

Аналитический комплекс биохимических маркеров для доклинической диагностики и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний

Гуманова Н. Г.

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

Благодаря достижениям мировой научной мысли, клиническо-диагностические лаборатории, и диагностические центры, получили в распоряжение возможность анализа огромного количества биохимических маркеров различной природы, и их арсенал год от года пополняется. В предлагаемой статье рассматривается комплекс валидных биомаркеров, объединенных с целью биомедицинской доклинической диагностики и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. В качестве обоснования выбора именно этих биохимических маркеров приведены триггерные процессы, лежащие в основе развития сердечно-сосудистой патологии, с которыми ассоциированы избранные биохимические маркеры. Диагностический комплекс составлен на основе принципа “необходимого и достаточного”, с учетом финансовой целесообразности, и возможности измерения избранных маркеров в широкой сети клиническо-диагностических центров или лабораторий. Обзор предназначен в помощь клиницистам с целью более детального понимания

начальных, доклинических, стадий сердечно-сосудистых заболеваний, как самой распространенной причине смертности населения в России, а также для широкой аудитории, обучающейся или специализирующейся в области кардиологии.

Ключевые слова: биохимические маркеры, сердечно-сосудистые заболевания, диагностические тесты, валидация, доклиническая диагностика.

Конфликт интересов: не заявлен.

Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2019;18(5):117–127
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2019-5-117-127>



Поступила 22/05-2019

Получена рецензия 10/06-2019

Принята к публикации 17/06-2019



Analytical complex of biochemical markers for preclinical diagnosis and prevention of cardiovascular diseases

Gumanova N. G.

National Medical Research Center for Preventive Medicine. Moscow, Russia

Due to the achievements of world scientific thought, clinical diagnostic laboratories and diagnostic centers have been given the opportunity to analyze a huge number of biochemical markers of various nature, and their arsenal is replenished from year to year. This article discusses a complex of valid biomarkers, combined for the purpose of biomedical preclinical diagnosis and prevention of cardiovascular diseases. As a justification for the choice of these biochemical markers, we gave trigger processes that underlie the development of cardiovascular pathology, with which selected biochemical markers are associated. The diagnostic complex is based on the “necessity and sufficiency” principle, taking into account financial feasibility, and the ability to measure selected markers in a wide network of clinical diagnostic centers or laboratories. The review is intended to help clinicians with a view to a more detailed understanding of the initial, preclinical stages of cardiovascular

diseases, as the most common cause of mortality in Russia, as well as for a wide audience studying or specializing in cardiology.

Key words: biochemical markers, cardiovascular diseases, diagnostic tests, validation, preclinical diagnosis.

Conflicts of Interest: nothing to declare.

Gumanova N. G. ORCID: 0000-0002-6108-3538.

Cardiovascular Therapy and Prevention. 2019;18(5):117–127
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2019-5-117-127>

Received: 22/05-2019 **Revision Received:** 10/06-2019 **Accepted:** 17/06-2019

АГ — артериальная гипертензия, АД — артериальное давление, АФК — активные формы кислорода, ГЛЮТ — белки-транспортёры глюкозы, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ИР — инсулинрезистентность, ЛВП — липопротеины высокой плотности, ЛНП — липопротеины низкой плотности, МС — метаболический синдром, ОС — окислительный стресс, СД-2 — сахарный диабет 2 типа, СРБ — С-реактивный белок, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ТГ — триглицериды, ФР — факторы риска, ХС — холестерин, EBV — вирус Эпштейна-Барр, FDA — Food and Drug Administration, *H. Pylori* — *Helicobacter pylori*, HOMA-IR — индекс инсулинорезистентности, HSV-2 — простой вирус герпеса типа 2, IL-6 — интерлейкин-6, PAI-1 — ингибитор тканевого активатора плазминогена, TNF-α — фактор некроза опухоли альфа.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

Тел.: +7 (905) 771-18-36, (499) 553-68-51

e-mail: gumanova@mail.ru

[Гуманова Н. Г. — к. б. н., в. н. с. отдела изучения биохимических маркеров хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0002-6108-3538].

Введение

Биохимический маркер в широком смысле — это вещество, связанное с функционированием какого-либо метаболического или регуляторного узла. Понятие “биомаркер” было уточнено в 2001г Национальным Институтом Здоровья США, как характеристика, которую можно объективно измерить, и которая может служить в качестве индикатора физиологических и патологических биологических процессов или контроля терапевтического вмешательства [1].

Процесс валидации биохимического маркера можно представить по модели, предложенной в 2005г, выстроенной по аналогии с моделью внедрения новых лекарственных препаратов [2]. Эта модель включает в себя несколько фаз клинических испытаний, целью которых является:

- определение референсного интервала,
- демонстрация количественной взаимосвязи фактора с заболеванием и взаимосвязи фактора и заболевания на пациентах с подозрением на это заболевание,
- оценка клинической целесообразности использованного лабораторного теста,
- оценка прогностических свойств этого диагностического теста.

Фактор риска (ФР) — статистически доказанная величина, рассчитываемая при проведении проспективных клинических испытаний с периодом наблюдения, достаточным для получения количества конечных точек, достаточного для обеспечения необходимой статистической мощности исследования. Из огромного количества новых биохимических маркеров до валидации доходят единицы. В США валидацией биомаркеров в качестве диагностических тестов занимается FDA (Food and Drug Administration). В России аналогичная функция пока не отрегулирована. По данным FDA, всего из 314 маркеров белковой природы, представленных на одобрение в качестве диагностических тестов за период с 1977г по настоящее время, FDA одобрила 109, по которым доказательная база была сочтена достаточной для валидации [3]. Остальные 205 широко изучаемы белковых параметров были отклонены FDA в связи с противоречивыми результатами клинических испытаний. Интересно, что из всех белковых маркеров, представленных на одобрение FDA, ~80% были представлены до 1993г, остальные 20% — за последние 15-20 лет. Это демонстрирует, что скорость представления новых тестов к валидации за последние 15-20 лет снизилась почти в 6 раз, и составила ~1-1,5 в год, в то время как за 1977-1993гг средняя скорость представления новых тестов к валидации составляла ~5,8 тестов в год [3]. Возможно, это связано с тем, что, благодаря росту аналитических возможностей, ежегодно открывается все большее количество новых биохимических маркеров.

При этом на валидацию новых биохимических маркеров не хватает ресурсов, поскольку клинические испытания биомаркера в качестве диагностического теста требует существенных материальных вложений.

Чтобы определить комплекс биохимических маркеров для оценки риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), необходимо выделить начальные, триггерные состояния, лежащие в основе развития сердечно-сосудистой патологии.

Пусковые механизмы развития ССЗ

Пусковые механизмы ССЗ представлены на схеме (рисунке 1). К ним относятся окислительный стресс (ОС), эндотелиальная дисфункция, дислипидемия, инсулинрезистентность (ИР) и нарушения гемостаза.

Окислительный стресс

ОС характеризуется дисбалансом между продукцией высокореакционноспособных кислородсодержащих соединений или активных форм кислорода (АФК) и способностью организма обезвреживать эти соединения, восполняя нанесенный ими ущерб [4]. К АФК относят свободные радикалы, высокореакционноспособные ионы, которые, реагируя с различными биологически активными соединениями, в т.ч. с ферментами, окисляют их, изменяя таким образом их функции. ОС проявляется в повышенном синтезе супероксид-иона, нитрозил-иона, нитрат-иона, оксида азота и др. и является пусковым механизмом в патогенезе многих хронических неинфекционных заболеваний [4]. В результате ОС и взаимодействия с различными АФК повышается продукция окисленных липопротеинов низкой и высокой плотности (ЛНП, ЛВП) [5], возникают поломки дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), происходит окисление регуляторных, ферментативных систем и структурных белков. В результате нарушается функционирование биологических систем, что стимулирует атерогенез [6]. Многие хронические заболевания сопряжены с воспалением, которое может не иметь клинических проявлений и не быть выявленным рутинным анализом крови, но при этом служить иницирующим и сопровождающим фактором заболевания. Воспаление — ключевой триггер атеросклероза на всех этапах его развития [6]. Повышенный уровень окисленных ЛНП характерен для пациентов с острым коронарным синдромом и сопряжен с эндотелиальной дисфункцией. ОС сопутствует также развитию онкологических заболеваний, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, сердечной недостаточности, инфаркта миокарда, Х-синдрома, витилиго и многих других заболеваний. Было показано, что метаболическим синдромом (МС), состоянием, суммирующее риски ССЗ, ассоциировано с повышенным уровнем супероксид-иона, нитрозил-иона, окисленных ЛНП. Повы-

шенный уровень окисленных ЛНП в сосудистой стенке и в циркулирующей крови являлся ФР сердечно-сосудистых осложнений [5].

С-реактивный белок (СРБ) — валидный биохимический маркер воспаления

СРБ — белок плазмы крови, выполняющий защитную функцию, относится к группе белков острой фазы, концентрация которых повышается при воспалении. Молекулярная масса мономера 25 кДа. Белки этого семейства пентраксинов состоят из пяти субъединиц. СРБ был открыт Tillet и Francis в 1930г в плазме пациентов, больных пневмонией, и так назван из-за своей способности связывать и осаждать С-полисахарид пневмококков [7]. В основном, плазменный уровень СРБ определяется экспрессией этого белка в печени. Цитокины — интерлейкин-6 (IL-6), в меньшей степени — IL-1 β , и фактор некроза опухоли альфа (TNF- α) активируют синтез СРБ на уровне транскрипции [7]. Одна из функций СРБ состоит в связывании вредных компонентов, нуклеопротеинов, бактериальных токсинов, модифицированных липопротеинов. Во время воспаления, уровень СРБ в плазме может повыситься за 24-72 ч в 1 тыс. раз, по сравнению с нормальными значениями, которые у здоровых лиц могут быть ниже уровня детекции [7]. Базальный уровень СРБ, измеренного высокочувствительным методом, может служить ФР ССЗ [8, 9]. Согласно современным данным, СРБ в низких концентрациях рассматривают не только как маркер острой фазы воспаления, когда его значения в сыворотке значительно повышены, но и как прогностический фактор развития ССЗ, когда его концентрация >3 мг/мл [9]. Во всех масштабных исследованиях по оценке СРБ как ФР ССЗ повышение сердечно-сосудистых рисков начинается с пограничного значения концентрации СРБ — 1-3 мг/л.

Как указано выше, СРБ ассоциирован с ИР, артериальной гипертензией (АГ), низким уровнем холестерина (ХС) ЛВП, гипертриглицеридемией, а также с уровнем провоспалительных цитокинов — IL-6 и TNF- α [5]. Повышенный индекс массы тела и ИР — практически гаранты хронического воспаления, что подтверждается прочной взаимосвязью между уровнем СРБ, абдоминальным ожирением и ИР [10], где на репрезентативной выборке жителей США — 8570 человек >20 лет, у пациентов с МС, который диагностировали по критериям NCEP-ATP III (National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III), как правило, обнаруживали более высокий уровень маркеров воспаления — СРБ, фибриногена и лейкоцитов [10]. Все эти результаты свидетельствуют о патогенном влиянии ОС и его прочной взаимосвязи с СРБ, а также с начальными патологическими процессами, таким как дисфункция эндотелия и МС. Следует сделать вывод, что во всех масштабных про-



Рис. 1 Пусковые механизмы ССЗ и ассоциированные с ними биохимические маркеры.

спективных исследованиях по оценке СРБ как ФР ССЗ, число которых достигает в настоящее время тридцати одного, повышение сердечно-сосудистых рисков начинается с пограничного значения концентрации СРБ, равной 1 мг/л [11]. Для оценки степени воспаления в лабораторный диагностический комплекс биохимических маркеров включен анализ на СРБ в сыворотке крови.

Вирусы и бактерии — инициаторы ОС и воспаления

Бактерии и вирусы — основные инициаторы воспаления в организме человека. Бактерии — это прокариоты, простые клетки малых размеров, у которых генетический материал не окружен мембраной. Многие бактерии являются патогенными, т.к. паразитируют внутри организма хозяина. Многие бактерии, являющиеся в норме безопасными для человека или даже обычными обитателями его кожи или кишечника, в случае нарушения иммунитета или общего ослабления организма способны обнаруживать патогенные свойства. Вирусы (virus — “яд”) представляют собой неживые надмолекулярные структуры, состоящие из одной молекулы нуклеиновой кислоты и окружающей ее белковой оболочки. Вирусы способны заражать специфические для них клетки, заставляя их воспроизводить вирусные частицы в соответствии с генетической информацией, содержащейся в вирусной ДНК. При внедрении вируса в клетку-хозяина, ДНК, несущая генетическую информацию вируса, подчиняет себе клетку-хозяина, нарушая ее функционирование и переключая клетку с синтеза нормальных клеточных компонентов на производство множества новых дочерних вирусных частиц. В одном случае, вирионы высвобождаются из клетки-хозяина, что приводит к гибели и лизису клетки-хозяина, в другом — вирусный генетический материал внедряется и остается внутри клетки-хозяина, незначительно влияя на ее жизнеспособность, но приводя к существенным изменениям внешнего вида и функций клетки-хозяина. Некоторые вирусы чрезвычайно

патогенны для человека. К ним относят вирусы, вызывающие оспу, полиомиелит, грипп, простудные заболевания, мононуклеоз и опоясывающий лишай. Считают, что причиной рака могут быть вирусы, которые способны находиться в клетке в латентном состоянии.

Открытие патогенных свойств у бактерий и вирусов продолжается, и на сегодняшний день к числу заболеваний вирусной (инфекционной) этиологии относят, в частности, вирусный (инфекционный) миокардит [12].

Повреждение сосудистой стенки, ассоциированное с воспалением, окончательно признано существенной составляющей атерогенеза [6]. Однако причины, вызывающие воспаление, с последующим развитием ССЗ, до конца не идентифицированы. Кандидатом на роль триггера воспалительного процесса и аутоиммунной реакции является инфекция, как источник хронического локального или системного воспаления. В отличие от бактериальной инфекции, вирусная инфекция может присутствовать в организме в латентной фазе, а для вирусов герпеса известны прямые проатерогенные эффекты, связанные с повреждением сосудистых стенок.

Среди всех остальных патогенных микроорганизмов, лидирующие позиции по развитию ССЗ занимают вирус Эпштейна-Барр (EBV), простой вирус герпеса типа 2 (HSV-2) и *Helicobacter pylori* (*H. Pylori*). У пациентов с серопозитивными пробами к антителам против указанных патогенов, риск смерти от сердечно-сосудистых событий возрастал в 2-3 раза, по сравнению с пациентами с отрицательными серологическими пробами. Следует отметить, что повышенный риск фатальных исходов был сопряжен с серопозитивностью к IgG vs HSV-2, и IgA (но не IgG) vs вируса EBV и *H. Pylori*. Предположительно, это может быть связано с тем, что IgA, в отличие от IgG, отражают состояние относительно недавно перенесенного первичного или вторичного инфицирования.

Результаты, крупного проспективного исследования подтверждают гипотезу о том, что количество инфекционных агентов, персистирующих у индивидуума, вносит независимый вклад в долгосрочный прогноз в отношении смерти вследствие сердечно-сосудистой патологии в когорте пациентов с верифицированной коронарной болезнью сердца [13]. В исследование были включены 1018 человек, которых исследовали на наличие антител, IgG и IgA, к 8 патогенам: к вирусу герпеса типа 1 и HSV-2, цитомегаловирусу, вирусу EBV, *H. Pylori*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*. Исследовали концентрацию СРБ в крови этих пациентов. Кардиоваскулярные эпизоды с летальным исходом отслеживали в течение в среднем 3,1 года (максимум 4,3 года). У серопозитивных

пациентов к одному из трех указанных патогенов — вирусу Эпштейна-Барр ($p=0,001$), *H. pylori* ($p=0,002$) и HSV-2 ($p=0,045$) риск смерти от сердечно-сосудистых событий был в 2 раза, а то и в 3 раза выше, по сравнению с пациентами с отрицательными серологическими пробами. Суммирование инфекционной нагрузки значительно повышало риск прогноза. У пациентов, серопозитивных к 4-5 патогенам, риск смерти от сердечно-сосудистых событий повышался в 5 раз. Однако суммарный риск в основном повышался за счет пациентов, серопозитивных к вирусам герпеса ($p=0,0001$). Положительная серологическая проба в отношении бактериальных инфекций обнаруживала прогностические свойства только при повышенном уровне СРБ. Результаты исследования подтверждают: три (*H. pylori*, HSV-2 и EBV) из восьми патогенов идентифицированы как независимые предикторы смерти вследствие сердечно-сосудистой патологии. Антитела класса IgA, так же, как и IgM часто обнаруживаются через несколько недель после заражения, поэтому, в отличие от IgG, могут указывать на недавно перенесенную инфекцию. Положительная серологическая проба на любой из трех указанных патогенов может быть предиктором развития ССЗ и в какой-то мере, указывать на причину их развития. Для справки: IgG — это антитела, составляющие основной класс иммуноглобулинов, находящихся в крови. Они производятся в большом количестве при вторичном иммунном ответе. В отличие от IgG, IgM поступают в кровь на ранних стадиях первичного иммунного ответа. IgM — это первый класс антител, продуцируемых развивающимися В-клетками, хотя многие В-клетки переключаются со временем на выработку антител других классов. IgD находятся на поверхности большинства покоящихся В-клеток. Единственная известная функция этих антител — служить рецептором антигена. IgA — основной класс антител в секреторных жидкостях (молоке, слюне, слезах, секретах дыхательных путей и кишечного тракта). Есть информация, свидетельствующая, что антитела этого класса могут отражать ранние и/или повторные эпизоды инфицирования [14].

Эндотелиальная дисфункция

Эндотелий — однослойный пласт плоских клеток мезенхимного происхождения, выстилающий внутреннюю поверхность кровеносных и лимфатических сосудов, сердечных полостей. Нарушение функционирования эндотелия получило название “эндотелиальная дисфункция” (рисунок 2). Эндотелиальная дисфункция — начальный этап атеросклероза и вызванных им ССЗ, может являться следствием ОС [15]. Эндотелиальная дисфункция (рисунок 2) может иметь клиническое проявление в виде АГ, МС, и может быть сопряжена с воспалением, ожирением, низким уровнем ХС ЛВП, нарушенной

толерантностью к глюкозе, гипертриглицеридемией. Валидного биохимического маркера, характеризующего эндотелиальную дисфункцию, пока не выявлено. СРБ мог бы рассматриваться как маркер эндотелиальной дисфункции, т.к. он вносит вклад в снижении активности эндотелиальной NO-синтазы и негативно влияет на сосудистый тонус [16], активирует ингибитор тканевого активатора плазминогена (PAI-I) в эндотелиальных клетках и снижает уровень PAI-I в тканях [17].

АГ — клиническое проявление эндотелиальной дисфункции и компонент МС

АГ — состояние, обусловленное нарушением регуляции сосудистого тонуса, т.е. эндотелиальной дисфункцией, проявляющееся в устойчивом повышении артериального давления (АД). АГ является основным ФР развития осложнений ССЗ. Было отмечено, что АГ часто встречается не изолированно, а в сочетании с целым рядом одних и тех же сопутствующих нарушений, причем коррекция одного из них влечет нормализацию других сопутствующих нарушений. Поэтому данная совокупность нарушений была объединена под названием “метаболический синдром” (МС), что позволило разработать подходы к коррекции этого состояния. Под МС подразумевают комплексное нарушение нескольких взаимосвязанных метаболических процессов, дисбаланс которых приводит к повышению АД, ИР, т.е. неспособности тканей больного поглощать глюкозу из крови, и ожирению [18]. По данным американских исследователей МС подвержено 24% от всего взрослого населения США, из которых 44% в возрасте ~60 лет [19]. По данным целого ряда масштабных клинических испытаний, в которых оценивали риск ССЗ, МС является ФР развития сахарного диабета 2 типа (СД-2), ССЗ и их осложнения [20]. Помимо того, что МС повышает вероятность заболеваемости и смертности от ССЗ, он может являться ФР и другого заболевания — СД-2. Этот факт был установлен в ходе исследования Native American of the Prima tribe на выборке, в которую были включены 1918 человек — жителей США. По данным шотландского исследования WOSCOPS, при наличии МС, диагностированного по четырем или пяти критериям, риск сердечно-сосудистых событий повышался в 3,7 раз, а риск развития СД-2 в 24,5 раз, по сравнению с участниками без признаков МС [21]. Все эти данные свидетельствуют о том, что выявление МС на ранних этапах способствовало бы снижению рисков развития болезней системы кровообращения, СД-2 и их осложнений, а также повышению качества и продолжительности жизни [22].

СД-2 — ФР развития ССЗ. Инсулин и ИР

СД (Diabetes Mellitus), что означает “избыточное выделение сладкой мочи” — заболевание, обусловленное недостаточностью секреции или

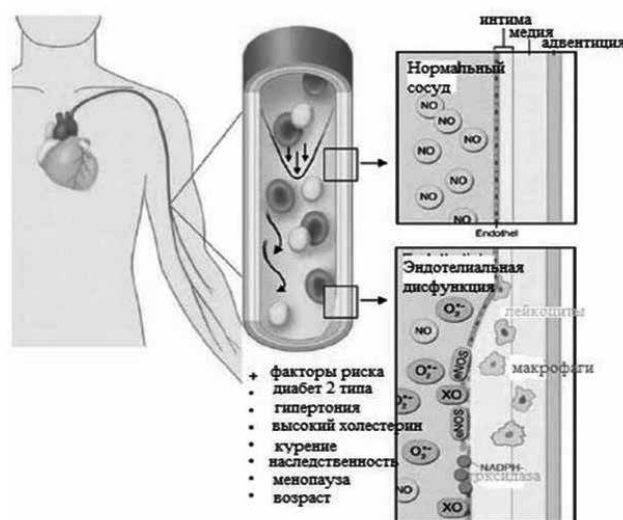


Рис. 2 Эндотелиальная дисфункция и ФР ССЗ.

Примечание: внутренняя выстилка кровеносных сосудов представляет собой монослой эндотелиальных клеток. Здоровые эндотелиальные клетки продуцируют оксид азота (NO), который регулирует целый ряд жизненно важных процессов, среди них: уровень АД, адгезия тромбоцитов к сосудистой стенке, агрегация тромбоцитов, иммунный ответ. При дисфункции эндотелия наблюдается неспособность сосудов воспринимать сигналы от NO либо за счет снижения его синтеза из L-аргинина, либо за счет его инактивации активными формами кислорода (супероксид-ионом ($O_2^{\cdot -}$) и другими кислородсодержащими радикалами (HO)).

эффективности действия инсулина (гормона поджелудочной железы), и приводящее к глубоким нарушениям обмена веществ. Это нарушение регуляции углеводного обмена может быть обусловлено разными причинами, в т.ч. и генетическими [23].

Инсулин (в переводе: островковое вещество) представляет собой небольшой белок с мол. массой 5700 кДа, обладающий свойствами гормона. Инсулин синтезируется бета-клетками поджелудочной железы в виде неактивного предшественника. Скорость секреции инсулина зависит, в первую очередь, от концентрации глюкозы в крови. Повышение концентрации инсулина ускоряет поступление глюкозы из крови в печень и мышцы, где она, в основном, превращается в гликоген. При этом концентрация глюкозы в крови снижается до нормального уровня, что, в свою очередь, приводит к замедлению секреции инсулина до достижения нормы. Таким образом, в норме между скоростью секреции инсулина и концентрацией глюкозы в крови существует хорошо отлаженная обратная связь [24].

ИР (Insulin resistance — IR) — это состояние, при котором клетки теряют способность реагировать на инсулин в силу нарушения рецепции. ИР, в итоге, проявляется в неспособности тканей больного поглощать глюкозу из крови [25]. Инсулин контролирует процесс поглощения глюкозы из крови. Взаимодействуя со своим рецептором, инсулин запускает каскадный механизм, в финале

которого белки-транспортёры глюкозы — ГЛЮТ — встраиваются в клеточную мембрану. Благодаря этим ГЛЮТ, глюкоза получает возможность проникать в клетки [26]. Нарушение регуляции ГЛЮТ-4 приводит к ИР скелетных мышц и жировой ткани. Высокий уровень жирных кислот в крови конфликтует с утилизацией глюкозы в мышцах, что также способствует развитию ИР и, в конечном счете, СД-2 [26]. Современные данные подтверждают, что патологический процесс способен развиваться скрыто при сохранении нормального уровня глюкозы в крови. Очевидна необходимость выявления ИР на начальном этапе, поэтому авторы предлагают включить ИР в диагностический комплекс соответствующие валидные лабораторные тесты — инсулин, глюкоза и индекс ИР (НОМА-IR).

Индекс НОМА-IR — инструмент оценки ИР

В настоящее время для оценки ИР используют математическую “модель оценки гомеостаза”, НОМА-IR, “Homeostasis Model Assessment”, предложенную в 1985г [27]. Эта модель позволяет оценить баланс между глюконеогенезом — синтезом глюкозы в печени, и секрецией инсулина бета-клетками поджелудочной железы натощак. $\text{НОМА-IR} = \frac{\text{Глюкоза (мМ)} \cdot \text{Инсулин (мкЕд/мл)}}{22,5}$ [27]. Математическая модель — индекс НОМА-IR — имеет высокую корреляцию ($r=0,88$) с методом эугликемического гиперинсулинемического клэмп [28], который признан “золотым стандартом” оценки чувствительности тканей к инсулину, но редко применяется в клинической практике. В идеальной модели индекс НОМА-IR должен быть равен 1, что соответствует нормальному гомеостазу глюкозы. При НОМА-IR >1 развивается состояние ИР [29]. Значения индекса НОМА-IR от 0,5 до 1,4 характеризуют нормальную инсулин-чувствительность. По данным НМИЦ профилактической медицины при анализе выборки 1400 человек, мужчин и женщин в возрасте 55-84 лет, подтверждено, что при значении индекса НОМА-IR $>1,9$ и при нормальном уровне глюкозы натощак достоверно большее число пациентов страдало АГ, МС, приступами стенокардии [30]. Пограничное значение НОМА-IR $>2,7$, часто используемое, как референсное, можно считать достаточно устаревшим [31].

Дислипидемия

Липиды — группа молекул естественного происхождения, в которую входят жиры, воск, стеролы, жирорастворимые витамины (А, D, Е и К), моноглицериды, диглицериды, триглицериды (ТГ), фосфолипиды и др. К основным биологическим функциям липидов относят запасание энергии, сигнальную передачу и структурную функцию. В частности, липиды являются структурным компонентом клеточной мембраны. Нарушение липидного обмена, т.е. дислипидемия — фактор риска атеросклероза [32].

Дислипидемия — состояние, характеризующееся количественным дисбалансом липидов в крови [32]. В большинстве развитых стран существенная доля дислипидемий приходится на гиперлипидемию, т.е. повышенное содержания липидов в крови. Часто это связано с образом жизни и рационом питания. Устойчиво повышенный уровень инсулина также может привести к дислипидемии [18]. Одна из разновидностей дислипидемии — гипертриглицеридемия, характеризуется устойчивым повышением уровня ТГ в сыворотке крови натощак, и является одним из критериев диагностики МС [33, 34]. Повышенный уровень ТГ имеет взаимосвязь с развитием атеросклероза даже в отсутствие гиперхолестеринемии [35]. Очень высокий уровень ТГ (>10 мМ) повышает риск острого панкреатита [33, 36]. Дислипидемия обусловлена разными причинами, среди которых лидирующие позиции занимают генетические факторы и ОС [37]. Это нарушение характеризуется дисбалансом уровней ХС и ТГ, транспортируемых циркулирующими липопротеиновыми компартментами (частицами) различной плотности. Тестируемый уровень ХС в этих частицах традиционно объединяют под названием “липидный профиль”, в который входит концентрация общего ХС сыворотки крови, ХС ЛВП, ХС ЛНП и ТГ. ЛВП и ЛНП — частицы, которые транспортируют нерастворимые в водных средах организма ХС, ТГ и др. компоненты из печени к периферическим тканям и обратно. Функции липопротеинов различаются тем, что одни из них (ЛНП) доставляют ХС из мест его синтеза, в основном, из печени, в клетки периферических тканей, а другие (ЛВП) забирают ХС из клеток периферических тканей и переносят его в печень, т.е. осуществляют обратный транспорт ХС [38]. Количественная характеристика ХС, с точки зрения его связи с развитием атеросклероза, основывается на функциональных свойствах липопротеинов, принимающих участие в его транспорте. В целом, транспорт ХС — весьма сложно организованный процесс и регулируется множеством факторов. Апобелки липопротеинов играют в этом процессе ключевую роль. Всестороннее рассмотрение липидного транспорта выходит за рамки представленной работы.

Параметры липидного профиля являются доказанными биохимическими ФР ССЗ [39-41], которые характеризуются скорректированными границами концентраций маркеров липидного профиля: ХС ЛВП $<1,56$ мМ; ХС ЛВП <1 мМ для мужчин, и $<1,2$ мМ для женщин, сопряжена с повышенным риском развития коронарной болезни сердца [40]. Согласно данным Фремингенского исследования при фиксированном уровне ХС ЛНП риск развития ССЗ возрастает в 10 раз при снижении уровня ХС ЛВП. И, наоборот, при фиксированном уровне ХС ЛВП риск ССЗ возрастает в 3 раза при подъеме уровня

ХС ЛНП. Даже при очень низком уровне ХС ЛНП, но при недостаточно высоком уровне ХС ЛВП, риск развития ССЗ повышается. Уровень ХС, как ФР ССЗ, играет существенную роль у лиц в возрастной группе <50 лет [41].

В диагностическую панель включены следующие биохимические параметры “липидного профиля”: ХС, ХС ЛВП, ХС ЛНП и ТГ. Следует отметить, что значение концентрации ХС ЛНП либо рассчитывают по формуле Фридвальда $\text{ХС ЛНП (мМ)} = \text{ХС (мМ)} - (\text{ТГ (мМ)} / 2,2 + \text{ХС ЛВП (мМ)})$, исходя из экспериментально полученных значений ХС, ХС ЛВП и ТГ, либо концентрацию этого параметра измеряют прямым методом. Данная формула имеет ограничения: ею нельзя пользоваться при уровне ТГ >4,5 мМ. В таком случае, целесообразно применять прямой метод определения ХС ЛНП. Отношение “ТГ/2,2” в формуле Фридвальда соответствует концентрации ХС липопротеидов очень низкой плотности.

Гемостаз и фибринолиз

Гемостаз — это системный каскад множества реакций организма, нацеленный на предотвращение существенной кровопотери в результате повреждения кровеносного сосуда, в который вовлечены форменные элементы и белки крови, известные под названием факторов коагуляции. Гемостаз базируется на тонко отрегулированном балансе между факторами коагуляции и антикоагулянтами и процессом коагуляции и системой фибринолиза [42]. Разбалансирование гемостаза с высокой долей вероятности приводит к подъему заболеваемости и смертности вследствие патологий, связанных с нарушением в системе кровообращения [43].

Более 150 лет назад Рудольф Вирхов (Rudolph Virchow) вывел постулат о том, что тромбофилия связана с нарушением трех факторов — системы кровообращения, сосудистой стенки и компонентов крови [44]. Впоследствии этот комплекс нарушений получил название триады Вирхова. Благодаря продолжающимся исследованиям, постулируемые Вирховом нарушения обрели более подробные очертания. В результате нарушений гемостаза патологий, сопутствующих ССЗ. К ним относятся венозная тромбоэмболия, атеротромбоз, т.е. тромбоз, стимулируемый разрывом атеросклеротической бляшки, кардиоэмболический инсульт. Процесс коагуляции, приводящий к образованию тромба, включает комплекс протеазных реакций, в котором задействовано >30 различных белков. В результате каскада этих реакций растворимый фибриноген превращается в нерастворимые нити фибрина, которые, совместно с форменными элементами крови, образуют тромб. Механизм коагуляции описывают две различные модели: согласно первой, более старой модели, процесс коагуляции подразделяют на 2 пути — внешний и внутренний (рису-

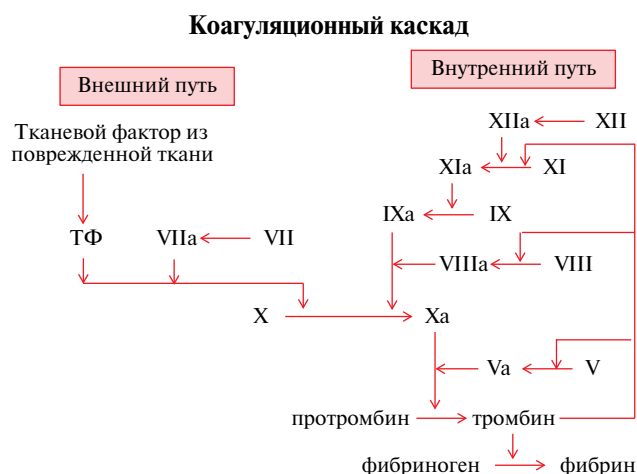


Рис. 3 Механизм гемостаза: внешний и внутренний путь.

Примечание: повреждение кровеносного сосуда является триггером цепи событий, в результате которых происходит а) сокращение мышечной стенки кровеносного сосуда с последующим снижением скорости кровотока, б) адгезия тромбоцитов к сосудистой стенке в участке повреждения, активация и агрегация тромбоцитов, в) запуск серии взаимосвязанных энзиматических реакций с участием каскада коагуляции, г) синтез фибрина из фибриногена, завершающийся образованием стабильного гемостатического тромба.

нок 3). Внешний путь назван так потому, что его инициирует поверхностное повреждение ткани, в результате которого происходит выброс тканевого фактора или тканевого тромбопластина. В ходе этого процесса происходит активация фактора X с образованием фактора Ха [45]. Внутренний путь запускается в результате повреждения эндотелия, выстилающего внутреннюю поверхность кровеносного сосуда. Этот путь, как и внешний, приводит к амплификации фактора Ха. Вообще, фактор X играет в процессе коагуляции ключевую роль, т.к. занимает позицию, где эти два пути объединяются.

Вторая, современная модель коагуляции более полно описывает механизм гемостаза в состоянии *in vivo*. Эта модель учитывает взаимодействия клеток, вовлеченных в гемостаз, с белками, участвующими в процессе коагуляции. В результате этого взаимодействия происходит формирование тромба. Согласно второй модели, поражение кровеносного сосуда инициирует связывание и активацию клеток, несущих тканевой фактор, с фактором VII. В результате этого связывания продуцируется небольшое количество тромбина, который, в свою очередь, активирует тромбоциты и кофакторы, обуславливающие фазу амплификации фактора X. Протромбиновый комплекс, состоящий из фактора Ха и кофакторов, взаимодействуя с активированными тромбоцитами, стимулирует массивный синтез тромбина с последующим образованием фибрина [46]. Финальный этап серии протеазных реакций, приводящих к образованию тромба, включает превращение фибриногена в фибрин под действием

Гемостаз — антикоагулянты и тромболитики

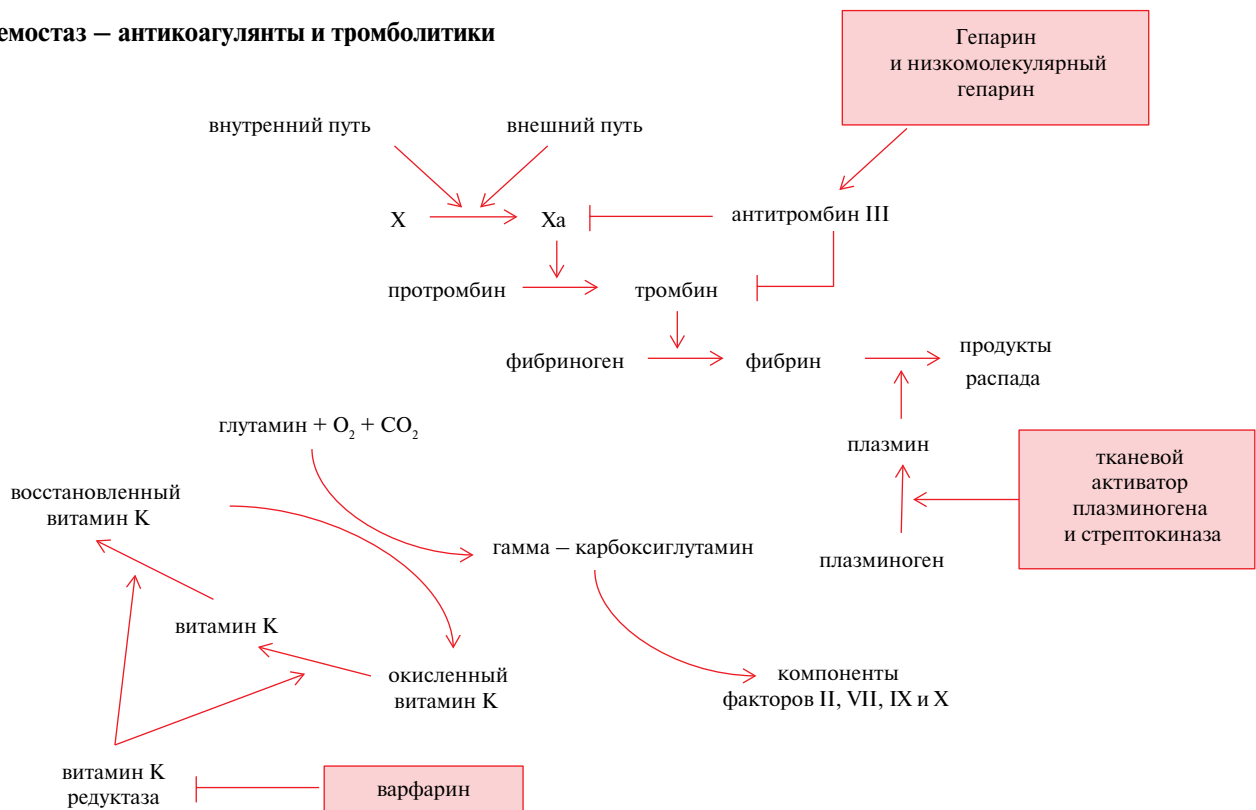


Рис. 4 Механизмы фибринолиза и действие антикоагулянтов.

Примечание: фибринолиз — это процесс расщепления фибрина, приводящий к растворению тромба. Основная роль в фибринолизе принадлежит плазминогену, предшественнику плазмينا, который расщепляет фибрин тромба. В результате серии превращений тромб лизируется, целостность сосудистой стенки восстанавливается, и циркуляция крови нормализуется. Тромболитики — стрептокиназа и тканевой активатор плазминогена, превращают плазминоген в плазмин, который, в свою очередь, расщепляет фибриновые нити и, таким образом, растворяет тромб. Антикоагулянты — гепарин и низкомолекулярный гепарин активируют антитромбин III, который, в свою очередь, ингибирует фактор Ха и тромбин. Варфарин является ингибитором витамин К-редуктазы. В результате его действия витамин К остается в окисленной форме, что препятствует образованию гамма-карбоксиглутамина, который, в свою очередь, является компонентом факторов II, VII, IX и X. В результате, эти факторы теряют свои функциональные свойства.

тромбина. Тромбин активирует фактор XIII, который стабилизирует тромб за счет поперечных сшивок фибриновых нитей, что позволяет сформированной фибриновой сети ловить и удерживать клеточные компоненты — тромбоциты и/или эритроциты (красные кровяные тельца), которые обуславливают цвет тромба — белый (артериальный)/красный (венозный).

Фактору Ха принадлежит ключевая роль в образовании тромба в обеих упомянутых выше моделях гемостаза по двум причинам. Первая — фактор Ха при активированном факторе V в качестве кофактора провоцирует коагуляцию путем превращения протромбина (Фактора II) в тромбин (Фактор IIa). И вторая — фактор Ха представляет собой ключевой амплифицирующий сайт в процессе коагуляции, т.к. одна его молекула катализирует образование ~1000 молекул тромбина.

Фибринолиз — процесс обратный гемостазу, состоит в расщеплении фибрина и приводит к растворению тромба. Основная роль в фибринолизе принадлежит плазминогену (рисунок 4), предшест-

веннику плазмينا, который расщепляет фибрин тромба [47]. В начальный момент тромбообразования активатор плазминогена пребывает в неактивном состоянии, и чтобы растворить тромб и восстановить целостность сосудистой стенки, эндотелиальные клетки начинают его секретировать. В результате серии превращений тромб лизируется, целостность сосудистой стенки восстанавливается, и циркуляция крови нормализуется. Быстрый лизис тромба особенно важен в момент наступления острых сердечно-сосудистых осложнений. Лизис тромба является основной целью тромболитической терапии. Тромболитическая терапия, применяемая при инфаркте миокарда, инсульте и прочих угрожающих жизни состояниях, связанных с нарушениями тромбообразования и тромболизиса, нацелена на превращение плазминогена в плазмин. Механизмы действия препаратов — антикоагулянтов и тромболитиков представлены на рисунке 4. Тромболитики — стрептокиназа и тканевой активатор плазминогена, превращают плазминоген в плазмин, который, в свою очередь, расщепляет фибри-

Таблица 1

**Аналитический комплекс биохимических маркеров
для доклинической диагностики и профилактики ССЗ**

Биохимические маркеры	Референсные значения и комментарии
Маркеры дислипидемии	
Общий ХС (ммМ)	<4,9 (при умеренном риске)
ХС ЛВП (ммМ)	Мужчины — не <1 Женщины — не <1,2
ХС ЛНП (ммМ)	Согласно рекомендациям Европейского общества кардиологов 2011: <3 при умеренном риске ССЗ <2,5 при высоком риске ССЗ <1,8 при очень высоком риске ССЗ
ТГ (ммМ)	<1,7 ммМ
Маркеры воспаления	
СРБ (мг/л) высокочувствительный метод определения	<5 — норма, принятая в диагностических лабораториях, >5 — остро протекающий воспалительный процесс, <1 — норма, согласно рекомендациям Европейского общества кардиологов 2011г, 1-3 — соответствует умеренному риску ССЗ, >3 — соответствуют высокому риску ССЗ, >10 — свидетельствует о выраженном воспалении. Очень высокие концентрации СРБ характерны для остро протекающего воспалительного процесса.
Серопозитивность к патогенам Бактерии и вирусы — основные инициаторы воспаления в организме человека	
IgG vs вируса HSV-2	Среди всех остальных патогенных микроорганизмов, лидирующие позиции по развитию ССЗ занимают вирус EBV, HSV-2 и <i>H. pylori</i>
IgA или IgM vs вируса EBV	
IgA или IgM vs бактерии <i>H. pylori</i>	Ig класса А или М часто обнаруживаются через несколько недель после заражения. Таким образом, можно определить приблизительный срок давности острой (литической) фазы персистирования вируса в организме
Маркеры ИР	
Инсулин (мкМЕд/мл)	2-22
Глюкоза (ммМ)	<6,1
НОМА-IR =Глю.(ммМ)×Инс.(мкМЕд/мл)/22,5) (модель НОМА-IR имеет высокую корреляцию (r=0,88) с методом эугликемического гиперинсулинемического клэмпа, — “золотым стандартом” оценки чувствительности тканей к инсулину (редко применяется в клинической практике)	<1 — идеальная модель инсулинчувствительности <2,7 принятая в КДЛ норма <1,9 согласно данным когортного исследования ФГБУ “НМИЦ профилактической медицины” Минздрава России при наличии дополнительных рисков таких, как возраст >55 лет, повышенный уровень ХС в плазме крови, ХС ЛНП, ТГ и сниженный уровень ХС ЛВП, избыточный вес, АГ
Маркеры гемостаза	
Фибриноген (г/л)	2-3,43 при отклонении уровня фибриногена от нормы, риск острых коронарных событий повышался в 4,23 раза, а хронической коронарной болезни сердца в ~2 раза.
Фибринолитическая активность (мин)	150-260 Снижение фибринолитической активности характерно не только для ССЗ, но и для МС, когда еще отсутствуют клинические проявления тромбозов

новые нити и, таким образом, растворяет тромб. Антикоагулянты — гепарин и низкомолекулярный гепарин активируют антитромбин III, который, в свою очередь, ингибирует фактор Ха и тромбин. Механизм действия варфарина наиболее не прямой: варфарин является ингибитором Витамин К-редук-

тазы. Под его действием витамин К остается в окисленной форме, а это препятствует образованию гамма-карбоксиглутамин, который является важным звеном факторов II, VII, IX и X. В результате, эти факторы теряют свои функциональные свойства (рисунок 4) [48]. Вообще, дисбаланс в системе

гемостаза связан с повышенным риском тромбоэмболии и ССЗ — коронарной болезни сердца, сердечной недостаточности, инсульта.

Фибриноген

Фибриноген — это белок острой фазы, гликопротеин (340 кДа), вырабатываемый в печени, состоящий из 2 идентичных субъединиц, каждая из которых состоит из трех полипептидных цепей $\text{A}\alpha$ -, $\text{B}\beta$ - и γ . Нормальный уровень фибриногена в плазме составляет от 1,5 до 4,0 мг/мл [49]. Этот белок занимает третье место по содержанию в плазме после альбумина и иммуноглобулинов. Его уровень в плазме поднимается при воспалении в ответ на действие провоспалительных агентов, таких как IL-6 и других цитокинов, за активации транскрипции гена [50]. Повышенный уровень фибриногена в плазме ассоциирован с большим количеством заболеваний системы кровообращения — ССЗ, инсультом, периферическим тромбозом, легочной тромбоэмболией. Было показано, что фибриноген присутствует в атеросклеротической бляшке. Несмотря на показанную взаимосвязь между уровнем фибриногена в плазме и ССЗ, эти ассоциации остаются предметом для дискуссий. Тем не менее, фибриноген автор включает в диагностический комплекс за неимением лучшего варианта валидного биохимического маркера, способного характеризовать систему гемостаза (таблица 1).

Фибринолитическая активность плазмы

Помимо фибриногена, в диагностический комплекс включен анализ фибринолитической активности плазмы — один из старейших методов клинико-лабораторной диагностики. Для определения фибринолитической активности используют унифицированный метод, называемый “Методом лизиса эуглобулинов плазмы”. Это базисный метод исследования системы фибринолиза. Фибринолитическую активность определяют по времени (мин) лизиса эуглобулинового сгустка. Чем короче время лизиса, тем выше фибринолитическая активность плазмы. Метод определения времени лизиса эуглобулинового сгустка дает представление об активности спонтанного фибринолиза. По результатам

исследований, снижение фибринолитической активности плазмы характерно не только для ССЗ, но и для МС, когда еще отсутствуют клинические проявления тромбозов. Нормальные значения фибринолитической активности находятся в диапазоне от 150 до 260 мин. Более продолжительный период времени лизиса эуглобулинового сгустка указывает на низкую фибринолитическую активность и, наоборот, сокращение времени лизиса эуглобулинового сгустка свидетельствует о высокой активности фибринолиза. Низкий уровень фибриногена, особенно в сочетании со сниженной фибринолитической активностью, указывает на системную активацию образования кровяных сгустков — генерализованный тромбгеморрагический синдром, представляющий собой диссеминированное внутрисосудистое свертывание, часто сопряженное с сепсисом или травмой.

Диагностический комплекс “Биомедицинская доклиническая диагностика и профилактика ССЗ” доклиническая диагностика

Диагностический комплекс биохимических маркеров (таблица 1), составленный на основании принципа “необходимого и достаточного”, является дополнительным инструментом диагностики и оценки рисков ССЗ. Критериями включения в предлагаемый диагностический комплекс являются: валидность биохимических маркеров и возможность их анализа в широкой лабораторной практике. Необходимо учитывать, что предлагаемый комплекс анализов рекомендуется сдавать в момент отсутствия острых воспалительных процессов, таких как, острая респираторно-вирусная инфекция, ангина, грипп и др. В противном случае, уровень СРБ будет отражать текущий статус воспаления. Острое воспаление может повлиять и на все измеряемые параметры, что может привести к искажению пролонгированной прогностической значимости диагностического комплекса.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Atkinson Jr AJ, Colburn WA, De Gruttola VG, et al. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin Pharmacol Ther. 2001;69(3):89-95. doi:10.1067/mcp.2001.113989.
- Gluud C, Gluud LL. Evidence based diagnostics. BMJ. 2005;330(7493):724-6. doi:10.1136/bmj.330.7493.724.
- 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.
- Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. Redox Biol. 2015;4:180-3. doi:10.1016/j.redox.2015.01.002.
- Zhong S, Li L, Shen X, et al. An update on lipid oxidation and inflammation in cardiovascular diseases. Free Radic Biol Med. 2019; S0891-5849(19)30271-0. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2019.04.062. PMID: 30946962.
- Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. Am Heart J. 1999;138(5):S419. PMID: 10539839.
- Thiele JR, Zeller J, Bannasch H, et al. Targeting C-Reactive Protein in Inflammatory Disease by Preventing Conformational Changes. Mediators Inflamm. 2015;372432. doi:10.1155/2015/372432.
- Ristagno G, Fumagalli F, Bottazzi B, et al. Pentraxin 3 in Cardiovascular Disease. Front Immunol. 2019;10:823. doi:10.3389/fimmu.2019.00823. PubMed PMID: 31057548.
- Poredoš P. C-reactive protein and the risk of cardiovascular morbidity and mortality. Vasa. 2017;46(2):77-8. doi:10.1024/0301-1526/a000602.
- Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM, et al. Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III); National Cholesterol Education Program (NCEP). NCEP defined metabolic syndrome, diabetes, and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. Diabetes. 2003;52(5):1210-4. doi:10.2337/diabetes.52.5.1210.
- Avan A, Tavakoly Sany SB, Ghayour-Mobarhan M, et al. Serum C-reactive protein in the prediction of cardiovascular diseases: Overview of the latest clinical studies and public health practice. J Cell Physiol. 2018;233(11):8508-25. doi:10.1002/jcp.26791.

12. Bacmeister L, Schwarzl M, Warnke S, et al. Inflammation and fibrosis in murine models of heart failure. *Basic Res Cardiol*. 2019;114(3):19. doi:10.1007/s00395-019-0722-5.
13. Rupprecht HJ, Blankenberg S, Bickel C, et al. AutoGene Investigators. Impact of viral and bacterial infectious burden on long-term prognosis in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001;104(1):25-31. PMID: 11435333.
14. Jolles S, Jordan SC, Orange JS, et al. Immunoglobulins: current understanding and future directions. *Clin Exp Immunol*. 2014;Suppl 1:163-8. doi:10.1111/cei.12555.
15. Konukoglu D, Uzun H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Adv Exp Med Biol*. 2017;956:511-40. doi:10.1007/5584_2016_90.
16. Della Corte VD, Tuttolomondo A, Pecoraro R, et al. Inflammation, Endothelial Dysfunction and Arterial Stiffness as Therapeutic Targets in Cardiovascular Medicine. *Curr Pharm Des*. 2016; 22(30):4658-68. PMID: 27160758.
17. Devaraj S, Xu DY, Jialal I. C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells: implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. *Circulation*. 2003;107(3):398-404. PMID: 12551862.
18. Pokharel DR, Khadka D, Sigdel M, et al. Prevalence of metabolic syndrome in Nepalese type 2 diabetic patients according to WHO, NCEP ATP III, IDF and Harmonized criteria. *J Diabetes Metab Disord*. 2014;13(1):104. doi:10.1186/s40200-014-0104-3.
19. Ford ES. Prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S. *Diabetes care*. 2005;28(11):2745-9. PMID: 16249550.
20. Hanson RL, Imperatore G, Bennett PH, et al. Components of the "metabolic syndrome" and incidence of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(10):3120-7. PMID: 12351457.
21. Sattar N, Gaw A, Scherbakova O, et al. Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation*. 2003;108(4):414-9. doi:10.1161/01.CIR.0000080897.52664.94.
22. Malik S, Wong ND, Franklin SS, et al. Impact of the metabolic syndrome on mortality from coronary heart disease, cardiovascular disease, and all causes in United States adults. *Circulation*. 2004;110(10):1245-50. doi:10.1161/01.CIR.0000140677.20606.0E.
23. Tao Z, Shi A, Zhao J. Epidemiological Perspectives of Diabetes. *Cell Biochem Biophys*. 2015;73(1):181-5. doi:10.1007/s12013-015-0598-4.
24. Inoue H. Central insulin-mediated regulation of hepatic glucose production [Review]. *Endocr J*. 2016;63(1):1-7. doi:10.1507/endocrj.EJ15-0540.
25. Brown AE, Walker M. Genetics of Insulin Resistance and the Metabolic Syndrome. *Curr Cardiol Rep*. 2016;18(8):75. doi:10.1007/s11886-016-0755-4.
26. Holman GD. Chemical biology probes of mammalian GLUT structure and function. *Biochemical J*. 2018;475(22):3511-34. doi:10.1042/BCJ20170677.
27. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9. PMID: 3899825.
28. Kim JK. Hyperinsulinemic-euglycemic clamp to assess insulin sensitivity in vivo. *Methods Mol Biol*. 2009;560:221-38. doi:10.1007/978-1-59745-448-3_15.
29. Gayoso-Diz P, Otero-González A, Rodríguez-Alvarez MX, et al. Insulin resistance (HOMA-IR) cut-off values and the metabolic syndrome in a general adult population: effect of gender and age: EPIRCE cross-sectional study. *BMC Endocr Disord*. 2013;13(1):47. doi:10.1186/1472-6823-13-47.
30. Perova NV, Ozerova IN, Aleksandrovich OV, et al. Clinical value of insulin resistance in fasting normoglycemia. *Kardiologiya*. 2011;51(8):49-54. (In Russ.) Перова Н.В., Озерова И.Н., Александрович О.В. и др. Клиническое значение инсулинорезистентности при нормогликемии натощак. *Кардиология*. 2011;51(8):49-54.
31. Haffner SM, Miettinen H, Stern MP. The homeostasis model in the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care*. 1997;20(7):1087-92. PMID: 9203442.
32. Helkin A, Stein JJ, Lin S, et al. Dyslipidemia Part 1-Review of Lipid Metabolism and Vascular Cell Physiology. *Vasc Endovascular Surg*. 2016;50(2):107-18. doi:10.1177/1538574416628654.
33. Rawla P, Sunkara T, Thandra KC, et al. Hypertriglyceridemia-induced pancreatitis: updated review of current treatment and preventive strategies. *Clinical Journal of Gastroenterology*. 2018;11(6):441-8. doi:10.1007/s12328-018-0881-1.
34. Alexopoulos AS, Qamar A, Hutchins K, et al. Triglycerides: Emerging Targets in Diabetes Care? *Curr Diab Rep*. 2019;19(4):13. doi:10.1007/s11892-019-1136-3. PMID: 30806837.
35. Roubille F, Sultan A, Huet F, et al. Is hypertriglyceridemia atherogenic? *La Presse Médicale*. 2018;47(9):757-63. doi:10.1016/j.lpm.2018.08.009.
36. Inayat F, Zafar F, Baig AS, et al. Hypertriglyceridemic Pancreatitis Treated with Insulin Therapy: A Comparative Review of 34 Cases. *Cureus*. 2018;10(10). doi:10.7759/cureus.3501.
37. Mollazadeh H, Carbone F, Montecucco F. Oxidative burden in familial hypercholesterolemia. *J Cell Physiol*. 2018;233(8):5716-25. doi:10.1002/jcp.26466.
38. Getz G, Reardon C. Apoprotein E and Reverse Cholesterol Transport. *Int J Mol Sci*. 2018;19(11):3479. doi:10.3390/ijms19113479.
39. Lewington S, Whitlock G, Clarke R, et al. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths. *The Lancet*. 2007;370(9602):1829-39. PMID: 18061058.
40. Anderson KM, Castelli WP, Levy D. Cholesterol and mortality. 30 years of follow-up from the Framingham study. *JAMA*. 1987;257(16):2176-80.
41. Rosenson RS. The High-Density Lipoprotein Puzzle: Why Classic Epidemiology, Genetic Epidemiology, and Clinical Trials Conflict? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36(5):777-82. doi:10.1161/ATVBAHA.116.307024.
42. Chang JC. Hemostasis based on a novel 'two-path unifying theory' and classification of hemostatic disorders. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2018;29(7):573-84. doi:10.1097/MBC.0000000000000765.
43. Asada Y, Yamashita A, Sato Y, et al. Thrombus Formation and Propagation in the Onset of Cardiovascular Events. *J Atheroscler Thromb*. 2018;25(8):653-64. doi:10.5551/jat.RV17022.
44. Bagot CN, Arya R. Virchow and his triad: a question of attribution. *Br J Haematol*. 2008;143(2):180-90. doi:10.1111/j.1365-2141.2008.07323.x.
45. Krpiczajc MA, Scotton CJ, Chambers RC. Coagulation signaling following tissue injury: focus on the role of factor Xa. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008;40(6-7):1228-37. doi:10.1016/j.biocel.2008.02.026.
46. Chapin JC, Hajjar KA. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev*. 2015;29(1):17-24. doi:10.1016/j.blre.2014.09.003.
47. Thiebaut A M, Gauberti M, Ali C, et al. The role of plasminogen activators in stroke treatment: fibrinolysis and beyond. *Lancet Neurol*. 2018;17(12): 1121-32. doi:10.1016/S1474-4422(18)30323-5.
48. Nijenhuis VJ, Brouwer J, Søndergaard L, et al. Antithrombotic therapy in patients undergoing transcatheter aortic valve implantation. *Heart*. 2019;heartjnl-2018-314313. doi:10.1136/heartjnl-2018-314313.
49. Danesh J, Lewington S, Thompson S G, et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA*. 2005;294(14):1799-809. doi:10.1001/jama.294.14.1799.
50. Bridge KI, Philippou H, Ariëns RA. Clot properties and cardiovascular disease. *Thromb Haemost*. 2014;112(11):901-8. doi:10.1160/TH14-02-0184.