеини могат да усилят холестероловото изнасяне от пенестите клетки чрез АТР-свързани касетъчни транспортери ABCA1 и ABCG1. Комбиниран дефицит води до увреден холестеролов ефлукс от HDL-C или ApoA-1, значимо намалена секреция на ApoE и повишена секреция на възпалителни цитокини и химиокини [48].

Гама-глутамилтрансферазата (GGT) е ензим, произвеждан главно от черния дроб и катализиран от глутатион, главният антиоксидант в човешкото тяло. Определянето му се използва основно като показател за чернодробна дисфункция и алкохолна злоупотреба, но също така може да идентифицира хората с повишен риск от КБ и сърдечно-съдова смърт. В проучване върху 160 000 възрастни лица в Австрия се установява, че при висока активност на GGT рискът от фатална КБ и инсулт е 1.5-пъти по-висок в сравнение с хората с нормални нива. GGT е независим предиктор за фатална КБ и инсулт, трети по ред след тютюнопушенето и артериалната хипертония, но преди повишените нива на глюкоза, ТС и TG. GGT е вероятно

- proteins, the insulin resistance and noninsulin-dependent diabetes. – *Curr. Opin. Lipidol.*, 7, 1996, 167-171.
6. Austin, M. et al. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. – *JAMA*, 260, 1988, 1917-1921.
 7. Aviram, M. et D. Presser. Oxidized low-density lipoproteins reduce plasma coagulation in vitro. – *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 51, 1991, 17-20.
 8. Ballantyne, Ch. et al. Lipoprotein-associated phospholipase A₂, high-sensitivity c-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. – *Circulation*, 109, 2004, 837-842.
 9. Blake, G. et P. Ridker. Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction. – *J. Int. Med.*, 252, № 4, 283-294.
 10. Blann, A., S. Nadar et G. Lip. The adhesion molecule P-selectin and cardiovascular disease. – *Eur. Heart J.*, 24, 2003, 2166-2179.
 11. Calabresi, L., M. Gomaschi et G. Franceschini. Endothelial protection by high-density lipoproteins. – *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 23, 2003, 1724-1727.
 12. Carmena, R., P. Duriez et J. Fruchart. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. – *Circulation*, 109, 2004, Suppl. 1, III2-7.
 13. Cortellaro, M. et al. The PLAT Study: hemostatic function in relation to atherothrombotic ischemic events in vascular disease patients. Principal results. PLAT Study Group. Progetto Lombardo Atero-Trombosi (PLAT) Study Group. – *Arterioscler. Thrombosis*, 12, 1992, 1063-1070.
 14. Cremer, P. et al. Lipoprotein (a) as predictor of myocardial infarction in comparison to fibrinogen, LDL cholesterol and other risk factors: results from the prospective Göttingen Risk Incidence and Prevalence Study (GRIPS). – *Eur. J. Clin. Invest.*, 24, 1994, № 7, 444-453.
 15. Danesh, J. et al. Emerging Risk Factors Collaboration. The Emerging Risk Factors Collaboration: analysis of individual data on lipid, inflammatory and other markers in over 1.1 million participants in 104 prospective studies of cardiovascular disease. – *Eur. J. Epidemiol.*, 22, 2007, 839-869.
 16. Danesh, J. et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. – *NEJM*, 350, 2004, 1387-1397.
 17. Emdin, M. et al. Gamma-glutamyltransferase as a cardiovascular risk factor. – *Eur. Heart J.*, 27, 2006, № 18, 2145-2146.
 18. Fderman, D. et R. Kirsner. An Update on Hypercoagulable disorders. – *Arch. Intern. Med.*, 161, 2001, 1051-1056.
 19. Ferreiros, E. et al. Independent prognostic value of elevated C-reactive protein in unstable angina. – *Circulation*, 100, 1999, 1958-1963.
 20. Gordon, T. et al. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. – *Am. J. Med.*, 62, 1977, 707-714.
 21. Hackam, D. et S. Anand. Emerging risk factors for atherosclerotic vascular disease. A. Critical review of the evidence. – *JAMA*, 290, 2003, 932-940.
 22. Haverkate, F., S. G. Thompson et F. Duckert. Haemostasis factors in angina pectoris: relation to gender, age and acute-phase reaction. Results of the ECAT Angina Pectoris Study Group. – *Thromb Haemost.*, 73, 1995, № 4, 561-567.
 23. Held, C. et al. Haemostatic markers, inflammatory parameters and lipids in male and female patients in the Angina Prognosis Study In Stockholm (APSIS). A comparison with healthy controls. – *J. Intern. Med.*, 241, 2003, № 1, 59-69.
 24. Herrington, D. M. et K. Klein. Pharmacogenetics of estrogen replacement therapy. – *J. Appl. Physiol.*, 91, 2001, 2776-2784.
 25. Hok-Hay, S. O. et al. Lipoprotein-associated phospholipase A₂ activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke. The Rotterdam Study. – *Circulation*, 111, 2005, 570-575.
 26. Hubacek, J. et al. Sex-specific interaction between APOE and APOA5 variants and determination of plasma lipid levels. – *Eur. J. Hum. Gen.*, 16, 2008, 135-138.
 27. Ito, Y. et al. New simple method for small, dense LDL: development of a new quantification method and clinical significance. – *Rinsho Byori.*, 52, 2004, № 5, 406-413.
 28. Jaffe, A., L. Babuin et F. Apple. Biomarkers in acute cardiac disease. the present and the future. – *J. Am. Coll. Cardiol.*, 48, 2006, 1-11.
 29. Jakes, H. et al. "Is apolipoprotein A5 a novel regulator of triglyceride-rich lipoproteins?". – *Ann. Med.*, 38, 200

46. Murín, J. The role of infection and inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis – *Vnitr. Lek.*, **48**, 2002, № 7, 657-666.
47. Nagajothi, N. et al. Trivedi. Biomarkers in acute cardiac disease. – *J. Am. Coll. Cardiol.*, **48**, 2006, 2358.
48. Out, R. et al. Combined deletion of macrophage ABCA1 and ABCG1 leads to massive lipid accumulation in tissue macrophages and distinct atherosclerosis at relatively low plasma cholesterol levels. – *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **28**, 2008, № 2, 258-261.
49. Parahuleva, M. et al. Factor Seven Activating Protease (FSAP) expression in human monocytes and accumulation in unstable coronary atherosclerotic plaques. – *Atherosclerosis*, **196**, 2008, № 1, 164-171.
50. Pearson, T. et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease. application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. – *Circulation*, **107**, 2003, 499-511.
51. Peracino, A. et al. 1st International Course on Integrated Biomarkers. Biochemical and Bioimaging Endpoints in Cardiocerebrovascular Diagnosis, Prevention, Therapy and Drug Development, Lugano (Switzerland), 2005.
52. Persson, M. et al. The epidemiology of Lp-PLA2: Distribution and correlation with cardiovascular risk factors in a population-based cohort. – *Atherosclerosis*, **190**, 2007, № 2, 388-396.
53. Pyörälä, K. et al. Prevention of coronary heart disease in clinical practice: Recommendations of the Task Force of the European Society of Cardiology, European Atherosclerosis Society and European Society of Hypertension. – *Eur. Heart J.*, **15**, 1994, 1300-1331.
54. Rainwater, D. et al. Evidence that multiple genes influence baseline concentrations and diet response of Lp(a) in baboons. – *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **19**, 1999, № 11, 2696-2699.
55. Ravindran, R. et al. Krishnan. Increased platelet cholesterol and decreased percentage volume of platelets as a secondary risk factor for coronary artery disease. – *Pathophysiol. Haemost. Thromb.*, **36**, 2007/2008, 45-51.
56. Revkin, J. et al. Biomarkers in the prevention and treatment of atherosclerosis: need, validation, and future. – *Pharmacol. Rev.*, **59**, 2007, 40-53.
57. Ridker, P. Evaluating novel cardiovascular risk factors: Can we better predict heart attacks? – *Ann. Intern. Med.*, **130**, 1999, 933-937.
58. Ridker, P. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. – *Circulation*, **107**, 2003, 363-369.
59. Rifkind, B. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial (CPPT). – *Heartbeat*, **1**, 1985, 7-8.
60. Robins, S. et al. Lipid alterations and decline in the incidence of CHD in the Helsinki Heart Study. – *JAMA*, **260**, 1988, 641-651.
61. Rosengren, A. et al. Lipoprotein (a) and coronary heart disease: a prospective case-control study in a general population sample of middle aged men. – *BMJ*, **301**, 1990, № 6763, 1248-1251.
62. Ross, R. Atherosclerosis © an inflammatory disease? – *N. Engl. J. Med.*, **340**, 1999, 115-126.
63. Ruttman, E. et al. Gamma-glutamyltransferase as a risk factor for cardiovascular disease mortality. An epidemiological investigation in a cohort of 163 944 Austrian adults. – *Circulation*, **112**, 2005, 2130-2137.
64. Salomaa, V. et al. Association of Fibrinolytic parameters with early atherosclerosis. – *Circulation*, **91**, 1995, 284-290.
65. Siegel-Axel, D. et al. Platelet lipoprotein interplay: trigger of foam cell formation and driver of atherosclerosis. – *Cardiovasc. Res.*, **78**, 2008, № 1, 8-17.
66. Sirtori, C. HDL and the progression of atherosclerosis: new insights. – *Eur. Heart J. Suppl.*, **8**, 2006, Suppl. F, F4-F9.
67. Sniderman, A. et al. Hypertriglyceridemic hyperapoB in type 2 diabetes. – *Diabetes Care*, **25**, 2002, 579-582.
68. St-Pierre, A. et al. Comparison of various electrophoretic characteristics of LDL particles and their relationship to the risk of ischemic heart disease. – *Circulation*, **104**, 2001, 2295-2299.
69. Stühlinger, M. et al. Homocysteine and atherosclerosis. – *Atherosclerosis*, **161**, 2002, 365-374.
70. Tanis, B. Oral contraceptives and the risk of myocardial infarction. – *Eur. Heart J.*, **24**, 2003, № 5, 377-380.
71. Tiong, Y. et al. Protein C deficiency manifesting as an acute myocardial infarction and ischaemic stroke. – *Heart*, **89**, 2003, e7.
72. Tsimikas, S. et al. Witztum. Measuring circulating oxidized low-density lipoprotein to evaluate coronary risk. – *Circulation*, **103**, 2001, 1930-1932.
73. Tsimikas, S., J. Willerson et P. Ridker. C-reactive protein and other emerging blood biomarkers to optimize