

Биомаркери за медикаментозно-индуцирано съдово увреждане

Доц. Жанета Георгиева

Катедра по пропедевтика на вътрешните болести, Медицински университет
„Проф. д-р Параскев Стоянов“, Варна; МБАЛ „Св. Марина“, Варна

Резюме

В хода на предклиничните токсикологични проучвания на нови медикаменти са установени странични реакции, изразяващи се в увреждане на кръвните съдове, които се означат с термина медикаментозно-индуцирано съдово увреждане (МИСУ). Установяването на МИСУ се основава предимно на експерименти с животни. При плъхове МИСУ основно засяга мускулните резистентни артерии с диаметър 100–800 μm в мезентериума. При кучета МУСИ типично засягат епикардните артерии с размер 200–500 μm от системата на лявата и дясната коронарна артерия, въпреки че могат да бъдат засегнати и по-малките интрамиокардни клонове. При нечовекоподобни примати лезиите на МИСУ са подобни на тези, наблюдавани при кучета – некроза на медията с клетъчни остатъци и смесен възпалителен отговор в интимата, медията и адвенцията. Артериални лезии понякога се наблюдават и екстракоронарно, включително в тънкото и дебелото черво и тестисите. Медикаментозно-индуцираното увреждане в предклинични условия често възпрепятства разработването на много медикаменти, които имат висок потенциал за терапията или превенцията на болести при човека. В момента не разполагаме с неинвазивни тестове за МИСУ поради липсата на биомаркери с достатъчна специфичност и чувствителност. Неинвазивната диагностика на остро МИСУ понастоящем не е възможна поради липсата на специфични и чувствителни биомаркери, но вече са налице някои обещаващи маркери, открити през последните години. Настоящата статия представя някои нови биомаркери за съдова усверда, сред които са алфа-1-киселинен гликопротеин, калпротектин (SI00A9/A8), caveolin-1, циркулиращи ендотелни клетки/частици, компонент 3 на комплемента, съединително-тъканен растежен фактор, C-реактивен протеин, ендотелин-1, фибриноген, GRO/CINC-1, хептоглобин, металотионеин-1, моноцитен хемоатрактантен протеин 1, неутрофилен гелатиназо-асоцииран липокалин, остеопонтин, гладкомускулен актин, тромбоспондин-1, тъканен инхибитор на металопроотеиназа-1, тъканен плазминогенов активатор, съдова клетъчна адхезионна молекула 1, съдов ендотелен растежен фактор, фактор на фон Вилебранд.

Ключови думи: биомаркери, медикаментозно-индуцирано съдово увреждане.

Biomarkers for drug-induced vascular injury

Prof. Jeanetta Georgieva

Propedeutics of Internal Medicine, Medical University
„Prof. Dr. Paraskev“, Varna; Hospital „St. Marina“, Varna

Abstract

In preclinical toxicology studies of new drugs are identified adverse effects such as damage to the blood vessels, known as „drug-induced vascular injury“. Establishing „drug-induced vascular injury“ is principally based on animal experimental models. In rats it mainly affects muscle resistance arteries with diameter 100–800 μm in the mesentery. „Drug-induced vascular injury“ in dogs typically affects epicardial arteries with size 200–500 μm from the system of left and right coronary artery, although they may affect intramural smaller branches. In non-human primates the vascular lesions are similar to those observed in dogs – necrosis of the media with cellular debris and mixed inflammatory response in the intima, media and tunica adventicia. Arterial lesions are sometimes seen out of the heart, including small and large intestine and testis. Drug-induced injury in preclinical conditions often stop the development of many drugs that have a high potential for the treatment or prevention of human disease. Currently we have no available noninvasive tests for vascular injury due to lack of biomarkers with sufficient specificity and sensitivity. Noninvasive diagnosis of acute vascular injury is currently not possible due to lack of specific and sensitive biomarkers, but there are now some promising markers discovered in last years. This paper presents some new biomarkers of vascular injury among them are alpha-1-acid glycoprotein, calprotectin (SI00A9/A8), caveolin-1, circulating endothelial cells/particles, complement component 3, connective tissue growth factor, C-reactive protein (CRP), endothelin-1, fibrinogen, GRO/CINC-1, heptoglobin, metallothionein-1, monocyte chemoattractant protein-1, neutrophil gelatinase-associated lipocalin, osteopontin, smooth muscle actin thrombospondin-1, tissue inhibitor of metalloproteinases-1, tissue plasminogen activator, vascular cell adhesion molecule 1, vascular endothelial growth factor, von Willebrand factor.

Key words: biomarkers, drug-induced vascular injury.

Високата цена на разработването на медикаменти и възможностите за неуспех на медикаментите по време на клиничните проучвания, особено в късните фази на проучване, както и изискването за минимизиране или превенция на тежките странични ефекти на изпитваните лекарства подчертават нуждата от разработване на адекватни животински модели и биомаркери, които да имат висока предиктивна стойност по отношение на токсичността на медикаментите при хора.¹

Наблюдавано е повишение на честотата на страничните реакции в предклиничните токсикологични проучвания, които се означат с термина медикаментозно-индуцирано съдово увреждане (МИСУ). Тези странични реакции се установяват само хистологично при животни, без клинични белези или промени на рутинните клинични параметри в момента на токсикологичното проучване. Морфологичната и фармакологичната обратимост на МИСУ не е добре проучена. Неинвазивната детекция на МИСУ понастоящем не е възможна поради липсата на специфични и чувствителни биомаркери на съдово-клетъчното увреждане.²⁻⁴ Тази липса на проследими параметри повдига въпросът за потенциала на МИСУ да преминат незабелязани в ранните клинични проучвания при здрави хора и да се проявят клинично в късната фаза или след одобренето на медикамента и излизането му на пазара под формата на коронарна или периферна артериална болест, за които състояния са предложени множество циркулиращи и функционални биомаркери на ендотелната и съдовата дисфункция.⁵⁻¹³

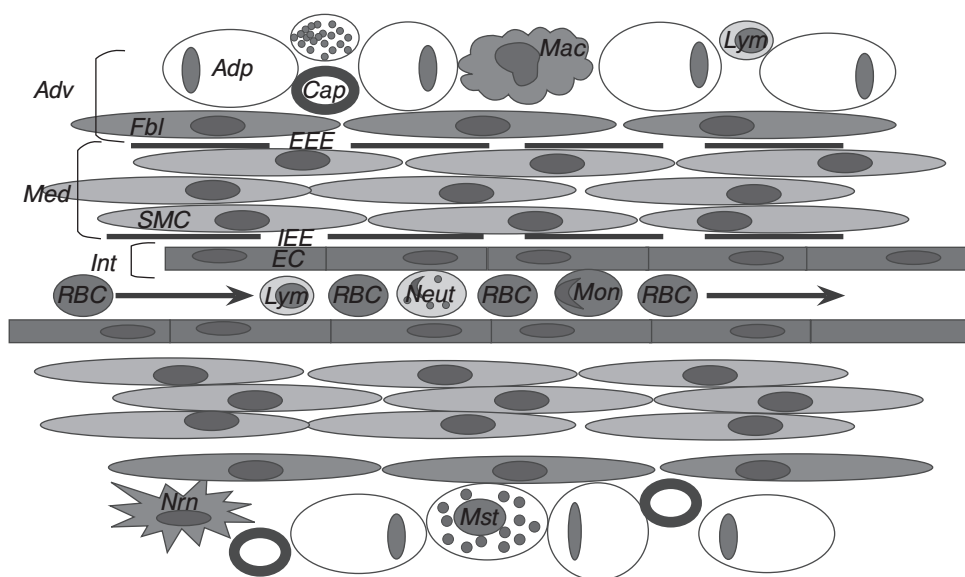
Съдовото увреждане при експериментални животни е асоциирано с експозиция на токсични фактори от околната среда, като диоксин,¹⁴ или вещества, като стрептозотоцин, който се използва за

индукция на бета-клетъчна смърт на панкреаса при животински модели на диабет.¹⁵ Наблюдението, че вещество, толкова обикновено като кофеин, води до развитие на артериит при плъхове, показва междувидовата специфичност на сърдечно-съдовата патофизиология и предразположението към токсину; това определя и проблема за интерполирането на данните от животински модели към хора. Фенолдопам е вещество, което индуцира МИСУ в мезентериалните артерии на плъх и коронарните артерии на куче^{16, 17} и за което няма данни за странични ефекти при хора. Фенолдопам е ефективен за повишение на кръвотока за кардио- и нефропротекция и за индукция на контролирана хипотония за лицево-челюстна и друг тип хирургични интервенции.¹⁸

През 80-те и средата на 90-те години промените в средното артериално налягане и сърдечната честота са били смятани за сурогатни маркери за МИСУ при кучета. Ако терапевтичните дози на изследваните медикаменти не са успявали да индуцират хипотония и рефлекторна тахикардия при хора, тези медикаменти са били смятани за сигурни. Използвайки тези отправни точки, са били разработени много мощни вазодилататори, които предизвикват предклинично МИСУ въз основа на наблюдаваната хипотония с или без рефлекторна тахикардия (табл. 1).^{16, 17, 19-26} Учените се отказаха от тази теза, когато бе доказано, че ендотелин-рецепторните антагонисти индуцират МИСУ в коронарни артерии на кучета и в нечовекоподобни примати без наличие на значим промяна в сърдечната честота и средното артериално налягане. Това показва, че избраните параметри за наблюдение са били неефективни по отношение на изключване на съдово увреждане при хора, експонирани на съпоставими дози.^{2, 3}

Медикаментозен клас	Представител	Сърдечно-съдов ефект
A1-рецепторни агонисти	Агенозин	АН/рефлекторна тахикардия
Бета-адренергични агонисти	Изопроterenол	АН
Допаминови агонисти	Фенолдопам	Без промяна
Ендотелинови антагонисти	Босентан	Без промяна
Отварящи К-каналчета	Миноксидил	АН/рефлекторна тахикардия
Инхибитори на ФДЕ3	Милринон/теофилин	АН/рефлекторна тахикардия
Инхибитори на ФДЕ4	Циломиласт/СI-1044	Без промяна
Инхибитори на ФДЕ5	Таладафил	АН
Вазоконстриктори	Ангиотензин II	АН
Вазодилататори	Хидралазин	АН/рефлекторна тахикардия

Табл. 1. Медикаментозен клас, представители на класа и сърдечно-съдови ефекти на медикамент-индуцираното съдово увреждане



Adp: адипоцит
Cap: капиляр
EEE: външна еластична мембрана
Fbl: фибробласт
Int: tunica intima
Mac: макрофаг
Mon: моноцит
Nrn: периваскуларен неврон
SMC: съдови гладкомускулни клетки
Adv: tunica adventitia
EC: ендотелна клетка
Eos: еозинофил
IEE: вътрешна еластична мембрана
Lym: лимфоцит
Med: tunica media
Mst: мастоцит/безофил
RBC: еритроцит

Фиг. 1. Съдови клетки, които участват в съдовото увреждане

Дескриптивна патология на медикаментозно-индуцираните съдови увреждания

Съдова анатомия

Микроскопично съдовете имат относително проста анатомия; те имат трислойна структура – интима, изградена от ендотелни клетки; медия, изградена от гладкомускулни клетки и поръзени вътрешни и външни еластични мембрани; и адвентиция, съставена основно от фибробласти, които в епикардните съдове и други големи съдова са забобиколени от и влизат в контакт с vasa vasorum и мастна тъкан, която съдържа не само адипоцити, но и капилари, лимфоцити, макрофази, мастоцити/ базофили и нервни окончания. Откриват се и допълнителни клетки от циркулиращата кръв – еритроцити, неутрофили, моноцити, еозинофили и други, които отразяват състоянието на съдовете в болест и здраве (фиг. 1).

Плъхове

При плъхове МИСУ основно засяга мускулните резистентни артерии с диаметър 100–800 μm в мезентериума. Некроза и кръвоизливи настъпват в медията през първите 24 часа. Тези лезии отминават пред следващите 3–14 дни и се наблюдава натрупване на левкоцити (макрофази, Т-клетки, В-клетки) и фиброзиране в адвентицията.^{16, 17, 20, 22, 28–34} Тези лезии обикновено настъпват в произволни сегменти. Възпаление може да възникне и в прилежащия мезентериум. МИСУ може да се развие и в артериите на сърцето, тестиса и *plexus papiniformis*.^{21–32}

Кучета

При кучета МУСИ типично засягат епикардните артерии с размер 200–500 μm на лявата и дясната коронарна артерия, въпреки че могат да бъдат засегнати и по-малките интрамиокардни клонове. Хистологичните промени по времето на изява на МИСУ са подобни на тези, наблюдавани в мезентериума на плъхове – начална некроза на медията с натрупване на хиалинови капки и образуване на джобове, съдържащи протеиноподобен материал и/или еритроцити. При напредналите лезии кръвоизливите могат да преодолеят всички слоеве на кръвоносния съд и да бъдат открити левкоцити в медията. Ендотелът на засегнатите артерии може да се разшири. В адвентицията могат да се наблюдават кръвоизливи, натрупване на мононуклеарни и полиморфноядрени левкоцити и пролиферация на фибробласти.^{19, 23–25, 35, 36}

Примати

При нечовекоподобни примати лезиите на МИСУ са подобни на тези, наблюдавани при кучета – некроза на медията с клетъчни остатъци и смесен възпалителен отговор в интимата, медията и адвентицията. Артериални лезии понякога се наблюдават и екстракоронарно, включително в тънкото и дебелото черво и тестиса.^{37, 38}

Спонтанни лезии, установени в предклиничните проучвания при животни

Спонтанният некротизиращ артериит се развива с възрастта при хипертензивни плъхове и

настъпва по-често при мъжките животни, отколкото при женските. Лезиите са обичайни в мезентериалните и тестикларните артерии, като остават незасегнати само белите дробове, мозъкът и аортата при мъжките животни. При женските животни лезиите могат да бъдат ограничени до езика, параметриума и мезентериума. Спонтанна руптура на панкреатодуоденалната артерия е наблюдавана при ACI/SegHsd плъхове.³⁹

Некротизиращият артериит на екстрамуралните коронарни артерии е недостатъчно изяснена спонтанна лезия при кучета.^{16, 40} Тези лезии са съобщени при около ¼ от проучванията на медикаменти. Както и при плъховете, тази лезия се наблюдава по-често при мъжките животни.⁴¹ Полиартериит, засягащ тестиса, епидидима, тимуса и други съдови легла, е наблюдаван и при млади кучета с фебрилитет, болка и неутрофилия.⁴²⁻⁴⁴

	Съдова експресия	Тест	Видове
Алфа-1-киселинен гликопротеин (орозомукоид)	Ендотелни клетки, макрофаги, адипоцити	ELISA, RIA, протеомика	Плъх, куче, човек
Калпротектин (SI00A8/9)	Моноцити, неутрофили	ELISA, имунохистохимия, радиоимунен тест	Куче, човек
Кавеолин-1	Ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, адипоцити	Имунохистохимия, RT-PCR, уестърн блот на периферни мононуклеари	Brott, 2006; Dalmás 2008; Loudon, 2006
Циркулиращи ендотелни клетки/частици	Ендотелни клетки	Ультрацентрифугиране и флоу-цитометрия	Човек
Комплемент 3	Моноцити/макрофаги	ELISA, микробази данни, протеомика	Плъх, куче, човек
Съединително-тъканен растежен фактор	Ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, поглъщане от макрофаги, пре-адипоцити	ELISA	Плъх, човек
C-реактивен протеин	Хепатоцити, гладкомускулни клетки	ELISA	Плъх, куче, човек
Ендотелин-1	Ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, макрофаги, мастоцити	ELISA	Плъх, куче, човек
Фибриноген	Хепатоцити	ELISA	Плъх, куче, човек
GRO/CINC1		ELISA	Плъх
Хаптоглобин	Хепатоцити, адипоцити	ELISA, протеомика	Плъх, куче, човек
Металотионеин-1	Ендотелни клетки, фибробласти, моноцити, адипоцити	ELISA	Плъх, куче, човек
Моноцитен хематрактантен протеин-1	Ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, макрофаги, адипоцити	ELISA	Плъх, куче, човек
Неутрофилен гелатиназо-асоцииран липокалин	Неутрофили	ELISA	Плъх, куче, човек
Остеопонтин	Ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, макрофаги, фибробласти, адипоцити	ELISA	Плъх, куче, човек
Гладкомускулен актин	Гладкомускулни клетки (ендотелни клетки)	Микро бази данни	Плъх, човек
Тромбоспондин-1	Ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, макрофаги, адипоцити	ELISA	Плъх, куче, човек
Тъканен инхибитор на металопротеиназа-1	Ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, макрофаги, адипоцити	ELISA	Плъх, куче, човек
Тъканен активатор на пламиногена	Ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, фибробласти, макрофаги, неутрофили	ELISA	Плъх, куче, човек
Съдова клетъчна адхезионна молекула-1	Ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, макрофаги	ELISA	Плъх, куче, човек
Съдов ендотелен растежен фактор	Ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, макрофаги, адипоцити	ELISA	Плъх, куче, човек
Фактор на фон Вилебранд	Ендотелни клетки	ELISA	Плъх, куче, човек

Табл. 2. Възможни биомаркери за медикаментозно-индуцираното съдово увреждане

Сегментен некротизиращ артериит с вариабилна тежест с трансмурален смесен възпалително-клетъчен инфилтрат, фибрионидна некроза на медията и загуба на вътрешната еластична мембрана, засягащ съдовете на бъбреците, тънкото черво, колона, сърцето, слезката, мезентериума, пикочния мехур и панкреаса, са наблюдавани и при макак. Имунохистохимичното изследване показва, че много от инфилтриращите клетки са Т-лимфоцити и хистиоцити, което свидетелства за клетъчно-медиан компонент на патогенетичния процес.

Спонтанни или базални лезии могат да се приемат за МИСУ и да възпрепятстват разработването на медикамента. Клиничните белези и разпределението на лезиите могат да подпомогнат диференцирането на изходния артериит от МИСУ. МИСУ има тенденция за ограничение до мезентериалните артерии на пълховете и коронарните артерии на кучета и примати, докато спонтанният артериит засяга малките и средните артерии и на много други органи, поради което е приложим терминът *polyarteritis nodosa*. Кръвоузливи в медията и артериалната липсват при спонтанен артериит, но са типични за МИСУ. Животните с МИСУ нямат клинични прояви на артериита.

Диференциация от човешки васкулит

Съдовата токсичност, асоциирана с антинеопластични агенти, има хетерогенна клинична изява, варираща от асимптоматични артериални лезии до фатален тромботичен микроангиопатичен синдром. Терминът „системен васкулит“ описва хетерогенна група от редки заболявания, които се характеризират с възпаление и фибрионидна некроза на стените на кръвоносните съдове. Васкулитът може да бъде първичен (без идентифицируема причина) или вторичен, резултат от инфекция, злокачествено заболяване или аутоимунна болест. Данните показват, че бързо прогресиращата атеросклероза е усложнение при повечето, но не при всички аутоимунни болести, включително ревматоиден артрит, склеродермия, саркоидоза и системен лупус еритематозес.

Polyarteritis nodosa е идиопатичен некротизиращ васкулит, засягащ артериите с малък до среден размер в много съдове легла при хора и може да се представи под формата на спонтанни лезии. Както вече бе подчертано, МИСУ типично е ограничено до коронарните и мезентериалните артерии. Обривите са типична клинична изява при медикаментозно-индуцирания кожен васкулит при хора, при които биопсично се установява преобладаване на еозинофилиите. Обривите и еозинофилиите не са типична проява при МИСУ.

Разработване на биомаркери и модели за медикаментозно-индуцирани съдови увреждания

Неинвазивната диагностика на остро МИСУ понастоящем не е възможна поради липсата на специфични и чувствителни биомаркери; в табл. 2 обаче са представени някои обещаващи маркери, открити през последните години.^{2-4, 28, 31, 45}

Алфа-1-киселинен гликопротеин

Алфа-1-киселинният гликопротеин, известен още като оросомукоид 1, е острофазов серумен протеин, произвеждан основно от хепатоцитите, но така също и от съдовите ендотелни клетки и агипоцитите.⁴⁶⁻⁴⁷ Алфа-1-киселинният гликопротеин инхибира ефектите на хистамина върху ендотелните клетки⁴⁸ и се повишава дозо-зависимо от 24 до 72 час в серума на пълховете с мезентериално МИСУ.³¹ Той може да бъде открит чрез ELISA при пълховете и хора,^{31, 49} радиоимунологично при кучета и чрез маспектрометрия при хора.⁵⁰

Калпротектин (S100A9/A8)

Калпротектин, известен още като S100A9/A8, е серумен биомаркер на съдовото възпаление при хора, който се експресира от неутрофили, моноцити и съдови гладкомускулни клетки.⁵⁰⁻⁵³ Имунохистохимично е установено, че калпротектин се експресира на 4 ден при коронарно МИСУ при кучета.³⁶ Калпротектин може да бъде установен чрез RIA при кучета⁵³ и ELISA при хора.⁵⁰⁻⁵³

Кавеолин-1

Кавеолин-1 се експресира от много видове клетки – ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, фибробласти и макрофаги.⁵⁴⁻⁵⁷ Понижена имунореактивност за кавеолин-1 е показана при начално МИСУ в мезентериума на пълховете и коронарните артерии на кучета.³ Кавеолин-1 потиска активността на ендотелната NO-синтаза и липсата му е свързана с ексцесивно базално освобождаване на NO и ексцесивно съдова релаксация.^{56, 58}

Наблюдението, че кавеолин-1 индуцира апоптоза на гладкомускулните клетки,⁵⁹ показва, че той може да е потенциален маркер за МИСУ в съдовата медия, което се потвърждава и от активацията му в гладкомускулните фракции, получени от мезентериално МИСУ от пълх чрез лазерна микродисекция 1 до 4 часа след индукцията.⁶⁰ Неинвазивен тест за кавеолин-1 при хора може да се извърши чрез RTPCR, имунохистохимия или уестърн блот на изолирани от периферна кръв мононуклеарни клетки⁶¹ или циркулиращи микрочастици.⁶² Антитела срещу кавеолин-1 от пълх, куче и човек са налични в търговската мрежа.

Циркулиращи ендотелни клетки/частици

Повишеното ниво на циркулиращи ендотелни клетки и микрочастици е предложено като маркер за васкулит при хора.⁶³ Циркулиращите ендотелни клетки и микрочастици могат да бъдат изследвани чрез ултрацентрифузиране и флоу-цитометрия.⁶⁴ Циркулиращите ендотелни клетки при съдова болест при човек са в корелация с тъканния фактор и фактора на фон Вилебранд,^{5, 8, 65} които са допълнителни потенциални маркери за МИСУ.⁶⁰ Тази техника все още не е напълно валидирана при пълхове и кучета.

Компонент 3 на комплекта

Компонент 3а на плазмената система на комплекта (С3а) е в корелация с циркулиращите ендотелни клетки при човешки аутоимунен васкулит.⁶³ С3а е установен и в човешки серум чрез масова спектрометрия.⁵⁰ Повишено ниво на С3а е установено чрез микродиализни катетри при термичен васкулит при хора.⁶⁶ Рецептор 1 за С3а (С3аR1) е с повишена експресия върху мононуклеарни клетки от периферната кръв при съдова тромбоза при човек.⁶⁷ С3а се експресира от и индуцира конверсията на съдови гладкомускулни клетки от контрактилен към синтетичен фенотип, асоцииран с експресията на остеоопонтин при пълхове.⁶⁸ Експресията на С3а, установена чрез РНК микротест, е активирана при МИСУ в коронарни артерии на куче и мезентериални артерии на пълх.^{28, 60} Плазменото ниво на С3а може да бъде изследвано с РНК микротестове в тъкани и мононуклеарни от периферна кръв и ELISA.⁶² Търговски ELISA китове са налични за С3а от пълх, куче и човек.

Съединително-тъканен растежен фактор

Съединително-тъканният растежен фактор се експресира от много клетъчни типове, асоциирани със съдовете, включително ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, фибробласти и преадипоцити.⁶⁹⁻⁷¹ Асиметричният напречен стрес също индуцира експресия на съединително-тъканен растежен фактор в човешки ендотелни клетки⁷¹ и каротидната атеросклероза корелира с плазменото му ниво, установено чрез ELISA.⁷² Повишена експресия на съединително-тъканния растежен фактор е установена чрез РНК микротест в съдова гладка мускулатура от мезентериални артерии на пълхове с МИСУ; потенциалната му роля като плазмен биомаркер за МИСУ трябва да бъде проучена от допълнителни проучвания.⁶⁰ В търговската мрежа са налични китове за ELISA за съединително-тъканен растежен фактор при пълх и човек.

С-реактивен протеин

С-реактивният протеин (CRP) е острофазов протеин, произвеждан основно в черния дроб, но така също от съдовете гладкомускулни клетки.⁷³ CRP е най-силният кандидат за биомаркер на възпалението и човешката сърдечно-съдова болест;^{73, 74} междувидовите разлики обаче не позволяват директното екстраполиране на данните за CRP, тъй като той е слаб маркер за остро възпаление при пълх.⁷⁵ Плазменото ниво на CRP е повишено при МИСУ при пълх и при кучета с артериит.⁷⁶ Търговските китове за ELISA са налични за CRP от пълх, куче и човек.

Ендотелин-1

Ендотелин-1 се експресира от множество клетъчни типове, асоциирани със съдовете, включително ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, фибробласти, макрофаги и мастоцити. Плазменото ниво на ендотелин-1, установено чрез ELISA, е повишено при съдова болест при човек. Индукцията на МИСУ от ендотелин-рецепторните антагонисти^{35, 36} и наблюдението, че експресията на ендотелин и ендотелиновите рецептори е повишена при мезентериално МИСУ,^{28, 60} показва, че са необходими допълнителни проучвания на ендотелин-1, които да валидират приложението му като плазмен биомаркер на МИСУ. Търговски китове ELISA са налични за ендотелин-1 при пълх и човек.

Фибриноген

Фибриногенът е плазмен гликопротеин, синтезиран в черния дроб. Плазменият фибриноген е повишен при периферна артериална болест при човек¹² и при коронарни МИСУ при куче и мезентериални МИСУ при пълх.²⁸ Експресията на мРНК за фибриноген е повишена при мезентериално МИСУ на пълх.^{28, 60} Търговски ELISA китове са налични за фибриноген на пълх, куче и човек.

GRO/CINC-I

CINC от пълх е хомолог на GRO при човек и хомолог на интерлевкин-8, за който наскоро бе потвърдено повишение на нивото през първите 4 часа от развитието на МИСУ в мезентериум на пълх.^{31, 77}

Хаптоглобин

Хаптоглобинът се експресира основно от хепатоцитите; исхемията обаче активира експресията на мРНК за хаптоглобин в адипоцити. Хаптоглобинът се съхранява в гранулите на неутрофилите и се освобождава при активация, проявявайки противовъзпалителните си ефекти.⁷⁸ Плазменият хаптоглобин е повишен при мезентериално МИСУ при пълх.³¹ Плазменият хаптоглобин се измерва чрез мас-спектроскопия като биомаркер на съдо-

Вотто увреждане при хора^{78, 79} и пълхове.⁸⁰ Налични са търговски ELISA китове за хаптоглобин от пълх, куче и човек.

Металотионеин-I

Металотионеин-I свързва тежките метали и има антиоксидантна активност. Той се експресира в ендотелните клетки, макрофагите, фибробластите и адипоцитите и в човешки съдови лезии.⁸¹ Експресията на металотионеин-I е понижена при хора с ниско плазмено ниво на HDL-холестерола.⁸² мРНК за металотионеин-I е с повишена експресия при мезентериално МИСУ при пълхове.²⁸ Експресията на металотионеин-I в ендотелни клетки, гладкомускулни съдови клетки и фибробласти е потвърдена чрез *in situ* хибридизация, както и чрез повишена експресия на мРНК в спесимен, обогатен на ендотелни клетки, получен чрез лазерна микродисекция на мезентериално МИСУ от пълх.⁶⁰ Налични са търговски ELISA китове за металотионеин-I от пълх, куче и човек.

Моноцитен хемоатрактантен протеин 1

Моноцитният хемоатрактантен протеин 1 (MCP-1) се експресира в множество клетъчни типове, асоциирани със съдовете, включително ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, фибробласти, макрофази, мастоцити и адипоцити.⁸³⁻⁸⁶ Полиморфизмите на гена за MCP-1 корелират със серумното ниво на MCP-1 и прогнозата на съдовата болест при хора.^{87, 88} Повишена е експресията на мРНК за MCP-1 при коронарно МИСУ при куче.⁸⁹ Налични са търговски ELISA китове за MCP-1 на пълх, куче и човек.

Неутрофилен гелатиназо-асоцииран липокалин

Неутрофилният гелатиназо-асоцииран липокалин (NGAL) се експресира в ендотелни клетки, гладкомускулни клетки и макрофази при съдова болест при човек.⁹⁰ Съдовото увреждане повишава експресията на мРНК за NGAL в съдови гладкомускулни клетки при пълхове и хора.⁹¹ Серумното ниво на NGAL е в корелация с релапса на васкулита при хора.⁹² Налични са търговски ELISA китове за NGAL на пълх, куче и човек.

Остеопонтин

Остеопонтинът се експресира в ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, адвентициални фибробласти, макрофази и адипоцити. Компонент 3 от системата на комплемента се експресира от и индуцира експресията на остеопонтин в гладкомускулните клетки на пълхове.⁶⁸ Плазменото ниво на остеопонтин е асоциирано с наличието и степента на съдовата болест при хора.⁹³⁻⁹⁶ Повишена е експресията на мРНК за остеопонтин при мезенте-

риално МИСУ при пълхове.^{28, 60} Налични са търговски ELISA китове за остеопонтин на пълх, куче и човек.

Гладкомускулен актин

Гладкомускулният актин се експресира основно в гладкомускулните клетки, но така също и в микросъдови ендотелни клетки и адвентициални фибробласти.^{97, 98} Повишен брой на големи клетки, експресиращи алфа-гладкомускулен актин, е установен при мононуклеарни клетки от периферна кръв при коронарна артериална болест при човек.⁹⁹ Повишена е експресията на гладкомускулния актин в спесимени, обогатени с гладкомускулни клетки, взети чрез лазерна микродисекция от мезентериално МИСУ при пълх 1 до 4 часа след индукцията.⁶⁰ Понастоящем няма валидирани тестове за оценка на нивото на гладкомускулния актин в плазмата и циркулиращите мононуклеарни клетки при пълх или куче.

Тромбоспондин-1

Тромбоспондин-1 се експресира от множество клетъчни типове, асоциирани със съдовете, включително ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, фибробласти, макрофази, адипоцити и мастоцити. Ендотелното клетъчно увреждане корелира с нивото на тромбоспондин-1.¹⁰⁰ Експресията на прекурсор на тромбоспондин-1 е повишена при коронарно МИСУ при кучета⁸⁹ и в спесимени, обогатени с ендотелни клетки, взети чрез лазерна микродисекция от мезентериално МИСУ при пълхове 1 и/или 4 часа след индукцията.⁶⁰ Търговски китове ELISA са налични за тромбоспондин-1 при пълх, куче и човек.

Тъканен инхибитор на металопротеиназа-1

Тъканият инхибитор на металопротеиназа-1 (TIMP-1) се експресира в ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, фибробласти, макрофази и адипоцити. Експресията на TIMP-1 е по-висока в аортни гладкомускулни клетки от мъжки, отколкото от женски пълхове.¹⁰¹ Плазмените нива на TIMP-1 са повишени при съдова болест при хора.^{102, 103} Повишена е експресията на мРНК за TIMP-1 при коронарно МИСУ при кучета⁸⁹ и при мезентериално МИСУ при пълхове.²⁸ Търговски китове ELISA са налични за TIMP-1 при пълх, куче и човек.

Тъканен плазминогенов активатор

Тъканият плазминогенов активатор (tPA) се експресира в ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, фибробласти, макрофази и неутрофили. Серумното ниво на tPA е повишено при пурпурата на Хенох-Шонлайн, детски васкулит.¹⁰⁴ Експресията на мРНК за tPA е повишена при мезентериално МИСУ при пълх.^{28, 60} Търговски китове ELISA са налични за tPA при пълх, куче и човек.

Съдова клетъчна адхезионна молекула 1

Съдовата клетъчна адхезионна молекула 1 (VCAM-1) се експресира в ендотелни клетки, гладкомускулни клетки и макрофази. Серумното ниво на VCAM-1 е повишено при васкулит при човек.¹⁰⁵ Експресията на мРНК за VCAM-1 е повишена в ендотелни клетки при мезентериално МИСУ при плъх.⁶⁰ Търговски китове ELISA са налични за VCAM-1 при плъх, куче и човек.

Съдов ендотелен растежен фактор

Съдовият ендотелен растежен фактор (VEGF) се експресира в ендотелни клетки, гладкомускулни клетки, фибробласти, макрофази, мастоцити и атипични клетки. Серумното ниво на VEGF е ранен маркер за съдово увреждане, повишава се при остър васкулит при човек и се понижава при ремисия.^{106, 107} Серумното ниво на VEGF е повишено при мезентериално МИСУ при плъх и в спесимени, обогатени на ендотелни клетки, от мезентериално МИСУ при плъх.⁶⁰ Търговски китове ELISA са налични за VEGF при плъх, куче и човек.

Фактор на фон Вилебранд

Факторът на фон Вилебранд (VWF) е плазмен гликопротеин, имащ отношение към тромбоцитната адхезия на мястото на съдово увреждане, което действа като мост между нарушения субендотел и тромбоцитните рецептори. VWF корелира със съдовата болест при хора.^{5, 108} При пациенти с предлежача съдова болест VWF се повишава при остър коронарен синдром и степента на повишението му е независим предиктор за нежелан клиничен изход.¹⁰⁹ Експресията на мРНК за VWF е повишена в спесимени, обогатени на ендотелни клетки, от мезентериално МИСУ при плъх.⁶⁰ Търговски китове ELISA са налични за VWF при плъх, куче и човек.

Заклучение

Медикаментозно-индуцираното увреждане в пре-клинични условия често възпрепятства разработването на много медикаменти, които имат висок потенциал за терапията или превенцията на болести при човека. В момента не разполагаме с неинвазивни тестове за МИСУ поради липсата на биомаркери с достатъчна специфичност и чувствителност.

Литература

1. Mattes W. B., Walker, E. G. Translational Toxicology and the Work of the Predictive Safety Testing Consortium. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 85:327–330.
2. Brott D. A., Jones, H. B., Gould, S., Valentin, J. P., Evans, G., et al. Current Status and Future Directions for Diagnostic Markers of Drug-Induced Vascular Injury. *Cancer Biomark* 2005; 1:15–28.

3. Brott, D., Gould, S., Jones, H., Schofield, J., and Prior, H., et al. Biomarkers of Drug-Induced Vascular Injury. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 207(2 Suppl):441.
4. Kerns, W., Schwartz, L., Blanchard, K., Burchiel, S., Essayan, D., and Fung, E. et al. Drug-Induced Vascular Injury—A Quest for Biomarkers. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 203:62–87.
5. Boos, C. J., Balakrishnan, B., Blann, A. D., and Lip, G. Y. The Relationship of Circulating Endothelial Cells to Plasma Indices of Endothelial Damage/Dysfunction and Apoptosis in Acute Coronary Syndromes: Implications for Prognosis. *J Thromb Haemost* 2008; 6:1841–1850.
6. Koenig, W. and Khuseynova, N. Biomarkers of Atherosclerotic Plaque Instability and Rupture. *Arterioscler. Thromb Vase Biol* 2007; 27:15–26.
7. Koenig, W. Update on Integrated Biomarkers for Assessment of Long-Term Risk of Cardiovascular Complications in Initially Healthy Subjects and Patients with Manifest Atherosclerosis. *Ann Med* 2009; 16:1–12.
8. Lee, K. W., Blann, A. D., and Lip, G. Y. Inter-Relationships of Indices of Endothelial Damage/Dysfunction (Circulating Endothelial Cells, Von Willebrand Factor and Flow-Mediated Dilatation) to Tissue Factor and Interleukin-6 in Acute Coronary Syndromes. *Int J Cardiol* 2006; 111:302–308.
9. Packard, R. R. and Libby, P. Inflammation in Atherosclerosis: From Vascular Biology to Biomarker Discovery and Risk Prediction. *Clin Chem* 2008; 54:24–38.
10. Pearson, T. A., Mensah, G. A., Alexander, R. W., Anderson, J. L., Cannon R. O. III, 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; 107:499–511.
11. Tardif, J. C., Heinonen, T., Orloff, D., and Libby, P. Vascular Biomarkers and Surrogates in Cardiovascular Disease. *Circulation* 2006; 113:2936–2942.
12. Tzoulaki, I., Murray, G. D., Lee, A. J., Rumley, A., Lowe, G. D. et al. Inflammatory, Haemostatic, and Rheological Markers for Incident Peripheral Arterial Disease: Edinburgh Artery Study. *Eur Heart J* 2007; 28:354–362.
13. Vasan, R. S. Biomarkers of Cardiovascular Disease: Molecular Basis and Practical Considerations. *Circulation* 2006; 113:2335–2362.
14. Jokinen, M. P., Walker, N. J., Brix, A. E., Sells, D. M., Haseman, J. K., et al. Increase in Cardiovascular Pathology in Female Sprague-Dawley Rats Following Chronic Treatment with 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-P-Dioxin and 3, 3', 4,4', 5-Pentachlorobiphenyl. *Cardioovasc Toxicol* 2003; 3:299–310.
15. Baczako, K. and Dolderer, M. Polyarteritis Nodosa-Like Inflammatory Vascular Changes in the Pancreas and Mesentery of Rats Treated with Streptozotocin and Nicotinamide. *J Comp Pathol* 1997; 116:171–180.
16. Kerns, W. D., Arena, E., Macia, R. A., Bugelski, P. J., Matthews, W. D. et al. Pathogenesis of Arterial Lesions Induced by Dopaminergic Compounds in the Rat. *Toxicol Pathol* 1989; 17:203–213.
17. Kerns, W. D., Arena, E., Morgan, D. G. Role of Dopaminergic and Adrenergic Receptors in the Pathogenesis of Arterial Lesions Induced by Fenoldopam Mesylate and Dopamine in the Rat. *Am J Pathol* 1989; 135:339–349.
18. Degoutte, C. S. Controlled Hypotension: A Guide to Drug Choice. *Drugs* 2007; 67:1053–1076.
19. Greaves, P. Patterns of Cardiovascular Pathology Induced by Diverse Cardioactive Drugs. *Toxicol Lett* 2000; 112–113:547–552.
20. Hanton, G., Le Net, J. L., Ruty, B., Leblanc, B. Characterization of the Arteritis Induced by Infusion of Rats with UK-61, 260, an Inodilator, for 24 H. A Comparison with the Arteritis Induced by Fenoldopam Mesylate. *Arch Toxicol* 1995; 69:698–704.
21. Herman, E. H., Zhang, J., Chadwick, D. P., Ferrans, V. J. Age Dependence of the Cardiac Lesions Induced by Minoxidil in the Rat. *Toxicology* 1996; 110:71–83.
22. Ikegami, H., Shishido, T., Ishida, K., Hanada, T., Nakayama, H., et al. Histopathological and Immunohistochemical Studies on Arteritis Induced by Fenoldopam, a Vasodilator, in Rats. *Exp Toxicol Pathol* 2001; 53:25–30.

Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.