

Валидные кардиоспецифические биохимические маркеры. Часть I

Метельская В. А., Гуманова Н. Г.

ФГБУ “Национальный медицинский центр терапии и профилактической медицины” Минздрава России. Москва, Россия

Биомаркеры находят широкое применение в диагностике заболеваний, оценке их выраженности и определении прогноза по исходам, а также используются при выборе оптимальной терапии, мониторинге ее эффективности и безопасности. Настоящий обзор посвящен описанию кардиоспецифических биомаркеров, одобренных FDA (Food and Drug Administration), США, что гарантирует целесообразность их применения. Перечень анализируемых маркеров не является исчерпывающим ни с точки зрения списка валидных маркеров, одобренных FDA, ни с точки зрения их охвата в Рекомендациях по лечению различных сердечно-сосудистых заболеваний. Помимо изложения общих понятий о биомаркерах, определений и классификации в настоящей (первой) части обзора представлена информация о диагностических и прогностических биомаркерах сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с атеросклерозом.

Ключевые слова: циркулирующие биомаркеры, лабораторная диагностика, FDA, сердечно-сосудистые заболевания, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 30/04-2020

Получена рецензия 07/05-2020

Принята к публикации 13/05-2020



Для цитирования: Метельская В. А., Гуманова Н. Г. Валидные кардиоспецифические биохимические маркеры. Часть I. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(4):2573. doi:10.15829/1728-8800-2020-2573

Valid cardiac biomarkers. Part I

Metelskaya V. A., Gumanova N. G.

National Medical Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow, Russia

Biomarkers are widely used for the diagnosing of diseases, evaluation of their severity, prediction of outcomes, and for monitoring the effectiveness and safety of targeted therapy. This review describes specific cardiac biomarkers approved by FDA (Food and Drug Administration USA). The list of described biomarkers is not exhaustive. In addition to the general concepts of biomarkers, definitions and classification, this Part I of the review contains data on diagnostic and prognostic biomarkers of cardiovascular diseases associated with atherosclerosis.

Key words: circulating biomarkers, laboratory diagnostics, FDA, cardiovascular diseases, atherosclerosis, coronary artery disease.

Relationships and Activities: none.

Metelskaya V. A. ORCID: 0000-0001-8665-9129, Gumanova N. G.* ORCID: 0000-0002-6108-3538.

*Corresponding author:
ngumanova@gnicpm.ru

Received: 30/04-2020

Revision Received: 07/05-2020

Accepted: 13/05-2020

For citation: Metelskaya V. A., Gumanova N. G. Valid cardiac biomarkers. Part I. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(4):2573. (In Russ.) doi:10.15829/1728-8800-2020-2573

АСТ — аспаратаминотрансфераза, вСРБ — высокочувствительный СРБ, ДЛП — дислипидемия, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, ИФА — иммуноферментный анализ, ЛВП — липопротеины высокой плотности, ЛДГ — лактатдегидрогеназа, ЛНП — липопротеины низкой плотности, ЛП(а) — липопротеин(а), СРБ — С-реактивный белок, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ССР — сердечно-сосудистый риск, ТГ — триглицериды, ФР — факторы риска, ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких, ХС — холестерин, ХС нЛВП — ХС, определяемый как разница между общим ХС и ХС ЛВП, АСС/АНА — American College of Cardiology/American Heart Association, СК-МВ — креатинкиназа, изоформа МВ, Lp-PLA2 — липопротеин-ассоциированная фосфолипаза A₂, NO — оксид азота, NOx — суммарно нитрит и нитрат ионы, U.S. FDA — Food and Drug Administration.

Введение: понятия и определения

Внедрение нового биомаркера в клиническую практику, фактически нового молекулярно-биологического инструмента, начинается с идентификации специфического биохимического показателя

с помощью разнообразных подходов и методологий с последующей валидацией. Новые маркеры риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) — предмет интенсивного обсуждения в научной литературе, в т.ч. отечественной; при этом значительное внима-

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: ngumanova@gnicpm.ru

Тел.: +7 (905) 771-18-36

[Метельская В. А. — д.б.н., профессор, г.н.с., рук. отдела изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0001-8665-9129, Гуманова Н. Г.* — к.б.н., в.н.с. отдела, ORCID: 0000-0002-6108-3538].

ние уделяется систематизации и структурированию имеющейся обширной информации о биомаркерах [1-5].

С целью унификации разнообразия трактовок понятия “биомаркер” в 2015г была создана рабочая группа (Biomarker Working Group) FDA-NIH (Food and Drug Administration-National Institutes of Health) по гармонизации терминологии по биомаркерам и конечным точкам [6], одним из результатов работы которой явилось создание глоссария BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) [7]. Единообразие трактовок должно способствовать более эффективной трансляции перспективных находок в клиническую практику и пониманию необходимости поддержки отечественных исследований в направлении поиска новых биомаркеров.

Биомаркер как “характеристика, которая может быть объективно измерена и использована как показатель нормально протекающих биологических процессов, патогенных процессов или фармакологических реакций на терапевтическое вмешательство” был определен Национальной рабочей группой по биомаркерам Национального Института Здоровья США в 2001г [6].

Основную нагрузку по валидации биомаркеров в США несет крупная, разветвленная государственная структура — U.S. Food and Drug Administration (FDA — Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов). В соответствии с определением, предложенным специалистами FDA [8], биомаркеры — это показатели, которые можно определить (измерить) и которые служат индикаторами метаболизма в нормальных биологических/физиологических условиях, патогенетических процессов или биологических ответов на любое вмешательство, включая медикаментозную и немедикаментозную терапию. Несмотря на некоторое разнообразие формулировок, которые охватывают практически все визуализирующие и регистрирующие методики (измерение артериального давления, регистрация электрокардиограммы, ультразвуковые исследования, коронароангиография и т.п.), чаще всего термин “биомаркер” применяют к показателям, определяемым в крови, моче и других биологических жидкостях. За последние десятилетия существенный прорыв в прогнозировании сердечно-сосудистого риска (ССР) был достигнут именно в области так называемых циркулирующих, определяемых в сыворотке/плазме крови, биомаркеров.

Согласно классификации биомаркеров, предложенной Национальной рабочей группой по биомаркерам Национального Института Здоровья США [6], биомаркеры разделяют на несколько категорий:

- **Биомаркер подверженности (риска) заболевания:** это показатель, который свидетельствует

о потенциальной возможности развития заболевания или клинического состояния у человека, у которого в данный момент нет никаких проявлений этого заболевания/состояния.

- **Диагностический биомаркер:** это показатель, позволяющий детектировать или подтвердить наличие заболевания или клинического состояния, или идентифицировать лиц с тем или иным подтипом заболевания.

- **Мониторирующий биомаркер:** это показатель, который измеряется серийно и позволяет оценить течение заболевания или динамику клинического состояния, а также подтвердить воздействие (или эффект) того или иного вмешательства.

- **Прогностический биомаркер:** это показатель, по которому оценивают вероятность развития клинического события, рецидива или прогрессирования заболевания у пациентов с уже диагностированным заболеванием или клиническим состоянием.

- **Предиктивный биомаркер:** это показатель, используемый для идентификации тех пациентов, у которых благоприятный или неблагоприятный эффект вмешательства можно ожидать с большей вероятностью по сравнению с теми, у кого тест (маркер) отрицательный.

- **Биомаркер фармакологического ответа (фармакодинамический биомаркер):** это показатель, демонстрирующий формирование у пациента биологической реакции в ответ на конкретное вмешательство, например, снижение уровня холестерина (ХС) под действием статинов. Фармацевтические компании обычно тестируют эти биомаркеры в клинических испытаниях II фазы и представляют результаты в FDA (в США) или в другие компетентные организации (в других странах).

- **Биомаркер безопасности:** это показатель, измеряемый до и/или после вмешательства с целью оценить вероятность, наличие и/или степень токсичности этого вмешательства и другие нежелательные явления.

К настоящему времени накоплены научные данные, свидетельствующие о широком применении биомаркеров в разнообразных сферах медицинской деятельности. Биомаркеры служат мощным инструментом, используемым как в клинической практике, так и в научных исследованиях. Помимо уже упомянутого их практического применения они позволяют совершенствовать дизайн клинических испытаний, формировать группы или когорты, проводить предварительную оценку ответа на вмешательство и подбор доз препаратов и оценку их безопасности на начальных этапах лечения [8, 9].

Биомаркеры могут быть использованы как суррогатные конечные точки, т.е. показатели, которыми можно заменить избранные конечные точки клинического испытания [8, 9]. Применение био-

маркеров в качестве суррогатных конечных точек является наиболее противоречивым, поскольку требует дополнительных доказательств того, что их измерение позволяет экстраполировать полученные данные на клинические конечные точки, например, на смертность в результате той или иной патологии. В качестве примера можно привести такой широко известный показатель, как ХС липопротеинов низкой плотности (ЛНП), который является и валидированным биомаркером нарушений транспорта ХС в составе липопротеинов плазмы крови, и суррогатной точкой для оценки эффективности липидснижающей терапии (подробнее об этом биомаркере речь пойдет ниже). Далеко не все биомаркеры “достигают” статуса суррогатной конечной точки. В глоссарии BEST [7] суррогатные конечные точки определены как биомаркеры, которые должны иметь доказательную базу, подтверждающую их адекватность клиническим конечным точкам, т.е. биомаркер, тест, способ или инструмент должен значимо идентифицировать, измерять или предсказывать анализируемый исход.

Маркер может быть рекомендован для практического применения, если он валидирован. Валидация подразумевает процесс, позволяющий статистически достоверно установить, что тест, метод или инструмент пригоден для осуществления предназначенной функции. Валидации подвергается не только биомаркер с точки зрения его клинической целесообразности (клиническая валидация), но и метод его определения (аналитическая валидация):

— клиническая валидация — это процедура, дающая высокую степень уверенности в том, что возможность предлагаемого теста (маркера) диагностировать, измерять или прогнозировать то или иное клиническое состояние (исход), статистически удовлетворительна;

— аналитическая валидация — это процедура, дающая высокую степень уверенности в том, что аналитические характеристики (как правило, количественного) предлагаемого теста определения данного маркера: чувствительность, специфичность, точность, а также другие характеристики, соответствующие специальным техническим протоколам (описание процедуры сбора биообразцов, пробоподготовки и хранения), являются статистически удовлетворительными.

Клиническая валидация биомаркера — сложный многоэтапный процесс. Независимо от цели использования новый биомаркер будет клинически валидирован только в том случае, если он доступен для измерения у пациента, если его диагностические/прогностические свойства хорошо воспроизводимы в стандартных условиях, иными словами, если тест обладает высокой чувствительностью и специфичностью по отношению к исходам забо-

левания, которое планируется идентифицировать, если тест вносит независимый вклад в прогноз исходов наряду с другими маркерами (предикторами), используемыми для оценки риска данного заболевания, и результаты теста могут легко интерпретироваться клиницистами.

В целом, требования по клинической валидации теста включают, помимо его статистической значимости, как минимум, три дополнительных критерия, среди которых, возможность с помощью маркера осуществлять дискриминацию, стратификацию и реклассификацию пациентов [10].

Дискриминация означает способность биомаркера различать пары случай-контроль в одномоментных или проспективных исследованиях, дифференцировать тех, у кого с высокой вероятностью разовьется заболевание, от лиц с низкой вероятностью [11]. При этом новый биомаркер должен не только демонстрировать ассоциации с исходами заболевания с поправками на уже известные маркеры (факторы) риска, но и улучшать дискриминационную модель по сравнению с наилучшей доступной моделью, которая учитывает известные прогностические маркеры, и которая является стандартом для выбора тактики лечения на данный момент [12]. Дискриминационная способность биомаркера важна для использования его в качестве диагностического теста, т.е. для классификации участников на имеющих или не имеющих признаки заболевания. Это свойство биомаркера обычно оценивают с помощью ROC-анализа (the receiver operating characteristic curve) [13].

Стратификация пациентов на основании теста или шкалирования риска может базироваться на статистических методах, включающих критерий согласия Хосмера-Лемешева (Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit statistic) логистической регрессии прогнозирования риска заболевания в пределах популяционной выборки. Для оценки выборку делят на децили по уровню риска и наблюдаемое количество событий сравнивают с ожидаемым. Стратификация особенно важна при обсуждении с пациентом вопроса о вероятности заболеть, представленной в количественном выражении, т.е. расчетом абсолютного, а не относительного риска заболевания. Среди примеров таких алгоритмов (калькуляторов) следует назвать разнообразные шкалы: оценки риска ишемической болезни сердца (ИБС), оценки риска развития фатального или нефатального инсульта у пациентов с фибрилляцией предсердий и др. Если обнаруживается, что риск, рассчитываемый с помощью какой-либо шкалы, либо недооценивается, либо переоценивается, эта шкала может подвергнуться рекалибровке. Например, применение Фремингемской шкалы оценки ССР в китайской когорте выявило завышенные риски; рекалибровка с учетом данных именно

по китайской популяции привела к улучшению прогноза [14].

С точки зрения предсказательной способности биомаркера для клинициста важным является и вопрос о реклассификации, а именно: будет ли новый маркер (новая модель с включением этого маркера) лучше стратифицировать лиц на категории высокого и низкого риска [15, 16].

FDA в США — это единственный орган, уполномоченный давать рекомендации по разрабатываемым биомаркерам, которые предлагаются на рассмотрение к валидации для широкого лабораторного применения на территории этой страны. Лишь только после одобрения FDA, основанного на принципах доказательной медицины, базирующихся на результатах многочисленных клинических испытаний, тот или иной биомаркер находит поддержку у медицинских страховых компаний, вносится в планы обследований и внедряется в широкую лабораторную и/или клиническую практику [8].

Организации с аналогичными функциями на территории РФ пока не существует. Поэтому цель настоящего обзора — ознакомить специалистов с кардиоспецифическими маркерами, одобренными FDA, что гарантирует целесообразность их применения. При этом следует отметить, что перечень маркеров, о которых пойдет речь, не является исчерпывающим ни с точки зрения списка валидных маркеров, одобренных FDA, ни с точки зрения их охвата в Рекомендациях по лечению различных ССЗ.

Помимо изложения общих понятий о биомаркерах, определений и классификации, представленных в первой части обзора, внимание читателей будет сфокусировано на диагностических и прогностических биомаркерах сердечной патологии, каждый из которых может быть предметом отдельной крупной аналитической статьи. Поэтому основное внимание в обзоре сконцентрировано на сильных и слабых сторонах избранных биомаркеров, нежели на всестороннем освещении подробностей их структуры и биологических свойств. Кроме того, в обзоре будут представлены перспективные кардиоспецифические биомаркеры, являющиеся предметом собственных исследований авторов.

Эволюция внедрения кардиомаркеров в клиническую практику

За последние ~65 лет использование лабораторных показателей в качестве биомаркеров ССЗ существенно эволюционировало. Рассмотрим вкратце хронологию основных достижений на пути внедрения в клиническую практику кардиоспецифических биомаркеров и включения этих показателей в рекомендации и стандарты диагностики и лечения.

Аспаргатаминотрансфераза (АСТ)

АСТ, самый первый диагностический маркер острого инфаркта миокарда (ИМ), была введена в широкую лабораторную практику в 1954г [17].

АСТ — фермент, присутствующий в тканях человека в двух различных изоформах, одна из которых локализована в цитоплазме, а другая в митохондриях. Экспрессия митохондриальной изоформы при повреждении миокарда, как правило, не повышается. Рост активности этой изоформы отмечается позже и коррелирует с уровнем цитозольной изоформы. АСТ повышается в крови через 3-4 ч после острого ИМ, достигает максимума через 15-28 ч и возвращается к норме через 5 сут. [18].

АСТ неспецифична в отношении повреждения сердечной ткани, поскольку на ее активность могут влиять печеночная недостаточность вследствие сердечной недостаточности, миокардит, кардиоверсия, перикардит, тахикардия, легочная тромбоэмболия и кардиогенный шок.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)

ЛДГ вошла в практику лабораторной диагностики острого ИМ в 1955г, а в 60-х годах прошлого века была одобрена FDA [17]. Внедрение методов электрофореза позволило идентифицировать 5 изоферментов ЛДГ: ЛДГ-1 — изоформа, присутствующая в миоцитах сердца и эритроцитах; ЛДГ-2 — в основном, в лейкоцитах, ЛДГ-3 — в ткани легких, ЛДГ-4 — в поджелудочной железе, почках и плаценте и ЛДГ-5 — в печени и скелетных мышцах [19].

Диагностическую значимость как кардиомаркер имеет ЛДГ-1, активность которой повышается в течение 24-72 ч после ИМ и достигает пиковых концентраций в течение 3-4 сут. Активность ЛДГ остается повышенной до 8-14 сут., что позволяет использовать ее в качестве позднего маркера ИМ. ЛДГ — это неспецифичный маркер ИМ, поскольку ее активность может повышаться при гемолитической анемии, панкреатите, ишемической кардиомиопатии и других заболеваниях [20]. Диагностическая функция ЛДГ в отношении риска ИМ в настоящее время практически полностью перенесена на сердечный тропонин. С внедрением в широкую практику тестов на тропонин на основе иммуноферментного анализа (ИФА) исследование изоферментов ЛДГ в клинической практике развитых стран практически не применяется.

Креатинкиназа, изоформа МВ (СК-МВ)

Креатинфосфокиназу или креатинкиназу, как кардиомаркер, начали определять еще в 1960г; в 1972г анализировали уже активность изофермента, присутствующего, в основном, в мышечной ткани (СК-МВ) [17]. Метод определения концентрации СК-МВ с помощью ИФА впервые был разработан в 1985г. Определение концентрации фермента имело преимущества перед определением его каталитической активности: оно давало более стабильный результат, поскольку на активность фермента могли оказывать влияние условия и сроки хранения биологического материала. В 1990г было показано, что ИФА-определение концентрации фермента

более надежно и в большей степени отражает размер зоны ишемического повреждения, чем измерение каталитической активности фермента [21].

Миоглобин

Миоглобин определяется в широкой лабораторной практике с 1978г [17]. Это небольшой цитозольный глобулярный белок, переносчик кислорода, обнаруживаемый в сердце и скелетных мышцах. В результате повреждения миокарда, благодаря небольшому размеру, белок быстро попадает в кровоток. Миоглобин обнаруживается в крови в повышенной концентрации спустя 1-3 ч после острого ИМ, достигая максимальной концентрации через 4-7 ч и возвращаясь к нормальной концентрации через день-полтора [18]. При использовании миоглобинового теста пациента с ИМ можно пропустить из-за быстрого клиренса миоглобина. Миоглобин долгое время удерживал первенство как лучший маркер диагностики острого ИМ в неотложной ситуации в течение 3-6 ч после манифестации симптомов, обеспечивая 89% вероятность истинно отрицательного результата [17]. Поскольку миоглобин быстро снижается в плазме после коронарной реперфузии, было показано, что этот маркер может быть полезен в оценке результативности внутривенной тромболитической терапии. К тому же, быстрая кинетика миоглобина важна для детекции повторного ИМ у пациентов с постинфарктной стенокардией, когда уровень тропонина либо остается повышенным, либо снижается в результате реваскуляризационной процедуры.

Концентрация миоглобина повышена при дистрофии скелетной мускулатуры, мышечном воспалении (миозите), а также у пациентов с острой или хронической почечной недостаточностью [22]. Более того, повышенный уровень миоглобина может детектироваться после внутримышечных инъекций и напряженной физической нагрузки, а также под действием различных токсинов и медицинских препаратов. Показано, что в сравнении с СК-МВ, миоглобин менее эффективен как кардиоспецифический маркер [17].

Маркеры атеросклероза

Среди традиционных факторов риска ССЗ выделяют группу биомаркеров, определяемых как “липидный профиль”, позволяющих диагностировать нарушения в системе липопротеинов плазмы крови (дислипидемии — ДЛП). В понятие ДЛП включены нарушения липидного профиля, часто встречающиеся в клинической практике: повышенный уровень общего ХС, в основном, за счет ХС в составе ЛНП, повышенный уровень триглицеридов (ТГ), низкий уровень ХС липопротеинов высокой плотности (ЛВП). К ДЛП относится и повышенный уровень липопротеина(а) (ЛП(а)). Признание того факта, что повышенный уровень ХС (одобрен FDA в 1997г) [23] является причиной ате-

росклеротического поражения сосудов как у человека, так у некоторых животных, стало основой принятия его в качестве суррогатного биомаркера риска ССЗ. В многочисленных клинических исследованиях была обнаружена прямая корреляция между уровнем ХС ЛНП и клиническими исходами. Применение ХС ЛНП в качестве суррогатной конечной точки в клинических испытаниях первого препарата из класса ингибиторов биосинтеза ХС (ловастатина) послужило основанием для одобрения FDA этого препарата (1987), а позднее и других липидснижающих препаратов, например, эзетимиба (2002).

Изучение патофизиологии метаболизма липопротеинов позволило идентифицировать биологические мишени, воздействие на которые снижает уровень ХС ЛНП. Показано, что снижение уровня ХС ЛНП на 1 ммоль/л сопровождается снижением 5-летнего риска развития крупного сердечно-сосудистого события на 22% и на 10% снижением общей смертности [24]. Для оценки уровня ХС ЛНП можно использовать прямой метод измерения, либо использовать формулу Фридвальда, в которую входят, концентрация общего ХС, ТГ и ХС ЛВП.

Обратная связь между уровнем в плазме крови ХС ЛВП и наличием ИБС была показана во многих эпидемиологических исследованиях и служила свидетельством потенциальной антиатерогенности ЛВП. В то же время, результаты клинических испытаний и генетических исследований с использованием менделевской рандомизации посеяли некоторые сомнения относительно причинно-следственной роли ЛВП как протективного фактора в отношении ССЗ [25]. Действительно, ассоциация повышенного уровня ХС ЛВП с замедлением развития атеросклероза показана только на животных моделях. Доказательств того, что вмешательства, направленные на повышение уровня ХС ЛВП, снижают ССР у человека, пока нет. Поэтому фокус исследований в настоящее время смещается на изучение функциональных свойств ЛВП, а не только на оценку его концентрации в плазме крови [26].

Важнейшим липидным компонентом в составе липопротеинов и одним из основных измеряемых параметров липидного спектра являются ТГ, которые служат источником энергии в организме человека. Противоречия относительно причинной роли ТГ в патогенезе ССЗ, обусловленных атеросклерозом, не исчезли до сих пор. Так, сравнительно недавно проведенные генетические исследования подтвердили, что гипертриглицеридемия является фактором риска (ФР) ССЗ. Повышенный уровень ТГ является биомаркером ТГ-богатых липопротеинов, которые и обуславливают повышенный риск ССЗ. Атерогенность этих липопротеинов обусловлена не ТГ, как таковыми, а ХС, который входит в их состав [27].

Вопрос о пользе оценки в клинической практике уровня аполипопротеинов (апо) В (основного белка ЛНП) и апо АI (основного белка ЛВП), одобренных FDA в 2004г [28], до сих пор остается предметом дискуссий [29]; мнения экспертов относительно того, может ли определение апо В и апо АI заменить определение уровней ХС ЛВП и общего ХС при оценке риска ССЗ, разделились. Одни авторы считают, что повышенное содержание в плазме крови апо В лучше прогнозирует риск ССЗ, чем уровень ХС ЛНП. В других работах показано, что показатель ХС неЛВП (определяемый как разница между общим ХС и ХС ЛВП) столь же информативен, как и апо В, а отношение общий ХС/ХС ЛВП также значимо прогнозирует риск, как и отношение апо В/АI. Таким образом, несмотря на данные в пользу измерения концентрации апобелков вместо ХС соответствующих липопротеинов, только немногие авторы указывают на то, что определение апо В и апо АI аполипопротеинов целесообразнее, чем рутинное определение ХС соответствующих липопротеинов [29, 30]. В метаанализе 37 проспективных когортных исследований, включавших лиц без признаков ССЗ, было показано, что введение поправок на концентрации апо В и апо АI сопровождается лишь незначительным улучшением в прогнозировании риска [31]. В российской версии Рекомендаций по контролю ДЛП (2017) данные по апобелкам, ХС неЛВП, С-реактивному белку (СРБ) не представлены [32]. В то же время, в обновленной версии Рекомендаций Европейских научных обществ (2019) предложено определять уровень апо В для оценки риска, особенно у лиц с гипертриглицеридемией, сахарным диабетом, метаболическим синдромом или при очень низком ХС ЛНП [33].

ЛП(а)

ЛП(а) = Lp(a), одобренный FDA в 1997г [28]); был открыт в 1963г Бергом К., который обнаружил, что высокий уровень ЛП(а) в сыворотке крови наследственно детерминирован и ассоциируется с повышенным риском ИБС. ЛП(а) — это ЛНП-подобная частица, синтезируемая в печени, которая, так же, как и ЛНП, содержит белок апо В, но в отличие от апо В в составе ЛНП этот белок ковалентно связан с очень крупным белком апо (а) — гликопротеином, схожим по аминокислотному составу с плазминогеном [34]. На основании высокой степени гомологии с плазминогеном полагают, что апо(а) обеспечивает связь между процессами атеро- и тромбоза. Действительно, ЛП(а) способен проникать в интиму артерий, а в высокой концентрации, по аналогии с ЛНП, стимулирует перекисное окисление липидов, пролиферацию гладкомышечных клеток, воспаление и образование пенистых клеток [34, 35].

Установлены выраженные взаимосвязи между повышенным уровнем ЛП(а) и риском преждевре-

менной ИБС [36, 37]. Показано, что концентрация ЛП(а) слабо коррелирует с уровнем общего ХС, ХС неЛВП, апо В и фибриногена и обратно с ТГ [38].

Согласно документу Европейского общества по изучению атеросклероза EAS (European Atherosclerosis Society) [37], а также последней версии рекомендаций EAS [33], однократное измерение уровня ЛП(а) рекомендуется лицам, относящимся к категории умеренного или высокого риска развития ССЗ, пациентам с семейной гиперхолестеринемией или с положительным анамнезом по семейной гиперхолестеринемии и гипер(а)липопротеинемии, пациентам с рецидивирующими сердечно-сосудистыми событиями, несмотря на прием статинов, а также в тех случаях, когда 10-летний риск смерти от ССЗ $\geq 3\%$ и/или 10-летний риск смертельных и несмертельных событий $\geq 10\%$. Кроме того, рекомендуется определять уровень ЛП(а) у лиц с высоким уровнем ХС ЛНП, который не снижается, несмотря на прием статинов. В качестве целевого уровня рекомендуется значение ЛП(а) ниже 80-го перцентиля его распределения в популяции, что составляет 50 мг/дл. В настоящее время лекарственного препарата для снижения уровня ЛП(а), одобренного FDA, не существует; единственным средством, позволяющим эффективно удалять ЛП(а) из кровотока, является ЛНП-аферез. В то же время в ходе рандомизированных клинических испытаний активно продолжают поиски эффективных ЛП(а)-снижающих средств, применение которых позволит ответить на вопрос: приведет ли снижение уровня ЛП(а) к заметному снижению сердечно-сосудистых событий [39].

Подводя итог анализа показателей системы липопротеинов в качестве биомаркеров сердечно-сосудистых событий, следует подчеркнуть, что одобренные FDA биомаркеры липидного профиля, цитируются европейскими и российскими клиническими рекомендациями с целью реклассификации риска конкретного пациента.

Липопротеин-ассоциированная фосфолипаза A2

В 2014г FDA одобрила скрининг-тест (PLAC Test), разработанный компанией Diadexus (США), для количественного измерения концентрации в сыворотке крови липопротеин-ассоциированной фосфолипазы A₂ (Lp-PLA₂) методом ИФА, предназначенный для оценки риска ИБС у пациентов без клинических признаков заболевания [40].

Lp-PLA₂ — это фермент, кодируемый геном *PLA2G7*. Lp-PLA₂ продуцируется в клетках при воспалении и высвобождается в кровоток, в основном, в составе частиц ЛНП. Лишь небольшая доля (<20%) от общего количества этого фермента ассоциирована с ЛВП или частицами ремнантных липопротеинов. Основная функция Lp-PLA₂ заключается в гидролизе фосфолипидов в составе окисленных ЛНП с образованием мощного медиатора воспале-

ния лизофосфатидилхолина. Наряду с этим Lp-PLA₂ способна специфически катализировать гидролиз ацильной группы фактора активации тромбоцитов с образованием неактивных продуктов, выступая, таким образом, в качестве противовоспалительного фактора [41].

Экспрессия Lp-PLA₂ значительно увеличена в атеросклеротических бляшках, что указывает на вовлеченность этого фермента в атерогенез, а также в формирование нестабильной уязвимой бляшки и ее разрыв [42]. В экспериментах *in vivo* на кроликах было показано, что у них, так же, как и у человека, повышенная концентрация циркулирующей Lp-PLA₂ сопряжена с большим количеством атеросклеротических бляшек в сосудах, по сравнению с теми животными, у которых концентрация этого белка была в норме. Экспериментально доказано, что специфическое ингибирование Lp-PLA₂ приводит к уменьшению атеросклеротического поражения сосудов у кроликов с гиперлипидемией. С учетом высокого сродства к сосудистой стенке и взаимосвязи с количеством атеросклеротических бляшек фермент Lp-PLA₂ был предложен на роль биомаркера риска развития ССЗ [41, 43].

Роль Lp-PLA₂ в оценке риска ИБС, инсульта и смерти от этих заболеваний оценивали с помощью метаанализа, обобщающего результаты 32 проспективных исследований с участием в общей сложности 79036 человек (64±10 лет, 64% мужчин, 59% участников из Восточной Европы, 26% из Северной Америки) [43], где было проанализировано 17722 конечных точек. В исследовании измеряли как концентрацию Lp-PLA₂, так и активность этого фермента. Разброс показателей активности Lp-PLA₂ от исследования к исследованию был достаточно широкий: от 151 до 42 нмоль/мин/мл и зависел от метода определения, в то время как концентрация Lp-PLA₂, измеряемая методом ИФА (PLAC II assay), находилась в относительно узких пределах (среднее 312±95 мкг/л). Результаты метаанализа показали, что активность Lp-PLA₂ более тесно ассоциирована с уровнем проатерогенных липидов и ССР, чем концентрация Lp-PLA₂; концентрация Lp-PLA₂ была ассоциирована с риском ИБС и общей сердечно-сосудистой смертности и, в меньшей степени, с ишемическим инсультом.

Роль Lp-PLA₂ в прогнозе ССЗ была подтверждена более чем в 10 исследованиях. Так, например, в исследовании WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study) с участием 1160 мужчин и женщин была показана высокая ассоциативная связь Lp-PLA₂ и СРБ с риском развития ССЗ [43]. С внесением поправок на традиционные ФР ССЗ значимая связь Lp-PLA₂ с ССЗ в отличие от СРБ сохранялась. В исследовании ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) средние концентрации Lp-PLA₂ и высокочувствительного СРБ (вЧСРБ) были выше у тех,

у кого в впоследствии развились коронарные события [44]. В среднем, высокий уровень повышал прогноз ИБС на 10-14% [45].

Подытоживая, следует отметить, что предсказательная способность Lp-PLA₂ как биомаркера риска ССЗ представляет собой статистически значимую, но невысокую величину. Однако фармакологическое снижение ее активности на ~65% существенным снижением ССР у больных стабильной ИБС не сопровождалось [46].

СРБ

Хроническое воспаление характерно для всех фаз атеротромбогенеза и служит важнейшим патологическим звеном между образованием атеросклеротической бляшки и ее разрывом, приводящим к окклюзии сосуда и инфаркту. Наиболее изученным и широко применяемым в клинической практике маркером этого воспалительного процесса является СРБ.

СРБ — белок плазмы, который синтезируется в печени. Он участвует в опсонизации бактерий и активации системы комплемента; в сосудистой стенке он вызывает локальное повреждение эндотелия. СРБ является медиатором сердечно-сосудистой патологии [47]: он связывается с высокоатерогенными окисленными ЛНП, обнаруживается в атеросклеротических бляшках.

При атеросклерозе СРБ секретируется в незначительных количествах, поэтому для корректного определения его концентрации необходим высокочувствительный метод анализа [48]. За последние 30 лет СРБ активно использовался во всем мире с целью рутинной оценки ССР, и метод его определения высокочувствительным методом был одобрен FDA еще в 1998г. При этом к СРБ прибавляли префикс “высокочувствительный”, вЧСРБ, что вносило путаницу в терминологию, поскольку многие специалисты полагали, что определение “высокочувствительный” относится к белку, а не к методу. В 2005г FDA [49] обновила свои рекомендации в отношении СРБ, предложив ввести в маркировку наборов для определения СРБ высокочувствительным методом для оценки ССР “сердечный СРБ” или сСРБ, однако пока такое определение не стало общепринятым [50].

Интересно, что колебания концентрации СРБ в ходе длительных наблюдений соответствуют колебаниям концентрации общего ХС и систолического артериального давления [47]. Метаанализ, основанный на результатах 22 проспективных исследований, подтверждает, что в верхнем терциле концентрации СРБ, (средний уровень СРБ 2,4 мг/л), риск ИБС возрастает на 60%, по сравнению с нижним терцилем (средний уровень СРБ 1,0 мг/л). Метаанализ 54 проспективных исследований, включающих 160309 участников без ССЗ в анамнезе, показал, что концентрация СРБ ассоциируется с повышенным

риском ССЗ и смерти, обусловленной не ССЗ, с учетом введения необходимых поправок. СРБ в высокой концентрации повышает риск указанных событий в среднем на 30%. На сегодняшний день СРБ является наиболее перспективным биомаркером доклинического атеросклероза.

Рабочими группами АСС/АНА (American College of Cardiology/American Heart Association) по подготовке рекомендаций 2013г предложено использовать определение уровня СРБ в качестве дополнительного показателя в оценке ССР. Однако необходимо учитывать, что при наличии острого воспалительного процесса в организме оценка ССР по СРБ имеет ограничения.

Повторные измерения СРБ могут в определенной степени использоваться для мониторинга эффективности терапии статинами [51].

Группа экспертов Центра по контролю заболеваемости (CDC) и АНА (США) в своем отчете назвали СРБ независимым маркером ССР и одобрили его использование в качестве составной части оценки глобального риска ССЗ у бессимптомных лиц и, особенно, у лиц с промежуточным риском. Уровень СРБ <1 мг/л отражает низкий риск ССЗ, а уровень СРБ >3 мг/л — высокий риск ССЗ [52]. Таким образом, СРБ — доказанный биомаркер воспаления с широкой практикой применения в качестве независимого ФР ССЗ, связанных с атеросклерозом, и их осложнений.

Фибриноген

Обсуждая биохимические маркеры ССЗ, нельзя не остановиться на компонентах системы гемостаза, нарушения функционирования которой (гиперкоагуляция и/или гипофибринолиз) ассоциируются с развитием атеросклероза и тромбоза. Одной из ключевых молекул в каскаде свертывания крови является фибриноген — гликопротеин, который синтезируется в гепатоцитах и высвобождается в кровяное русло [53]. После расщепления фибриногена под действием тромбина образуется фибриномономер, который затем полимеризуется с образованием стабильного фибринового сгустка.

Помимо участия в процессе коагуляции фибриноген является белком острой фазы воспаления, а также служит лигандом для лейкоцитарного интегрина, обеспечивая миграцию лейкоцитов и, тем самым, воспалительный/иммунный ответ [54]. Продукт расщепления фибриногена фибрин влияет на проницаемость эндотелия и тонус сосудов, стимулирует пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток в сосудистой стенке, и так же, как фибриноген, служит аттрактантом для лейкоцитов [55]. Фибриноген обнаружил свойства кардиоспецифического биомаркера за счет того, что фибриновые сгустки или продукты их расщепления в высоких концентрациях обнаруживаются в составе атеросклеротических бляшек пораженных артерий [56].

Уровень циркулирующего фибриногена вариабелен: так, было обнаружено, что у пациентов с высоким уровнем фибриногена ($\geq 3,5$ г/л) на повторном визите в 30-50% случаев обнаруживали низкий уровень фибриногена, в то время как у 15-20% пациентов с низким уровнем фибриногена на повторном визите уровень фибриногена оказался высоким [57, 58].

Повышенный уровень фибриногена ассоциирован с риском хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и других воспалительных заболеваний; в 2016г циркулирующий фибриноген был одобрен FDA как маркер обострения ХОБЛ и как ФР смерти от этого заболевания [59]. Однако фибриноген рассматривается и как маркер сердечно-сосудистой патологии, о чем свидетельствуют результаты масштабных метаанализов, где оценивали роль этого маркера в прогнозе ССР. Так, метаанализ, основанный на результатах 18 исследований (4 тыс. случаев ИБС), показал, что при повышении уровня фибриногена в плазме крови на 1 г/л относительный риск ИБС возрастал на 80% [60]. К ограничениям проведенного анализа необходимо отнести невозможность оценить, насколько уровень фибриногена является независимым ФР ИБС и других сердечно-сосудистых исходов или исходов, не связанных с ССЗ. Согласно данным другого метаанализа, у здоровых лиц среднего возраста существует взаимосвязь между уровнем фибриногена в плазме крови и риском ИБС, инсульта, сердечно-сосудистой смерти, а также смерти не от ССЗ. Были обнаружены значимые ассоциации повышенного уровня фибриногена с утолщением интимы артерий и субклиническими проявлениями их атеросклеротического поражения; показано, что повышенный уровень фибриногена независимо от других факторов прогнозирует риск развития артериальной гипертензии и ишемического инсульта [61].

Подводя итог, необходимо отметить, что, согласно рекомендациям FDA, на данный момент фибриноген в повышенной концентрации используется как ФР смерти в результате ХОБЛ и других воспалительных заболеваний; его свойства как кардиоспецифического маркера, с течением времени и накопления данных, отошли на второй план.

Перспективные кардиоспецифические биомаркеры

Циркулирующие суммарные нитрат и нитрит ионы (NOx) — ФР сердечно-сосудистой смерти

Оксид азота (NO) — самый мощный вазорелаксант, вырабатываемый эндотелиальными клетками [62]. Нарушение его продукции и/или биодоступности является одной из главных причин эндотелиальной дисфункции. В силу высокой реакционной способности, измерение NO не применяется в лабораторных исследованиях. В случае крупных исследований прибегают к измерению стабильных

метаболитов NO, которыми являются циркулирующие NOx [63, 64]. Пул циркулирующих NOx пополняется эндогенно за счет синтеза семейством NO-синтаз и экзогенно с продуктами питания.

Было проведено первое в мире крупное проспективное исследование прогностических свойств циркулирующих NOx на выборке из московской популяции, (возраст 55+, 49% мужчин), с достаточной статистической мощностью анализа. Установлено, что высокая концентрация NOx >75 мкМ — независимый ФР сердечно-сосудистой смерти в течение 3-летнего периода наблюдения [65], ФР сердечно-сосудистой смерти в течение 8-летнего периода наблюдения у мужчин, и за этот же период — не связанный с полом ФР смерти от всех причин [66]. Полученные результаты согласуются с опубликованными позднее данными Фремингемского исследования [67], собственными данными авторов [68] и данными японских исследователей [69]. Кроме того, было обнаружено, что высокий уровень NOx ассоциирован с большим количеством хронических неинфекционных заболеваний, за исключением онкологических [70]. Таким образом, циркулирующий NOx в высокой концентрации (>70,0 мкМ) является независимым ФР сердечно-сосудистой смерти в краткосрочном периоде.

Комбинированные маркеры коронарного стеноза

Изучение клинического значения циркулирующих биомаркеров в диагностике и прогнозировании течения ССЗ показало, что недостаточную прогностическую мощность индивидуальных биомаркеров можно усилить интеграцией нескольких показателей и формированием комбинированных (комплексных) маркеров [12]. Тестирование такого мультимаркерного подхода показало его перспективность [71-73].

Среди всех одобренных FDA кардиоспецифических биомаркеров показателей, специфичных в отношении прогноза стеноза коронарных артерий, пока нет. В попытке восполнить этот пробел было проведено обследование когорты пациентов (n=500, мужчин 71%; средний возраст 61,2±9,4 лет), которым в диагностических целях были выполнены коронароангиография и дуплексное сканирование сонных артерий [74] и проведен анализ широкого спектра биохимических показателей крови.

Было показано, что комбинация таких показателей, как инсулин (одобрен FDA) и лептин (не имеет одобрения FDA) в виде отношения Лептин/Инсулин позволяет детектировать стеноз коронарных артерий у женщин. Так, при величине Лептин/Инсулин ≤4,4 вероятность его наличия почти в 5 раз выше (отношение шансов — 4,78; 95% доверительный интервал: 2,0-11,41; p=0,0004) по сравнению с теми, у кого эта величина >4,4; точность диагностики составила 69% чувствительность 69,47%; специфичность 64,52% [75, 76]. У мужчин значимой

в детекции стеноза коронарных артерий оказалась комбинация показателей адипонектин и эндотелин-1 (оба не имеют одобрения FDA) в виде их соотношения; при значении Адипонектин/Эндотелин-1 ≤7,0 вероятность наличия стеноза в ~4 раза выше (отношение шансов — 3,8, 95% доверительный интервал: 1,6-9,07; p=0,0018), чем у мужчин с величиной этого маркера >7,0. Диагностическая точность теста составила 72% при чувствительности 62,5% и специфичности 70%. Диагностика актуальна на фоне приема стандартной гипотензивной лекарственной терапии. Итогом исследования явился вывод о том, что с помощью комбинированных маркеров, Адипонектин/Эндотелин-1 и Лептин/Инсулин, можно стратифицировать соответственно мужчин и женщин на группы без стеноза/со стенозом коронарных артерий [75].

На этой же когорте пациентов были оценены диагностические возможности единой комбинации биомаркеров, названной авторами интегрированным биомаркером, или i-BIO, в которую вошли такие медико-биологические показатели как пол, толщина комплекса интима-медиа, наличие и количество атеросклеротических бляшек, степень стеноза коронарных артерий, одобренные FDA — уровень ТГ, глюкозы, вчСРБ, фибриногена и адипонектина [77]. Расчет индивидуальных значений i-BIO и анализ полученных данных показали, что значение i-BIO >4 баллов с чувствительностью 87,9% позволяет выявлять пациентов с наличием коронарного атеросклероза любой степени, а при величине i-BIO ≥9 баллов со специфичностью 79,8% позволяет исключить пациентов, не имеющих выраженного поражения коронарных артерий. При этом вероятность наличия коронарного атеросклероза среди пациентов с i-BIO >4 баллов в 7,3 раза выше по сравнению с лицами, имеющими i-BIO ≤4 баллов, тогда как вероятность наличия выраженного атеросклероза при значении i-BIO ≥9 баллов в 3,1 раза выше, чем у пациентов с i-BIO <9 баллов [77].

Таким образом, комбинированные биомаркеры объединяют несколько отдельных биомаркеров, которые в заявленном алгоритме служат достижению единого интерпретирующего вывода. С помощью предложенных комбинированных маркеров можно до проведения инвазивной коронарографии стратифицировать пациентов по вероятности наличия коронарного атеросклероза и его выраженности. Установленные взаимосвязи требуют подтверждения в дополнительных исследованиях.

Заключение

В представленной первой части обзора суммированы определения и классификация биомаркеров, методы их валидации. Рассмотрены маркеры атеросклероза, валидированные FDA, что, как пра-

вило, часто служит необходимым и достаточным дополнением диагностики заболевания, оценки его тяжести, выбора адекватной терапии и мониторинга ее безопасности и эффективности, а также важным средством прогнозирования течения и исходов заболевания. Представлена эволюция диагностической ценности кардиоспецифических биомаркеров и новые биомаркеры — результат соб-

ственных исследований авторов. Во второй части обзора будут рассмотрены кардиоспецифические, валидированные FDA, биомаркеры сердечной недостаточности, ишемии, фиброза и некроза миокарда.

Отношения и деятельность: авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

1. Vasan RS. Biomarkers of Cardiovascular Disease. Molecular Basis and Practical Considerations. *Circulation*. 2006;113(19):2335-62. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.482570.
2. Anichkov DA, Shostak NA. New markers for cardiovascular risk: from studies to clinical guidelines. *The Clinician*. 2014;8(1):4-8. (In Russ.) Аничков Д.А., Шостак Н.А. Новые маркеры сердечно-сосудистого риска: от исследований к клиническим рекомендациям. *Клиницист*. 2014;8(1):4-8. doi:10.17650/1818-8338-2014-1-4-8.
3. Gumanova NG. Analytical complex of biochemical markers for preclinical diagnosis and prevention of cardiovascular diseases. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2019;18(5):117-27. (In Russ.) Гуманова Н.Г. Аналитический комплекс биохимических маркеров для доклинической диагностики и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2019;18(5):117-27. doi:10.15829/1728-8800-2019-5-117-127.
4. Don ES, Tarasov AV, Epshtein OI, Tarasov SA. The biomarkers in medicine: search, choice, study and validation. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2017;62(1):52-9. (In Russ.) Дон Е.С., Тарасов А.В., Эпштейн О.И., Тарасов С.А. Биомаркеры в медицине: поиск, выбор, изучение и валидация. *Клин лабор диагн*. 2017;62(1):52-9. doi:10.18821/0869-2084-2017-62-1-52-59.
5. Magruk MA, Mosikyan AA, Babenko AY. Biomarkers associated with atherogenesis: current status and promising areas. *Russian Journal of Cardiology*. 2019;24(12):148-52. (In Russ.) Маррук М.А., Мосикян А., Бабенко А.Ю. Биомаркеры, ассоциированные с атерогенезом: актуальный статус и перспективные направления. *Российский кардиологический журнал*. 2019;24(12):148-52. doi:10.15829/1560-4071-2019-12-148-152.
6. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate end points: preferred definitions and conceptual frame work. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69:89-95. doi:10.1067/mcp.2001.113989.
7. Biomarkers, EndpointS, and other Tools (BEST) Resource. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791>.
8. CDER Biomarker Qualification Program. <https://www.fda.gov/drugs/drug-development-tool-ddt-qualification-programs/cder-biomarker-qualification-program>.
9. Heinonen TM, Aamer M, Marshall C, et al. Cardiovascular biomarkers and surrogate end points: key initiatives and clinical trial challenges. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2012;10(8):989-94. doi:10.1586/erc.12.84.
10. Hlatky MA, Greenland P, Arnett DK, et al. Criteria for evaluation of novel markers of cardiovascular risk. A Scientific Statement from the AHA. *Circulation*. 2009;119:2408-16. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192278.
11. Wang TJ. Assessing the Role of Circulating, Genetic, and Imaging Biomarkers in Cardiovascular Risk Prediction. *Circulation*. 2011;123:551-65. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.912568.
12. Pencina MJ, D'Agostino RB, D'Agostino RB Jr, et al. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. *Stat Med*. 2008;27(2):157-72. doi:10.1002/sim.2929.
13. Cook NR. Use and Misuse of the Receiver Operating Characteristic Curve in Risk Prediction. *Circulation*. 2007;115:928-35. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.672402.
14. Liu J, Hong Y, D'Agostino RB Sr, et al. Predictive value for the Chinese population of the Framingham CHD risk assessment tool compared with the Chinese Multi-provincial Cohort Study. *JAMA*. 2004;291:2591-9. doi:10.1001/jama.291.21.2591.
15. Moons KG, de Groot JA, Linnet K, et al. Quantifying the added value of a diagnostic test or marker. *Clin Chem*. 2012;58:1408-17. doi:10.1373/clinchem.2012.182550.
16. Niiranen TJ, Vasan RS. Epidemiology of cardiovascular disease: recent novel outlooks on risk factors and clinical approaches. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2016;14(7):855-69. doi:10.1080/14779072.2016.1176528.
17. Danese E, Montagnana M. An historical approach to the diagnostic biomarkers of acute coronary syndrome. *Transl Med*. 2016;4(10):194. doi:10.21037/atm.2016.05.19.
18. Penttilä I, Penttilä K, Rantanen T. Laboratory diagnosis of patients with acute chest pain. *Clin Chem Lab Med*. 2000;38:187-97. doi:10.1515/CCLM.2000.027.
19. Jialal I, Sokoll LJ. Am J Clin Pathol. Clinical Utility of Lactate Dehydrogenase in Determining the Severity of Hemolysis in Sickle Cell Anemia. 2015;143(2):158-9. doi:10.1309/AJCTP0FC8QFYDFA.
20. Lewandrowski KB. Cardiac markers of myocardial necrosis: a history and discussion of milestones and emerging new trends. *Clin Lab Med*. 2014;34(1):31-41. doi:10.1016/j.cll.2013.11.001.
21. Pöyhönen P, Kylmälä M, Vesterinen P, et al. Peak CK-MB has a strong association with chronic scar size and wall motion abnormalities after revascularized non-transmural myocardial infarction — a prospective CMR study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2018;8:18(1):27. doi:10.1186/s12872-018-0767-7.
22. Hendgen-Cotta U, Kelm M, Rassaf T. Myoglobin functions in the heart. *Free Radic Biol Med*. 2014;73:252-9. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2014.05.005.
23. Arnett D, Blumenthal R, Albert M, et al. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: Executive Summary A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2019;140:e563-e595. doi:10.1161/CIR.0000000000000677.
24. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomized trials. *Lancet*. 2010;376:1670-81. doi:10.1016/S0140-6736(10)61350-5.
25. Holmes MV, Asselbergs FW, Palmer TM, et al. Mendelian randomization of blood lipids for coronary heart disease. *Eur Heart J*. 2015;36(9):539-50. doi:10.1093/eurheartj/ehu571.

26. Frikke-Schmidt R. HDL cholesterol and apolipoprotein A-I concentrations and risk of atherosclerotic cardiovascular disease: Human genetics to unravel causality. *Atherosclerosis*. 2020;299:53-5. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2020.02.002.
27. Nordestgaard BG, Varbo A. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet*. 2014;384:626-35. doi:10.1016/S0140-6736(14)61177-6.
28. Anderson NL. The clinical plasma proteome: a survey of clinical assays for proteins in plasma and serum. *Clin Chem*. 2010;56(2):177-85. doi:10.1373/clinchem.2009.126706.
29. The Emerging Risk Factors Collaboration. Major lipids, apolipoproteins and risk of vascular disease. *JAMA*. 2009;302(18):1993-2000. doi:10.1001/jama.2009.1619.
30. Eckel RH, Cornier M. Update on the NCEP ATP-III emerging cardiometabolic risk factors. *BMC Med*. 2014;12:115. doi:10.1186/1741-7015-12-115.
31. Di Angelantonio E, Gao P, Pennells L, et al. Lipid-related markers and cardiovascular disease prediction. *JAMA*. 2012;307:2499-506. doi:10.1001/jama.2012.6571.
32. Ezhov M V, Sergienko I V, Aronov DM, et al. Diagnostics and correction of lipid metabolism disorders in order to prevent and treat atherosclerosis. Russian recommendations VI revision. *Atherosclerosis and Dyslipidemias*. 2017;3:5-22. (In Russ.) Ежов М.В., Сергиенко И.В., Аронов Д.М. и др. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Российские рекомендации VI пересмотр. Атеросклероз и дислипидемии. 2017;3:5-22. doi:10.15829/1560-4071-2019-9-44-51.
33. Mach F, Baigent C, Catapano AL, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias: Lipid Modification to Reduce Cardiovascular Risk. *Eur Heart J*. 2020;41(1):111-88. doi:10.1093/eurheartj/ehz455.
34. Boffa MB, Marcovina SM, Koschinsky ML. Lipoprotein(a) as a risk factor for atherosclerosis and thrombosis: mechanistic insights from animal models. *Clin Biochem*. 2004;37(5):333-43. doi:10.1016/j.clinbiochem.2003.12.007.
35. Stefanutti C, Morozzi C. HyperLp(a) lipoproteinaemia: unmet need of diagnosis and treatment? *Blood Transfus*. 2016;14:408-12. doi:10.2450/2016.0027-16.
36. Bennet A, Di Angelantonio E, Erqou S, et al. Lipoprotein(a) levels and risk of future coronary heart disease: large-scale prospective data. *Arch Intern Med*. 2008;168(6):598-608. doi:10.1001/archinte.168.6.598.
37. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, et al. EAS Consensus Panel. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J*. 2010;31:2844-53. doi:10.1093/eurheartj/ehq386.
38. Erqou S, Kaptoge S, Perry PL, et al. Lipoprotein(a) Concentration and the Risk of Coronary Heart Disease, Stroke, and Nonvascular Mortality. *JAMA*. 2009;302(4):412-23. doi:10.1001/jama.2009.1063.
39. Tsimikas S, Stroes ES. The dedicated "Lp(a) clinic": a concept whose time has arrived? *Atherosclerosis*. 2020;300:1-9. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2020.03.003.
40. O'Riordan M. FDA Approves Lp-PLA2 Test for Patients without Existing Coronary Disease. <https://www.medscape.com/viewarticle/836640>.
41. Stefano A, Liliana M, Federica T, et al. Lp-PLA2, a new biomarker of vascular disorders in metabolic diseases *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2019;33:2058738419827154. doi:10.1177/2058738419827154.
42. Stafforini DM. Plasma PAF-AH (PLA2G7): Biochemical properties, association with LDLs and HDLs, and regulation of expression. *The Enzymes*. 2015;38:71-93. doi:10.1016/bs.enz.2015.09.004.
43. Thompson A, Gao P, Orfei L, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies. *Lancet*. 2010;375(9725):1536-44. doi:10.1016/S0140-6736(10)60319-4.
44. Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med*. 2000;19:343(16):1148-55. doi:10.1056/NEJM200010193431603.
45. Li D, Zhao L, Yu J, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 in coronary heart disease: Review and meta-analysis *Clin Chim Acta*. 2017;465:22-9. doi:10.1016/j.cca.2016.12.006.
46. Wallentin L, Held C, Armstrong PW, et al. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Activity Is a Marker of Risk But Not a Useful Target for Treatment in Patients With Stable Coronary Heart Disease. *J Am Heart Assoc*. 2016;5(6):e003407. doi:10.1161/JAHA.116.003407.
47. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, et al. Emerging Risk Factors Collaboration C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet*. 2010;375(9709):132-40. doi:10.1016/S0140-6736(09)61717-7.
48. Rudolf J, Lewandowski KB. Cholesterol, lipoproteins, high-sensitivity C-reactive protein, and other risk factors for atherosclerosis *Clin Lab Med*. 2014;34:113-27. doi:10.1016/j.cll.2013.11.003.
49. Review Criteria for Assessment of C Reactive Protein (CRP), High Sensitivity C-Reactive Protein (hsCRP) and Cardiac C-Reactive Protein (cCRP) Assay. 2005. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/review-criteria-assessment-c-reactive-protein-crp-high-sensitivity-c-reactive-protein-hscrep-and-0>.
50. Rifai N, Ballantyne C, Cushman M, et al. Point: High-Sensitivity C-Reactive Protein and Cardiac C-Reactive Protein Assays: Is There a Need to Differentiate? *Clinical Chemistry*. 2006;52(7):1254-6. doi:10.1373/clinchem.2006.070904.
51. Yousuf O, Mohanty BD, Martin SS, et al. High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:397-408. doi:10.1016/j.jacc.2013.05.016.
52. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, 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*. 2003;28;107(3):499-511. doi:10.1161/01.cir.0000052939.59093.45.
53. Lowe G, Rumley A, Mackie J. Plasma fibrinogen. *Ann Clin Biochem*. 2004;41(6):430-40. doi:10.1258/0004563042466884.
54. Forsyth CB, Solovjov DA, Ugarova TP, Plow EF. Integrin α M β 2-Mediated Cell Migration to Fibrinogen and Its Recognition Peptides. *J Exp Med*. 2001;193(10):1123-34. doi:10.1084/jem.193.10.1123.
55. Tousoulis D, Papageorgio N. Fibrinogen and cardiovascular disease: Genetics and biomarkers. *Blood Rev*. 2011;25(6) 239-45. doi:10.1016/j.blre.2011.05.001.
56. Rizzo M, Corrado E, Coppola G, et al. Markers of inflammation are strong predictors of subclinical and clinical atherosclerosis in women with hypertension. *Coron Artery Dis*. 2009;20:15-20. doi:10.1097/MCA.0b013e3283109065.
57. Danesh J, Lewington S, Thompson SG, et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA*. 2005;294:1799-809. doi:10.1001/jama.294.14.1799.
58. Rønnow SR, Sand JMB, Langholm LL. Type IV collagen turnover is predictive of mortality in COPD: a comparison to fibrinogen

- in a prospective analysis of the ECLIPSE cohort. *Respir Res.* 2019;20:63. doi:10.1186/s12931-019-1026-x.
59. Miller BE, Tal-Singer R, Rennard SI, et al. Plasma Fibrinogen Qualification as a Drug Development Tool in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Perspective of the Chronic Obstructive Pulmonary Disease Biomarker Qualification Consortium. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016;193(6):607-13. doi:10.1164/rccm.201509-1722PP.
 60. Danesh J, Collins R, Appleby P, et al. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA.* 1998;279:1477-82. doi:10.1155/2020/8743548.
 61. Ernst E, Resch KL. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a meta-analysis and review of the literature. *Ann Intern Med.* 1993;118:956-63. doi:10.7326/0003-4819-118-12-199306150-00008.
 62. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991;43:109-42.
 63. Metelskaya VA, Gumanova NG. Screening-method for nitric oxide metabolites determination in human serum. *Clin Lab Diagn.* 2005;6:15-18. (In Russ.) Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови человека. *Клин лаб диагн.* 2005;6:15-8.
 64. Gumanova NG, Klimushina MV, Metelskaya VA. Optimization of Single-Step Assay for Circulating Nitrite and Nitrate Ions (NOx) as Risk Factors of Cardiovascular Mortality. *VA. Bull Exp Biol Med.* 2018;165(2):284-7. (In Russ.) Гуманова Н.Г., Климушина М.В., Метельская В.А. Оптимизация метода одноэтапного определения циркулирующих нитрит- и нитрат-ионов (NOx) как фактора риска сердечно-сосудистой смерти. *Бюлл Эксперим Биол Мед.* 2018;165(2):284-7. doi:10.1007/s10517-018-4149-z.
 65. Gumanova NG, Deev AD, Zhang W, et al. Serum nitrite and nitrate levels, NOx, can predict cardiovascular mortality in the elderly in a 3-year follow-up study. *Biofactors.* 2017;2;43(1):82-9. doi:10.1002/biof.1321.
 66. Gumanova NG, Deev AD, Kots AY, et al. Elevated levels of serum nitrite and nitrate, NOx, are associated with increased total and cardiovascular mortality in an 8-year follow-up study. *Eur J Clin Invest.* 2019;49(3):e13061. doi:10.1111/eci.13061.
 67. Maas R, Xanthakis V, Göen T, et al. Plasma Nitrate and Incidence of Cardiovascular Disease and All-Cause Mortality in the Community: The Framingham Offspring Study. *J Am Heart Assoc.* 2017;18:6(11):e006224. doi:10.1161/JAHA.117.004222.
 68. Gumanova NG, Klimushina MV, Smetnev SA, et al. Levels of nitric oxide metabolites, adiponectin and endothelin are associated with SNPs of the adiponectin and endothelin genes. *Biomed Rep.* 2019;11(4):154-64. doi:10.3892/br.2019.1238.
 69. Hayashi T, Nomura H, Osawa M, et al. Nitric oxide metabolites are associated with survival in older patients. *J Am Geriatr Soc.* 2007;55(9):1398-403. doi:10.1111/j.1532-5415.2007.01296.x.
 70. Gumanova NG, Deev AD, Klimushina MV, et al. Serum nitrate and nitrite are associated with the prevalence of various chronic diseases except cancer. *Int Angiol.* 2017;36(2):160-6. doi:10.23736/S0392-9590.16.03674-9.
 71. Zethelius B, Berglund L, Sundstrom J, et al. Use of multiple biomarkers to improve the prediction of death from cardiovascular causes. *N Engl J Med.* 2008;358:2107-16. doi:10.1056/NEJMoa0707064.
 72. Koenig W. Integrating biomarkers: the new frontier? *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2010;242:117-23. doi:10.3109/00365513.2010.493427.
 73. Wang TJ. Multiple biomarkers for predicting cardiovascular events: lessons learned. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55:2092-5. doi:10.1016/j.jacc.2010.02.019.
 74. GavriloVA NE, Metelskaya VA, Perova NV, et al. Selection for the quantitative evaluation method of coronary arteries based upon comparative analysis of angiographic scales. *Russian Journal of Cardiology.* 2014;6:24-9. (In Russ.) Гаврилова Н.Е., Метельская В.А., Перова Н.В. и др. Выбор метода количественной оценки поражения коронарных артерий на основе сравнительного анализа ангиографических шкал. *Российский кардиологический журнал.* 2014;6:24-9. doi:10.15829/1560-4071-2014-6-24-29.
 75. Gumanova NG, GavriloVA NE, Chernushevich OI, et al. Ratios of leptin to insulin and adiponectin to endothelin are sex-dependently associated with extent of coronary atherosclerosis. *Biomarkers.* 2017;22(3-4):239-45. doi:10.1080/1354750X.2016.1201539.
 76. Gumanova NG, Klimushina MV, GavriloVA NE, Metelskaya VA. Combined markers of initial stages of coronary atherosclerosis. *Biomeditsinskaya khimiya.* 2017;63;3:272-7. (In Russ.) Гуманова Н.Г., Климушина М.В., Гаврилова Н.Е., Метельская В.А. Комбинированные маркеры начальной стадии атеросклероза коронарных артерий. *Биомедицинская химия.* 2017;63(3):272-7. doi:10.18097/PBMC20176303272.
 77. Metelskaya VA. Multimarker diagnostic panels for atherosclerosis. *Russian Journal of Cardiology.* 2018;8:65-73. (In Russ.) Метельская В.А. Атеросклероз: мультимаркерные диагностические панели. *Российский кардиологический журнал.* 2018;8:65-73. doi:10.15829/1560-4071-2018-8-65-73.