



Чаулин А.М.✉, Дупляков Д.В.

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

Самарский областной клинический кардиологический диспансер, Самара, Россия

Аналитический обзор современных сведений о физиологических и патохимических механизмах высвобождения из мышечной ткани кардиоспецифических белков, методологии и технологиях их исследования, трактовке результатов

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Чаулин А.М., Дупляков Д.В.; сбор и обработка данных – Чаулин А.М., Дупляков Д.В.; написание текста – Чаулин А.М.; редактирование статьи – Дупляков Д.В.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Подана: 07.02.2022

Принята: 07.03.2022

Контакты: alekseymichailovich22976@gmail.com

Резюме

Понимание механизмов высвобождения многих внутриклеточных молекул в биологические жидкости, включая кровь, имеет как фундаментальную, так и клиническую ценность. Это обусловлено тем, что внутриклеточные молекулы обладают почти абсолютной специфичностью и потому могут использоваться в качестве лабораторных биомаркеров для диагностики заболеваний человека и/или в качестве мишеней для терапевтических агентов. Одними из наиболее значимых и специфичных молекул в кардиологии считаются сердечные тропонины, определение содержания которых в крови повсеместно используется для верификации острого инфаркта миокарда. На сегодняшний день механизмы высвобождения сердечных тропонинов недостаточно изучены и, в частности, не установлены конкретные механизмы выхода данных молекул из клеток сердечной мышечной ткани у здоровых людей и при ряде форм патологии, оказывающих негативное влияние на клетки миокарда и сопровождающихся повышением уровней сердечных тропонинов в сыворотке крови. Стоит отметить, что методы, используемые для обнаружения сердечных тропонинов в крови, различаются по своим аналитическим характеристикам, включая чувствительность и специфичность, что может оказывать влияние на получение новых сведений о механизмах высвобождения сердечных тропонинов, а также о диагностической роли сердечных тропонинов. Весьма показательным тому примером является сравнение диагностической ценности современных высокочувствительных и умеренно чувствительных методов иммунологического анализа. Так, современные высокочувствительные тропониновые иммунологические тесты определения тропонина, в отличие от умеренно чувствительных, позволяют идентифицировать сердечные тропонины почти у всех здоровых индивидуумов и поднимают тем самым вопрос

о механизмах выхода тропонинов из клеток миокарда у здоровых людей. В данной статье проанализированы и обобщены сведения о наиболее возможных, на наш взгляд, механизмах высвобождения сердечных тропонинов и анализируется их потенциальная роль в диагностике.

Ключевые слова: лабораторная диагностика, инфаркт миокарда, повреждение миокарда, сердечные тропонины, механизмы высвобождения

Chaulin A.✉, Duplyakov D.

Samara State Medical University, Samara, Russia

Samara Regional Clinical Cardiology Dispensary, Samara, Russia

Analytical Review of Modern Information on the Physiological and Pathochemical Mechanisms of the Release of Cardiospecific Proteins from Muscle Tissue, Methodology and Technologies of Their Research, Interpretation of the Results

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: research concept and design of the study – Chaulin A., Duplyakov D.; data collection and processing – Chaulin A., Duplyakov D.; writing of the manuscript – Chaulin A.; editing of the manuscript – Duplyakov D.

Funding. The study had no funding.

Submitted: 07.02.2022

Accepted: 07.03.2022

Contacts: alekseymichailovich22976@gmail.com

Abstract

Understanding the mechanisms of release of many intracellular molecules into biological fluids, including blood, has both fundamental and clinical value. This is due to the fact that these intracellular molecules have almost absolute specificity and therefore can be used as laboratory biomarkers for the diagnosis of human diseases and/or as targets for therapeutic agents. One of the most significant and specific molecules in cardiology are cardiac troponins, which are widely used to verify acute myocardial infarction. To date, the mechanisms of cardiac troponin release have not been sufficiently studied, in particular, specific mechanisms for the release of these molecules from cardiac muscle tissue cells in healthy people and in a number of other pathologies that have a negative effect on myocardial cells and are accompanied by an increase in serum levels of cardiac troponins have not been established. It is worth noting that the methods used to detect cardiac troponins in the blood vary significantly in analytical characteristics, including sensitivity and specificity, which may influence our views on the mechanisms of cardiac troponin release and the diagnostic role of cardiac troponins. A very illustrative example of this is the comparison of the diagnostic value of modern (highly sensitive) immunoassays and moderately sensitive immunoassays. Thus, modern highly sensitive troponin immunoassays, unlike moderately sensitive ones, identify cardiac troponins in almost all healthy individuals and thereby raise the question of the mechanisms of troponin

release from myocardial cells in healthy people. This article summarizes the most possible mechanisms of cardiac troponin release in our opinion and analyzes their potential role in diagnosis.

Keywords: laboratory diagnostics, myocardial infarction, myocardial injury, cardiac troponins, release mechanisms

Тропонины (тропонин I, тропонин T, тропонин C) – белки, входящие в состав тропонинового комплекса, который связан с белком тропомиозином. Тропомиозин, в свою очередь, вместе с актином образует тонкие филаменты миоцитов – важнейший компонент контрактильного аппарата клеток поперечно-полосатой мускулатуры (скелетных и сердечной мышц). Все три тропонина участвуют в кальций-зависимой регуляции акта сокращения-расслабления поперечно-полосатой мускулатуры. Каждый тип тропонина выполняет строго определенные регуляторные функции в акте сокращения-расслабления исчерпанных мышц. Тропонин I является ингибирующей субъединицей тропомиозинового комплекса, связывающей актин в период расслабления и тормозящей АТФ-азную активность актомиозина, предотвращая таким образом мышечное сокращение в отсутствие ионов кальция в цитоплазме клеток. Тропонин T – регуляторная субъединица, прикрепляющая тропониновый комплекс к тонким филаментам и, следовательно, участвующая в кальций-регулируемом акте сокращения. Тропонин C – кальций-связывающая субъединица. Когда на мышечную клетку подается потенциал действия, происходит открытие кальциевых каналов в саркоплазматическом ретикулуме («депо ионов кальция»), и последний высвобождает ионы кальция в саркоплазму. Затем ионы кальция присоединяются к тропонину C, что приводит к конформационным (структурным) изменениям белков тропонин-тропомиозинового комплекса, в результате которых молекула тропомиозина сдвигается и освобождает участок связывания для головки миозина на актиновой нити. Это создает возможность для взаимодействия головки миозина с актином, что лежит в основе сокращения поперечно-полосатых мышц [1–3].

Молекулы тропонинов имеют различное аминокислотное строение в зависимости от локализации в сердечной и скелетной мышцах, на основании чего выделяют изоформы тропонинов. Так, тропонин I имеет три изоформы: сердечный тропонин I, тропонин I быстрых скелетных волокон и тропонин I медленных скелетных волокон. Тропонин T также существует в трех основных изоформах: сердечный тропонин T, тропонин T быстрых скелетных волокон и тропонин T медленных скелетных волокон. Согласно молекулярно-генетическим исследованиям аминокислотная последовательность сердечного тропонина T и сердечного тропонина I отличается примерно на 40–60% от аминокислотных последовательностей соответствующих изоформ скелетных тропонинов, локализованных в скелетных волокнах [1]. Эта важная структурная особенность позволяет использовать сердечные тропонины T и I в качестве специфических биомаркеров повреждения миокарда при остром инфаркте миокарда (ОИМ) и других внесердечных патологических состояниях [3–5]. Сердечный тропонин C, в противоположность тропонинам I и T, совершенно идентичен по аминокислотной структуре мышечному (скелетному) тропонину C, и повышенные уровни данного белка в крови не позволяют достоверно отличить повреждение сердечной

мышечной ткани и скелетных мышц и, следовательно, сердечный тропонин С не может использоваться в качестве кардиомаркера для диагностики ОИМ.

Хотя регламентирующие документы по диагностике и лечению различных форм острого коронарного синдрома (ОКС) и острого инфаркта миокарда (ОИМ) содержат четкие рекомендации о времени проведения тропониновых тестов и уровнях принятия решения, а диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность большинства иммунотестов приближается к 100%, все еще остается ряд нерешенных проблем и вопросов, касающихся использования данных маркеров в клинической практике. Часть этих проблем связана с многообразием тропониновых диагностикумов, их неодинаковой диагностической чувствительностью и диагностической точностью, разной восприимчивостью к перекрестно реагирующим веществам (молекулам), т. е. с различными аналитическими характеристиками тест-систем [1]. Другой ряд вопросов вызван тем, что повышение уровней сердечных тропонинов в крови возникает при некрозе миокарда любой этиологии, а иногда и в отсутствие необратимого повреждения миокарда (например, при обратимых повреждениях во время физических нагрузок, при почечной недостаточности или влиянии ложноположительных факторов) [1, 6, 7]. Согласно четвертому универсальному определению инфаркта миокарда (2018), повышение уровня сердечных тропонинов свидетельствует о «повреждении миокарда», однако без клинических признаков ишемии мышечной оболочки сердца повышенные уровни сердечных тропонинов не являются критерием для диагностирования ОИМ [8]. Так, помимо некроза кардиомиоцитов существуют и другие механизмы повреждения миокарда и высвобождения сердечных тропонинов из клеток миокарда и/или повышения концентрации сердечных тропонинов в сыворотке крови. Ряд клинических исследований свидетельствует об очень частом повышении концентрации сердечных тропонинов в крови при различных формах патологии [9, 10]. При этом механизм повышения содержания тропонинов в крови при данных заболеваниях никак не связан с ишемическим некрозом клеток миокарда – основной причиной повышения уровней тропонинов при ОИМ. Весьма показательным в данном плане является исследование, проведенное G. Lindner et al. [10]. Авторами осуществлен тщательный анализ причин (заболеваний), вызывающих повышение уровней сердечного тропонина Т у пациентов, поступивших в отделение неотложной медицины. В общей сложности в исследование было включено 1573 пациента, из которых только у 10% пациентов повышенный уровень сердечного тропонина Т был связан с ОИМ, тогда как у всех остальных пациентов (около 90%) не было никаких признаков ОИМ и повышенные уровни тропонина Т были обусловлены другими заболеваниями, вызывающими повышение сывороточных уровней тропонина Т по неишемическим механизмам.

Наиболее частыми причинами повышения тропонина Т были следующие: легочная эмболия, почечная недостаточность, острое расслоение аорты, сердечная недостаточность, острые миокардиты, рабдомиолиз, применение кардиотоксических химиопрепаратов, обострение хронической обструктивной болезни легких, сепсис и инфильтративные патологии сердца (например, амилоидоз). Интересной находкой при выполнении данного исследования явилось то, что в 30% случаев повышенные уровни тропонина Т не поддавались никакому объяснению, поскольку не были связаны ни с какими из ранее описанных в литературе причин повышения уровня сердечных тропонинов [10]. Существует высокая вероятность того, что эти причины могли быть связаны с пока еще не раскрытыми механизмами либо факторами,

на которые исследователи и практикующие врачи пока не обращали внимания и не описывали в литературе. Таким образом, интерпретация повышенных результатов сердечных тропонинов является крайне сложной, а иногда и непосильной задачей в современной клинической практике. Следовательно, важно помнить, что тропониновый тест сам по себе не является «золотым стандартом» диагностики острого инфаркта миокарда (ОИМ), но может стать таковым только у тех пациентов, которые имеют типичные клинические симптомы ишемии миокарда, соответствующие ишемические изменения на электрокардиограмме, эхокардиограмме и т. д.

Благодаря использованию в клинической практике современных ультрачувствительных диагностических тестов у практикующих врачей появилась возможность проводить раннюю диагностику ОИМ (в первые два часа от момента поступления пациентов) путем оценки характерной динамики изменений содержания сердечных тропонинов в крови. Изменения (прирост) концентрации молекул сердечных тропонинов в первые два часа развития заболевания крайне малы (могут составлять всего несколько нг/л) и не улавливаются умеренно чувствительными тест-системами. Следует отметить, что благодаря ряду крупных многоцентровых исследований были валидированы ранние диагностические алгоритмы (0 → 1 час, и 0 → 2 часа) ОИМ без подъема сегмента ST (NSTEMI) с использованием ультрачувствительных тест-систем разных производителей (табл. 1) [11].

Таблица 1
Ранние диагностические алгоритмы исключения/подтверждения NSTEMI (0 → 1 час и 0 → 2 часа), одобренные Европейским обществом кардиологов (EOK)

Table 1
Early diagnostic algorithms of exclusion/confirmation of NSTEMI (0 → 1 hour and 0 → 2 hours) approved by European Society of Cardiology (ESC) [11]

Одночасовой алгоритм диагностики NSTEMI					
Тропониновый иммуноанализ, компания (производитель)	Концентрация биомаркера, которая свидетельствует о крайне низкой вероятности диагноза NSTEMI, нг/л	Концентрация биомаркера, которая свидетельствует о низкой вероятности диагноза NSTEMI, нг/л	Изменения концентрации биомаркера через 1 час, при которой следует исключить диагноз NSTEMI, нг/л	Концентрация биомаркера, которая свидетельствует о высокой вероятности диагноза NSTEMI, нг/л	Изменения биомаркера через 1 час, при которой следует подтвердить NSTEMI, нг/л
Высокочувствительный сердечный тропонин T (Elecys; Roche)	<5	<12	<3	≥52	≥5
Высокочувствительный сердечный тропонин I (Architect; Abbott)	<4	<5	<2	≥64	≥6
Высокочувствительный сердечный тропонин I (Centaur; Siemens)	<3	<6	<3	≥120	≥12
Высокочувствительный сердечный тропонин I (Access; Beckman Coulter)	<4	<5	<4	≥50	≥15

Окончание таблицы 1

Двухчасовой алгоритм диагностики NSTEMI					
Тропониновый иммуноанализ, компания (производитель)	Концентрация биомаркера, которая свидетельствует о крайне низкой вероятности диагноза NSTEMI, нг/л	Концентрация биомаркера, которая свидетельствует о низкой вероятности диагноза NSTEMI, нг/л	Изменения концентрации биомаркера через 2 часа, при которой следует исключить диагноз NSTEMI, нг/л	Концентрация биомаркера, которая свидетельствует о высокой вероятности диагноза NSTEMI, нг/л	Изменения биомаркера через 2 часа, при которой следует подтвердить NSTEMI, нг/л
Высокочувствительный сердечный тропонин T (Elecsys; Roche)	<5	<14	<4	≥52	≥10
Высокочувствительный сердечный тропонин I (Architect; Abbott)	<4	<6	<2	≥64	≥15
Высокочувствительный сердечный тропонин I (Centaur; Siemens)	<3	<8	<7	≥120	≥20
Высокочувствительный сердечный тропонин I (Access; Beckman Coulter)	<4	<5	<5	≥50	≥20

С применением современных (ультрачувствительных) методов исследования тропонинов молекулы сердечных тропонинов были выявлены в крови и в ряде других биологических жидкостей почти у всех здоровых людей [12–14], что ставит перед исследователями новые вопросы и задачи по поиску и объяснению возможных механизмов, лежащих в основе высвобождения молекул тропонинов из жизнеспособных кардиомиоцитов. Таким образом, обнаружение в биологических жидкостях молекул сердечных тропонинов в какой-то степени (если их концентрация не превышает верхнюю планку 99-го перцентиля) можно считать нормальными продуктами метаболизма сердечной мышечной ткани. Однако конкретные механизмы их высвобождения пока не ясны и носят только гипотетический характер. Кроме того, для исследователей и практикующих врачей важное значение будут иметь факторы, способные повлиять и усилить или, напротив, – ослабить высвобождение тропонинов. В настоящее время наиболее обсуждаемыми биологическими факторами, влияющими на степень высвобождения тропонинов из миокарда здоровых людей, являются гендерные, возрастные и циркадные особенности [15–17]. Гендерные особенности сердечных тропонинов заключаются в том, что из миокарда здоровых мужчин высвобождается больше молекул сердечных тропонинов, чем из миокарда здоровых женщин [12, 15]. Эти особенности валидированы многими клиническими исследованиями, и с использованием практически всех современных тест-систем рекомендуется ориентироваться на пороговые значения (99-й перцентиль) в соответствии с гендерной принадлежностью. Возрастные особенности сердечных тропонинов заключаются в том, что из миокарда пожилых пациентов высвобождается большее

количество молекул сердечных тропонинов по сравнению с таковым, высвобождаемым из миокарда молодых людей [12, 15, 16]. Циркадные особенности сердечных тропонинов заключаются в том, что из миокарда здоровых людей в утренний период времени высвобождается больше молекул сердечных тропонинов, чем из миокарда здоровых людей в вечерне-ночной период времени [17]. Стоит отметить, что возрастные и циркадные особенности изменения уровней сердечных тропонинов представляется возможным выявлять с использованием не всех зарегистрированных тест-систем, и, по данным некоторых исследований, они имеют противоречивый характер. Перед использованием установленных сведений о данных особенностях циркадных изменений в быстрых диагностических алгоритмах необходимо проведение дополнительных крупных исследований, направленных на валидацию возрастных и циркадных особенностей сердечных тропонинов.

Высвобождение сердечных тропонинов из клеток миокарда: механизмы и диагностическое значение

Внедрение в практику высокочувствительных тест-систем позволило с высокой точностью (вариабельностью исследования в пределах 10%) определять очень низкие концентрации сердечных тропонинов в сыворотке крови, составляющие от 0,001 до 0,01 мкг/л и находящиеся ниже значений, соответствующих 99-му перцентилю (верхней границе нормы). В итоге молекулы сердечных тропонинов были обнаружены почти у 100% здоровых людей, а вместо четкого пограничного уровня, характерного для ОИМ, появилась плавная шкала, способная отражать субклиническую патологию миокарда, связанную со структурными (неишемическими) повреждениями, стабильными заболеваниями коронарных артерий и другими патологическими состояниями, которые негативно влияют на клетки миокарда [1, 5, 8, 18–20]. Учитывая тот факт, что молекулы сердечных тропонинов стали выявляться у всех здоровых людей, возникла необходимость для изучения и объяснения механизмов высвобождения сердечных тропонинов из интактного миокарда [1]. В связи с этим исследователями обсуждаются следующие возможные механизмы выхода молекул тропонинов и повышения их сывороточных уровней: а) высвобождение сердечных тропонинов в результате процессов регенерации и обновления клеток миокарда; б) высвобождение сердечных тропонинов в результате апоптоза клеток миокарда; в) высвобождение сердечных тропонинов в результате образования мембранных везикул на поверхности клеток миокарда; г) внутриклеточная протеолитическая деградация молекул сердечных тропонинов на небольшие фрагменты и высвобождение последних через интактную мембрану клеток миокарда; д) высвобождение сердечных тропонинов в результате повышения мембранной проницаемости клеток миокарда; е) высвобождение сердечных тропонинов в результате маломасштабного (субклинического) некроза кардиомиоцитов; ж) высвобождение сердечных тропонинов из внесердечных клеток. Некоторые из перечисленных механизмов высвобождения могут объяснять не только определяемые концентрации сердечных тропонинов крови у здоровых индивидуумов, но и значительно активироваться/усиливаться при определенных физиологических условиях и патологических процессах [6, 7, 12]. Так, например, апоптоз клеток миокарда может усиливаться при повышении артериального давления [21], растяжении стенок миокарда [22], усилении стимуляции бета-адренергических рецепторов [23] и ряде других механизмов [24],

которые тем самым могут способствовать высвобождению сердечных тропонинов из кардиомиоцитов. А в условиях хронической почечной недостаточности отмечается экспрессия сердечных тропонинов в скелетных мышцах [25], что, по мнению некоторых авторов, может приводить к повышению концентраций сердечных тропонинов в сыворотке крови пациентов, страдающих хронической почечной недостаточностью. Описание возможных механизмов высвобождения сердечных тропонинов представлено в следующих разделах статьи.

Высвобождение сердечных тропонинов в результате процессов регенерации и обновления клеток миокарда

Доказательства того, что клетки миокарда могут регенерировать/обновляться, были получены при изучении метаболизма C^{14} -меченых молекул ДНК в клетках миокарда. Проводилось длительное наблюдение за лицами, у которых было зафиксировано включение радиоактивного изотопа углерода (C^{14}) в ДНК кардиомиоцитов, произошедшее в результате испытаний ядерного оружия. Авторы (Beganskaya L.A., Bergmann O. et al.) производили расчет скорости обновления кардиомиоцитов при помощи исследования скорости синтеза ДНК, расчет которой производился посредством изучения скорости аккумуляции C^{14} в клетках миокарда. Обнаружено обновление кардиомиоцитов, интенсивность которого ежегодно снижалась – с 1% в год в возрасте 25 лет до 0,45% в год – в возрасте 75 лет. В целом на протяжении жизни обновлению подверглись около 50% кардиомиоцитов [26, 27]. Эти результаты свидетельствуют о существовании небольшого регенераторного потенциала у клеток миокарда. Некоторые исследователи предполагают, что процесс обновления клеток миокарда может быть связан с высвобождением сердечных тропонинов из клеток [28], однако конкретный механизм, лежащий в основе этого явления, остается неизвестным. В качестве возможной гипотезы можно предположить, что внутриклеточные молекулы кардиомаркеров, включая сердечные тропонины, выходят из постепенно стареющих и естественно умирающих кардиомиоцитов в результате постепенного разрушения клеточной мембраны. Поскольку скорость обновления кардиомиоцитов невелика, то и степень повышения сывороточных уровней сердечных тропонинов тоже незначительна (не выше 99-го перцентиля). Таким образом, данный механизм гипотетически может объяснять наличие небольшого количества молекул сердечных тропонинов в кровотоке у всех здоровых индивидуумов.

В соответствии с данными других исследователей средняя скорость обновления кардиомиоцитов у млекопитающих составляет 0,5–2,0% в год и может варьировать в зависимости от влияния определенных факторов, таких как физиологические условия (физические нагрузки), травмы и сопутствующие заболевания. Так, скорость обновления кардиомиоцитов значительно возрастает после повреждений миокарда. В экспериментальном исследовании, проведенном P. Docshin et al., показано, что ишемическое повреждение миокарда вызывает активацию эндогенных стволовых клеток и усиливает скорость обновления клеток миокарда [29]. Двумя другими группами исследователей под руководством С. Waring et al. [30] и М. Rovira с соавт. [31] было выявлено усиление процессов пролиферации и дифференцировки стволовых клеток в миокарде крыс и рыбок Данио.

Однако на оценку степени регенерации и скорости обновления клеток миокарда определенное влияние могут оказывать воспалительные процессы, пролиферация

немиоцитарных клеток и образование соединительнотканного рубца в миокарде, которые нередко затрудняют и/или искажают результаты исследований [32].

Необходимы дальнейшие исследования для изучения конкретной роли возможных регенераторных механизмов в высвобождении сердечных тропонинов из клеток.

Высвобождение сердечных тропонинов в результате апоптоза клеток миокарда

К настоящему времени открыто немало количество факторов, которые могут запускать процессы апоптоза кардиомиоцитов. Индукция апоптоза приводит к повышению активности каспаз (протеолитических ферментов семейства цистеиновых протеаз), которые могут фрагментировать (повреждать) молекулы ДНК и белков, приводя к гибели клетки. В отличие от некроза, при апоптозе клетка погибает более медленно, целостность клеточной мембраны сохраняется значительно дольше, и воспалительная реакция вокруг погибшей клетки не наблюдается. Для изучения процессов апоптоза используется множество методов: различные виды микроскопии (световая, электронная, флуоресцентная), проточная цитометрия, иммуногистохимические исследования, метод TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) dUTP Nick-End Labeling) и др. Метод TUNEL является наиболее надежным и ранним способом для выявления апоптоза. Этот метод позволяет визуализировать ядра клеток, в которых молекула ДНК была фрагментирована из-за повышенной активности эндонуклеаз и каспаз. Данный метод чаще всего используется во всех современных исследованиях, направленных на изучение этиопатогенетических механизмов апоптоза различных клеток, в том числе кардиомиоцитов [33, 34].

В экспериментальном исследовании под руководством B. Weil et al. было показано, что кратковременная ишемия активирует апоптоз клеток миокарда у подопытных животных и апоптоз кардиомиоцитов сопровождается повышением уровней сердечных тропонинов в сыворотке крови. Кратковременная ишемия миокарда моделировалась посредством баллонной окклюзии ветви левой коронарной артерии, и факт окклюзии подтверждали коронарографией. Длительность ишемии составляла 10 минут, после чего проводилась реперфузия путем сдувания баллона. Для подтверждения апоптоза клеток миокарда использовался метод TUNEL, по результатам которого количество кардиомиоцитов, находящихся в состоянии апоптоза, было значительно увеличено (в 6 раз по сравнению с контрольной группой животных). При этом не было зафиксировано гистологических признаков некроза миокарда. Это говорит о том, что кратковременная (в данном случае 10-минутная) ишемия не вызывает ишемический некроз кардиомиоцитов, но усиливает апоптотические процессы в миокарде. Однако уровни сердечных тропонинов стали стремительно повышаться: через 30 минут после реперфузии концентрация тропонина I приблизилась к верхней границы нормы (38 нг/л), а через 1 час превысила ее (51±17 нг/л). Через 2 и 3 часа после реперфузии уровни сердечного тропонина I в сыворотке крови были равны 148±88 нг/л и 180±117 нг/л соответственно, что свидетельствовало о продолжающемся высвобождении молекул тропонинов из миокарда. И, наконец, через 24 часа после реперфузии концентрация тропонина I достигла пика и составила 1021±574 нг/л [34].

Таким образом, данное экспериментальное исследование четко демонстрирует роль апоптоза (индуцированного кратковременной ишемией) в высвобождении

молекул сердечных тропонинов из клеток миокарда. Ограничением данного исследования является относительно кратковременный интервал изучения сердечной мышечной ткани на наличие гистопатологических изменений; к тому же по данным результатам невозможно установить степень и обратимость повреждения сердечных миоцитов во время апоптоза, индуцированного кратковременной ишемией. Кроме того, для определения сердечного тропонина I использовалась умеренно чувствительная тест-система (твердофазный иммуноферментный анализ, ELISA), которая по диагностическим возможностям уступает современным высокочувствительным иммунологическим технологиям. В связи с этим динамические изменения уровней сердечных тропонинов, определенных высокочувствительными методами иммунологического анализа в период апоптоза, могли бы значительно отличаться, особенно в первые минуты и часы после реперфузии. В целом при использовании разных иммунологических методов врачи/исследователи будут получать различные результаты из-за разных аналитических характеристик тест-систем, поэтому нельзя сравнивать результаты, полученные тропониновыми диагностикумами различных производителей. Необходимо ориентироваться на конкретные данные, предоставленные производителем того или иного иммуноанализа. Кроме того, при анализе полученных результатов клинических и экспериментальных исследований следует учитывать, что для последних характерны межвидовые особенности сывороточных уровней тропонинов, т. к. экспериментальные исследования могут проводиться на разных видах подопытных животных. На молекулярном уровне межвидовые различия концентраций тропонинов обусловлены тем, что аминокислотное строение тропонинов у разных видов подопытных животных и человека значительно отличается. Диагностические антитела направлены строго против определенных эпитопов (групп аминокислот), и если этих эпитопов не будет у других видов, то диагностические антитела не будут образовывать антиген-антительные комплексы и иммуноанализ «не увидит» молекулы сердечных тропонинов. Так, например, по данным В.С. Камышникова, референтная граница для сывороточных уровней сердечного тропонина I (у человека), определенных при помощи радиоиммунного и иммуноферментного анализов, составляет 400 нг/л [35]. Тогда как у тропонинового иммуноанализа (предназначенного для определения тропонинов у подопытных свиней), используемого В. Weil et al., верхняя граница нормы для тропонина I составляет 38 нг/л, т. е. практически в 10 раз меньше. В дополнение к межвидовым особенностям, как правило, у более чувствительных тропониновых иммуноанализов верхняя граница нормы выше, чем у менее чувствительных. У современных ультрачувствительных иммуноанализов в качестве верхней референтной границы используются и еще более низкие значения, позволяющие диагностировать ОИМ и выбрать тактику терапии раньше (в первые 1–2 часа) [11].

В литературе описаны и другие ситуации, когда апоптоз сердечных миоцитов индуцируется по другим механизмам, которые не связаны с обратимой (кратковременной) ишемией сердечной мышечной ткани [34, 36–39]. Авторы выделяют следующие механизмы апоптоза, которые могут способствовать высвобождению сердечных тропонинов из клеток миокарда: растяжение стенок миокарда, увеличение преднагрузки на сердце и усиление активности симпатoadреналовой системы. Так, W. Cheng et al. сообщил, что апоптоз клеток миокарда усиливается при растяжении стенок миокарда [36]. Это позволяет рассматривать многие физиологические

и патологические состояния, которые вызывают растяжение стенок миокарда, в качестве возможных индукторов апоптоза, и они тем самым могут в какой-то степени объяснять повышенные сывороточные уровни у пациентов после длительных и интенсивных физических нагрузок, артериальной гипертензии, легочной эмболии, хронической обструктивной болезни легких и при ряде других патологий.

В своем другом экспериментальном исследовании B. Weil et al. пришли к выводу, что увеличение преднагрузки на сердце запускает апоптоз и вызывает повышение концентрации тропонина I в крови подопытных животных. Для повышения преднагрузки на сердце опытная группа животных внутривенно получала лекарственный препарат – фенилэфрин (300 мкг препарата в минуту) в течение одного часа. После моделирования для подтверждения перегрузки миокарда использовалась эхокардиография, а для верификации апоптоза и определения уровней сердечных тропонинов использовались гистологические методы, включая метод TUNEL и умеренно чувствительный иммуноанализ соответственно. В результате гистологического исследования миокарда опытной группы животных было отмечено значительное повышение количества кардиомиоцитов, находящихся в состоянии апоптоза по сравнению с группой контроля. При этом не было зафиксировано гистологических признаков некроза миокарда. Через 24 часа после моделирования численность кардиомиоцитов, находящихся в состоянии апоптоза, уменьшилась до уровня контрольной группы, что говорит об обратимости апоптотических изменений. Концентрация тропонина I превысила верхнюю границу нормы через 30 минут после моделирования, и далее уровни тропонина I продолжили резко повышаться и достигли значения 856 ± 956 нг/л через 1 час после моделирования. Сывороточные уровни сердечного тропонина I оставались повышенными на протяжении всего периода исследования (24 часа) и достигали пиковых значений $1,462 \pm 1,691$ нг/л [37]. Поскольку признаки некроза в отличие от апоптоза не наблюдались, то следует считать, что апоптоз, индуцированный перегрузкой миокарда, играет важную роль в высвобождении молекул сердечных тропонинов из клеток.

Степень высвобождения молекул сердечных тропонинов из клеток миокарда в результате апоптоза, индуцированного перегрузкой миокарда, зависит от силы и длительности воздействия. Например, относительно небольшая перегрузка миокарда отмечается при физической нагрузке легкой и умеренной интенсивности, гипертензии, немассивной легочной эмболии и нетяжелых формах хронической обструктивной болезни легких, поэтому степень повышения сывороточных уровней сердечных тропонинов при этих состояниях также относительно невелика. Но, например, при физических нагрузках высокой интенсивности, обострении хронической обструктивной болезни легких или массивной легочной эмболии перегрузка миокарда становится гораздо более значительной, поэтому данные состояния сопровождаются относительно более высокими сывороточными уровнями сердечных тропонинов [40–42].

Еще одним весьма интересным механизмом инициации апоптоза является усиление активности симпатoadреналовой системы. Исследовательская группа под руководством K. Singh et al. установила, что стимуляция бета-адренорецепторов (β -AP) регулирует внутриклеточные апоптотические сигнальные пути в кардиомиоцитах. Причем стимуляция β 1-AP усиливает апоптоз клеток миокарда, а стимуляция β 2-AP оказывает противоположный эффект [43]. Также было отмечено, что с возрастом

плотность подтипов β -АР значительно изменяется. Так, у пожилых пациентов отмечается более выраженное снижение численности $\beta 2$ -АР, что может способствовать ослаблению противоапоптотического влияния и, соответственно, усилению апоптоза клеток миокарда. Более высокая степень апоптоза у пожилых пациентов, вероятно, может быть связана с возрастными особенностями уровней сердечных тропонинов: у пожилых людей уровни тропонинов достоверно выше, чем у молодых [44, 45]. Возрастные особенности сердечных тропонинов были продемонстрированы в ряде клинических исследований при анализе крови высокочувствительными тест-системами [12, 15, 16].

Учитывая изложенное, апоптоз кардиомиоцитов следует рассматривать в качестве значимого механизма высвобождения молекул сердечных тропонинов из клеток миокарда. Этот механизм не связан с некрозом кардиомиоцитов и способствует весьма значимому повышению сывороточных уровней сердечных тропонинов. Апоптоз клеток миокарда может иметь важное диагностическое значение при таких состояниях, как длительные и интенсивные физические нагрузки, артериальная гипертензия, легочная эмболия, сердечная недостаточность и, вероятно, в пожилом возрасте. Необходимы дальнейшие исследования для уточнения точной роли апоптоза в высвобождении сердечных тропонинов при физиологических и патологических состояниях.

Высвобождение сердечных тропонинов в результате образования мембранных везикул на поверхности клеток миокарда

Данный механизм выхода сердечных тропонинов из клеток миокарда впервые был описан в экспериментальном исследовании относительно давно. Исследовательская группа под руководством P. Schwartz сообщила, что на плазматической мембране клеток миокарда образуются мембранные везикулы (блебинг-везикулы) [46]. И во время ишемии количество блебинг-везикул увеличивается по сравнению с их содержанием в интактных клетках миокарда. Подобная тенденция также характерна и для гепатоцитов [47]. Поскольку данные везикулы формируются из фрагментов клеточной мембраны и цитоплазмы кардиомиоцитов, то эти везикулы, вероятно, могут содержать в своем составе некоторые цитоплазматические белки клеток миокарда, в частности кардиомаркеры (креатинкиназу МВ изоформу, миоглобин и цитоплазматическую фракцию сердечных тропонинов и другие). Однако, поскольку объем цитоплазматической фракции сердечных тропонинов невелик (приблизительно 3–4% тропонина I и 7–8% тропонина Т от общего количества тропонинов в кардиомиоците), то и вклад данного механизма в степень повышения сывороточных уровней сердечных тропонинов также будет ограничен. Исходя из особенностей формирования блебинг-везикул (значительное увеличение при ишемии), можно предполагать участие данного механизма в высвобождении сердечных тропонинов при тех патологических состояниях, которые сопровождаются ишемией клеток миокарда уже на ранних этапах. Так, например, начальная (донекротическая) стадия ишемии миокарда может провоцировать образование блебинг-везикул и выход тропонинов в кровоток, что приведет к формированию первого пика «сывороточной» концентрации сердечных тропонинов. В последующем возможно два основных варианта развития событий: 1) при уменьшении ишемии клеток миокарда образование блебинг-везикул прекращается и концентрации тропонинов быстро приходят в норму;

2) при продолжении/усилении ишемии (как, например, во время ОИМ) образование блембинг-везикул усиливается и в дополнение к этому происходит разрушение плазматической мембраны клеток миокарда и протеолиз (фрагментация) тропониновых белков, которые входят в состав основной (структурной или контрактильной фракции тропонинов), что приведет к формированию второго пика сывороточных концентраций сердечных тропонинов. С патогенетической точки зрения любое физиологическое или патологическое состояние, приводящее к ишемии клеток миокарда (даже обратимой ишемии миокарда), может активировать данный механизм выхода сердечных тропонинов. Например, некоторые физиологические состояния (физические нагрузки) [6] или патологические состояния (сепсис) [48] могут вызывать повышение потребности клеток миокарда в кислороде, что, соответственно, будет сопровождаться ишемией сердечной мышечной ткани.

Внутриклеточная протеолитическая деградация молекул сердечных тропонинов на небольшие фрагменты и высвобождение последних через интактную мембрану клеток миокарда

Размер и локализация внутриклеточных молекул являются двумя ключевыми факторами, от которых зависит транспортировка (высвобождение) молекул через клеточную мембрану. Низкомолекулярные биомаркеры гораздо интенсивнее высвобождаются через плазматическую мембрану, что играет роль в диагностике многих заболеваний, включая формы сердечно-сосудистой патологии. Так, например, при развитии ОИМ концентрация низкомолекулярных кардиомаркеров (миоглобина) в сыворотке крови повышается значительно раньше, чем концентрация высокомолекулярных кардиомаркеров (лактатдегидрогеназы-1) [2, 49]. Это объясняется тем, что молекулы миоглобина имеют небольшой размер и могут выходить на начальных стадиях ишемии при развитии ОИМ (когда плазматическая мембрана клеток миокарда еще относительно незначительно повреждена). Более крупная молекула (лактатдегидрогеназа-1) может выйти из кардиомиоцита только тогда, когда его клеточная мембрана будет значительно повреждена. Биомаркеры, свободно локализованные в цитоплазме клеток (например, миоглобин, цитоплазматическая (несократительная) фракция тропонинов), также имеют преимущества при высвобождении из клетки, в отличие от тех биомаркеров, которые локализованы в органеллах (ядре или митохондриях клеток) или прочно связаны со структурными компонентами саркоплазмы (например, структурная фракция тропонинов, участвующая в регуляции контрактильной фракции миокарда). Так, при развитии ОИМ первоначально высвобождаются молекулы тропонинов, входящие в состав цитоплазматической фракции сердечных тропонинов, а уже потом происходит разрушение саркомеров, в частности тропонин-тропомиозинового комплекса, и высвобождение структурных сердечных тропонинов.

Важнейшим фактором, который может повлиять на размер молекулы (биомаркера) и, соответственно, возможность его высвобождения, является степень активности ферментов, которые вызывают протеолиз (фрагментацию) данной молекулы. Активность протеолитических ферментов может меняться как в физиологических, так и патологических условиях. В экспериментальном исследовании, проведенном J. Feng et al., продемонстрировано, что повышение преднагрузки на сердечную мышечную ткань вызывает активацию фермента кальпаина, который фрагментирует молекулу

сердечного тропонина I, что потенциально может играть роль в высвобождении данного биомаркера из клеток миокарда и повышении его уровня в сыворотке крови [50]. Тем самым, физиологические и патологические состояния, вызывающие повышение преднагрузки на стенку миокарда, могут способствовать высвобождению сердечных тропонинов из клеток миокарда по данному механизму.

Помимо фермента кальпаина, расщепление молекул сердечных тропонинов может катализировать некоторые разновидности матриксных металлопротеиназ (ММП-2 и ММП-14) [51] и фермент тромбин [52]. На активность данных ферментов также могут оказывать влияние патологические процессы и некоторые лекарственные препараты, которые тем самым гипотетически могут влиять на сывороточные уровни сердечных тропонинов [53, 54]. Так, например, повышение активности тромбина у пациентов с дилатационной кардиомиопатией [55] может способствовать фрагментации сердечного тропонина T, что может иметь как патогенетическое значение (повреждение тропонина T, являющегося одним из основных компонентов сократительного аппарата кардиомиоцитов), так и диагностическую ценность: уменьшение размера молекулы тропонина T в результате фрагментирования и возможное усиление высвобождения данных фрагментов в кровоток.

Изменение кислотности (pH) также может модулировать активность внутриклеточных протеолитических ферментов. Так, патологические состояния, которые нарушают метаболизм миокарда, в частности ишемия миокарда, приводят к переключению аэробного метаболизма миокарда на анаэробный и повышению образования молочной кислоты, которая сдвигает pH в сторону ацидоза. В условиях ацидоза, в свою очередь, активируются протеолитические и проапоптотические ферменты, которые посредством фрагментации не могут не способствовать образованию множества мелких фрагментов (молекул) сердечных тропонинов, что повысит вероятность их высвобождения из клеток миокарда в кровоток.

Высвобождение сердечных тропонинов в результате повышения мембранной проницаемости клеток миокарда

Мембранная проницаемость клеток миокарда является важным фактором, играющим роль в высвобождении молекул кардиомаркеров из клеток миокарда в кровоток. На основании анализа результатов существующих экспериментальных данных можно выделить два основных механизма, которые лежат в основе изменения (повышения) мембранной проницаемости клеток миокарда: 1) повышение мембранной проницаемости клеток миокарда вследствие повышения нагрузки на миокард и растяжения его стенок; 2) повышение мембранной проницаемости клеток миокарда в результате ишемии миокарда и активации протеолитических ферментов, которые способны повреждать мембрану клеток.

Первый механизм высвобождения сердечных тропонинов изучался M. Hessel et al. [56]. В своем экспериментальном исследовании авторы стимулировали специальные гликопротеиновые рецепторы клеток миокарда (интегрины), чувствительные к растяжению миокарда. Для моделирования растяжения миокарда и активации интегринов исследователи использовали трипептид RGD (Arg-Gly-Asp), являющийся сильным агонистом интегринов и входящий в состав фибронектина и других регуляторных белков внеклеточного матрикса [56, 57]. Авторами отдельно отмечено, что растяжение миокарда не связано с ишемическими и некротическими процессами

в сердечной мышечной ткани, что свидетельствует о том, что за высвобождение сердечных тропонинов из жизнеспособных клеток миокарда был ответственен именно специфический механизм растяжения стенки миокарда и активации интегринов.

Второй механизм повышения мембранной проницаемости связан с повреждением мембран при ишемии клеток миокарда. Ишемия миокарда инициирует изменения метаболизма кардиомиоцитов и закисление (ацидоз) внутриклеточного пространства клеток миокарда, что, в свою очередь, приведет к активации протеолитических и проапоптотических ферментов. Данные ферменты имеют множество мишеней и помимо специфического действия (фрагментации сердечных тропонинов), очевидно, могут катализировать протеолиз белков, входящих в состав клеточных органелл и мембран [58, 59]. Таким образом, данный механизм повышения тропонинов тесно взаимосвязан с описанным механизмом (повышения уровня тропонинов из-за усиления протеолитической деградации структур на небольшие фрагменты). В целом повышение мембранной проницаемости и внутриклеточную фрагментацию сердечных тропонинов можно рассматривать в качестве двух взаимосвязанных и синергетических механизмов, лежащих в основе высвобождения молекул сердечных тропонинов из клеток миокарда. Степень активности данных механизмов, вероятно, связана со степенью тяжести патологических процессов. Так, например, кратковременная и/или обратимая ишемия клеток миокарда во время физической нагрузки, неосложненного сепсиса может быть связана с относительно небольшим повышением активности внутриклеточных протеолитических ферментов. В связи с этим степень повышения сывороточных уровней сердечных тропонинов также будет относительно невелика и обусловлена только цитоплазматической фракцией сердечных тропонинов (их фрагментацией на небольшие молекулярные фрагменты) и обратимым повреждением мембран / повышением мембранной проницаемости. При патологических состояниях, вызывающих необратимую ишемию клеток миокарда (например, ОИМ или тяжелый/осложненный сепсис), сывороточные уровни тропонинов повышаются гораздо более значительно и основной вклад в общие сывороточные уровни сердечных тропонинов будет вносить структурная фракция сердечных тропонинов. Как белки тропонин-тропомиозинового комплекса, так и белки мембран кардиомиоцитов будут активнее фрагментироваться (расщепляться), и поэтому степень высвобождения сердечных тропонинов при этих патологиях будет выше.

Высвобождение сердечных тропонинов в результате маломасштабного (субклинического) некроза кардиомиоцитов

Возможным механизмом, лежащим в основе высвобождения сердечных тропонинов, являются маломасштабные некротические процессы, которые могут быть обусловлены как ишемией, так и воспалительно-токсическими процессами, дисбалансами в нейрогуморальной системе [1].

Так, по мнению некоторых исследователей, регулярные тяжелые физические нагрузки, миокардиты и стрессовые ситуации могут вызывать субклинические повреждения ткани миокарда (гибель единичных кардиомиоцитов), что впоследствии может быть ассоциировано с формированием относительно небольших участков фиброза и повышением риска внезапной сердечной смерти. Так, например, неблагоприятное влияние серьезных и/или интенсивных физических нагрузок

подтверждается рядом исследований и описанными клиническими случаями, в которых у спортсменов регистрировалась внезапная сердечная смерть [60, 61].

В некоторых исследованиях у спортсменов после выполнения серьезной и длительной физической нагрузки регистрировались крайне высокие уровни кардио-маркеров, в том числе сердечных тропонинов в сыворотке крови [62–64], что также является поводом для обсуждения вероятности формирования маломасштабных некротических процессов. В качестве противоречащего аргумента выступает клиническое исследование, в котором у спортсменов не было выявлено признаков наличия очагов некроза и склероза в сердечной мышечной ткани при использовании магнитной резонансной томографии с гадолинием (контрастом) [65]. Однако ограничением данного метода является относительно меньшая чувствительность, по сравнению с лабораторными биомаркерами некроза и фиброза миокарда.

Хотя при психоэмоциональных стрессах степень повышения уровня тропонинов в сыворотке крови относительно мала (редко превышает уровни 99-го перцентиля при изолированном влиянии стресса), ее нельзя рассматривать в качестве безопасного процесса [66]. Постоянное влияние стресса рассматривается в качестве риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и может быть одним из триггеров ОИМ [67, 68]. Ряд молекул, высвобождаемых во время стресса (например, кортизол, катехоламины), повышают потребность миокарда в кислороде, что способствует развитию относительной ишемии клеток миокарда.

Высвобождение сердечных тропонинов из внесердечных клеток

Одним из противоречивых, но гипотетически возможных механизмов, лежащих в основе повышения сывороточных уровней сердечных тропонинов, является высвобождение данных молекул из внесердечных клеток. Несколько экспериментальных и клинических исследований свидетельствует об экспрессии молекул сердечных тропонинов в клетках скелетной мышечной ткани [69, 70] и стенках крупных сосудов [71], что позволяет рассматривать данные органы в качестве возможных источников сывороточных уровней сердечных тропонинов. Так, американские биохимики (V. Ricchiuti и F. Apple), используя полимеразную цепную реакцию (ПЦР), выявили экспрессию матричной РНК сердечного тропонина Т в скелетной мышечной ткани взрослых людей, страдающих терминальной стадией хронической почечной недостаточности (ХПН) и наследственной скелетной миопатией (мышечной дистрофией Дюшенна). Матричная РНК сердечного тропонина I не была обнаружена в скелетных мышцах пациентов, страдающих данными формами патологии, и в скелетных мышцах здоровых людей. Кроме того, в скелетных мышцах здоровых людей не было выявлено признаков экспрессии сердечного тропонина Т [25], что свидетельствует о возможной экспрессии одного типа сердечного тропонина (Т) только при наличии указанных патологий. В другом исследовании B. Messner et al. подтвердили возможность экстракардиальной экспрессии сердечного тропонина Т у пациентов, страдающих скелетными миопатиями. Исследователи, используя ПЦР-тест, обнаружили матричную РНК сердечного тропонина Т у пациентов, страдающих первичной саркогликанопатией и мышечной дистрофией Дюшенна [70]. У некоторых пациентов со скелетными миопатиями, помимо матричной РНК сердечного тропонина Т, была отмечена экспрессия матричной РНК сердечного тропонина I [70]. Однако в данных исследованиях авторы не измеряли сывороточные уровни сердечных тропонинов

Таблица 2
Высвобождение сердечных тропонинов: от механизмов к диагностике
Table 2
Cardiac troponin release: from mechanisms to diagnosis

Механизм	Диагностическое значение
Некроз клеток миокарда	Основной доказанный механизм, лежащий в основе повышения сердечных тропонинов при ОИМ. Некроз кардиомиоцитов приведет к высвобождению всех молекул (биомаркеров) из клетки в кровоток
Высвобождение сердечных тропонинов в результате процессов регенерации и обновления клеток миокарда	Обновление клеток миокарда, постепенно происходящее в течение всей жизни, гипотетически может быть связано с нормальными (менее верхней границы 99-го перцентиля) концентрациями сердечных тропонинов в кровотоке
Высвобождение сердечных тропонинов в результате апоптоза клеток миокарда	Доказано, что апоптоз кардиомиоцитов (без признаков некроза) сопровождается повышением сывороточных концентраций сердечных тропонинов. Таким образом, любые физиологические (физические нагрузки, пожилой возраст) и патологические (сердечная недостаточность, артериальная гипертензия, хроническая обструктивная болезнь легких и др.) состояния, усиливающие апоптоз, могут сопровождаться высвобождением сердечных тропонинов из кардиомиоцитов и повышению сывороточных уровней
Высвобождение сердечных тропонинов в результате образования мембранных везикул на поверхности клеток миокарда	Мембранные везикулы (блебинг-везикулы), образующиеся на поверхности плазматической мембраны кардиомиоцитов, гипотетически могут содержать в своем составе цитоплазматические белки, включая сердечные тропонины. Количество мембранных везикул увеличивается при ишемии клеток миокарда и может быть связано с высвобождением сердечных тропонинов в кровоток
Внутриклеточная протеолитическая деградация молекул сердечных тропонинов на небольшие фрагменты и высвобождение последних через интактную мембрану клеток миокарда	Молекулы сердечных тропонинов могут фрагментироваться/разрушаться при действии некоторых протеолитических ферментов: кальпаина, тромбина, матриксных металлопротеиназ. В результате действия этих ферментов могут формироваться небольшие фрагменты молекул тропонинов, которые в силу своего размера имеют более высокую вероятность высвобождения из клетки. Этот механизм может иметь важное клиническое значение: так, все те физиологические и патологические состояния и/или лекарственные препараты, которые оказывают влияние на активность этих протеолитических ферментов, могут оказать влияние и на высвобождение сердечных тропонинов и их концентрацию в кровотоке
Высвобождение сердечных тропонинов в результате повышения мембранной проницаемости клеток миокарда	Усиление высвобождения молекул сердечных тропонинов в кровоток отмечается при увеличении мембранной проницаемости клеток миокарда, что характерно для ишемии миокарда, повышения преднагрузки и растяжения стенки сердца
Высвобождение сердечных тропонинов в результате маломасштабного (субклинического) некроза кардиомиоцитов	Гибель небольшого количества кардиомиоцитов может никак не проявляться клинически и инструментально (поскольку это относительно низкочувствительные методики), но высокочувствительные методы определения могут зарегистрировать такие субклинические повреждения. Возможными причинами субклинического некроза кардиомиоцитов являются ишемия, воспалительно-токсические процессы и дисбалансы нейроэндокринной системы
Высвобождение сердечных тропонинов из внесердечных клеток	Противоречивый механизм повышения уровней сердечных тропонинов в кровотоке. Опубликованы работы, как подтверждающие экспрессию сердечных тропонинов в скелетной мышечной ткани у пациентов с ХПН и наследственными скелетными миопатиями, так и отражающие результаты исследований, опровергающих данную гипотезу

у пациентов, страдающих миопатиями и почечной недостаточностью. Это является важным ограничением данных исследований, поскольку не позволяет ответить на вопрос: может ли экспрессия сердечных тропонинов в скелетных мышцах приводить к повышению сывороточных уровней сердечных тропонинов у пациентов, страдающих ХПН или наследственными скелетными миопатиями? Кроме того, следует отметить несколько других исследовательских работ, результаты которых противоречат описанным данным о внесердечной экспрессии. Так, например, G. Bodor et al. провели исследование и пришли к выводу, что сердечные тропонины не экспрессируются в скелетной мышечной ткани у пациентов, страдающих мышечной дистрофией Дюшенна и полимиозитами [72]. Другими исследовательскими группами под руководством A. Hammerer-Lercher и J. Schmid также не были обнаружены признаки экспрессии сердечных тропонинов в скелетных мышцах [73, 74].

Вторым потенциальным несердечным источником высвобождения сердечных тропонинов являются стенки крупных вен (полых и легочных). Некоторые исследования (проведенные Д. Русаковым и др.) сообщают только о наличии экспрессии сердечных тропонинов в стенках данных вен, однако не описывают возможную роль данных тропонинов в диагностике [71]. Гипотетически можно полагать, что повреждение или растяжение стенок этих крупных вен может приводить к высвобождению молекул сердечных тропонинов в кровотоки.

Таким образом, в силу наличия неизвестных и противоречивых сведений о внесердечной экспрессии необходимы дальнейшие исследования для валидации данного механизма.

Описанные механизмы высвобождения сердечных тропонинов и их диагностическое значение суммированы в табл. 2.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Помимо основного и доказанного к настоящему времени механизма высвобождения сердечных тропонинов в результате некроза клеток при остром инфаркте миокарда, существует еще семь других потенциально возможных механизмов высвобождения молекул тропонинов в кровотоки. Данные механизмы могут вызывать повышение сывороточных уровней сердечных тропонинов у пациентов, страдающих формами патологии, которые негативно воздействуют на клетки миокарда. Так, в реальной клинической практике повышенные уровни тропонинов зачастую не ассоциированы с ишемическим некрозом миокарда при инфаркте миокарда и порой интерпретировать положительные результаты оказывается крайне сложно. Кроме того, при помощи высокочувствительных методов детекции молекулы тропонинов были выявлены и у абсолютно здоровых людей, что говорит о существовании нормальных механизмов высвобождения молекул сердечных тропонинов в кровотоки и позволяет рассматривать их в качестве продуктов нормального метаболизма сердечной мышечной ткани. Необходимы дальнейшие исследования экспериментального и фундаментального характера, направленные на верификацию и конкретизацию механизмов высвобождения молекул сердечных тропонинов из миокарда в кровотоки. Понимание данных механизмов высвобождения сердечных тропонинов из кардиомиоцитов позволит улучшить дифференциальную диагностику острого инфаркта миокарда и расширить диагностические возможности тестов определения сердечных тропонинов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Krikunova O., Viskov R. *Cardiac troponins in the practice of a doctor*. M.: MEDpress-inform. 2016; 240 p. (In Russian)
2. Kuzmenko A., Kamyschnikov V. Laboratory diagnostics of acute myocardial infarction. *Adukatsia*. 2009;72 p. (In Russian)
3. Chaulin A., Duplyakov D. Biomarkers of Acute Myocardial Infarction: Diagnostic and Prognostic Value. Part 1. *Journal of Clinical Practice*. 2020;11(3):75–84. doi: 10.17816/clinpract34284. (In Russian)
4. Saprygin D. Cardiospecific troponins: significance in the diagnosis, risk stratification and prognosis of acute coronary syndrome. 1. Diagnostic value of traditional and modern markers of myocardial damage. *International Journal of Interventional Cardioangiologiy*. 2003;2:65–70. (In Russian)
5. Chaulin A. Cardiac Troponins: Contemporary Biological Data and New Methods of Determination. *Vasc Health Risk Manag*. 2021;17:299–316. doi: 10.2147/VHRM.S300002.
6. Chaulin A. Elevation Mechanisms and Diagnostic Consideration of Cardiac Troponins under Conditions Not Associated with Myocardial Infarction. Part 1. *Life (Basel)*. 2021;11(9):914. doi: 10.3390/life11090914.
7. Chaulin A. Elevation Mechanisms and Diagnostic Consideration of Cardiac Troponins under Conditions Not Associated with Myocardial Infarction. Part 2. *Life (Basel)*. 2021;11(11):1175. doi: 10.3390/life11111175.
8. Thygesen K., Alpert J.S., Jaffe A.S.; Executive Group on behalf of the Joint European Society of Cardiology (ESC)/American College of Cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA)/World Heart Federation (WHF) Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Glob Heart*. 2018;13(4):305–338. doi: 10.1016/j.gheart.2018.08.004.
9. Wu W., Li D.X., Wang Q. Relationship between high-sensitivity cardiac troponin T and the prognosis of elderly inpatients with non-acute coronary syndromes. *Clin Interv Aging*. 2018;13:1091–1098. doi: 10.2147/CIA.S157048.
10. Lindner G., Pfortmueller C.A., Braun C.T., Exadaktylos A.K. Non-acute myocardial infarction-related causes of elevated high-sensitive troponin T in the emergency room: a cross-sectional analysis. *Intern Emerg Med*. 2014;9(3):335–339. doi: 10.1007/s11739-013-1030-y.
11. Collet J.P., Thiele H., Barbato E.; ESC Scientific Document Group. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J*. 2021;42(14):1289–1367. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa575.
12. Chaulin A., Abashina O., Duplyakov D. High-sensitivity cardiac troponins: detection and central analytical characteristics. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(2):2590. Available at: <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2021-2590>. (In Russian)
13. Chen J.Y., Lee S.Y., Li Y.H. Urine High-Sensitivity Troponin I Predict Incident Cardiovascular Events in Patients with Diabetes Mellitus. *J Clin Med*. 2020;9(12):3917. doi: 10.3390/jcm9123917.
14. Chaulin A., Duplyakova P., Bikbaeva G. Concentration of high-sensitivity cardiac troponin I in the oral fluid in patients with acute myocardial infarction: a pilot study. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(12):3814. Available at: <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2020-3814>. (In Russian)
15. Monneret D., Gellerstedt M., Bonnefont-Rousselot D. Determination of age- and sex-specific 99th percentiles for high-sensitive troponin T from patients: an analytical imprecision- and partitioning-based approach. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(5):818–829. doi: 10.1515/ccm-2017-0256.
16. Chaulin A. Main analytical characteristics of laboratory methods for the determination of cardiac troponins: a review from the historical and modern points of view. *Orv Hetil*. 2022;163(1):12–20. doi: 10.1556/650.2021.32296.
17. Chaulin A., Duplyakov D. High-sensitivity cardiac troponins: circadian rhythms. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(1):2639. Available at: <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2021-2639>. (In Russian)
18. Ziebig R., Lun A., Hoche B. Renal elimination of troponin T and troponin I. *Clin Chem*. 2003;49(7):1191–3. doi: 10.1373/49.7.1191
19. Chaulin A., Karslyan L., Grigorieva E. Clinical and Diagnostic Value of Cardiac Markers in Human Biological Fluids. *Kardiologiya*. 2019;59(11):66–75. Available at: <https://doi.org/10.18087/kardio.2019.11.n414>. (In Russian)
20. Chaulin A., Duplyakova P., Duplyakov D. Circadian rhythms of cardiac troponins: mechanisms and clinical significance. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(35):4061. Available at: <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2020-4061>. (In Russian)
21. Liao X.D., Wang X.H., Jin H.J. Mechanical stretch induces mitochondria-dependent apoptosis in neonatal rat cardiomyocytes and G2/M accumulation in cardiac fibroblasts. *Cell Res*. 2004;14(1):16–26. doi: 10.1038/sj.cr.7290198.
22. Chaulin A. Clinical and Diagnostic Value of Highly Sensitive Cardiac Troponins in Arterial Hypertension. *Vasc Health Risk Manag*. 2021;17:431–443. doi: 10.2147/VHRM.S315376.
23. Communal C., Colucci W.S. The control of cardiomyocyte apoptosis via the beta-adrenergic signaling pathways. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 2005;98(3):236–41.
24. Chen Q.M., Tu V.C. Apoptosis and heart failure: mechanisms and therapeutic implications. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2002;2(1):43–57. doi: 10.2165/00129784-200202010-00006.
25. Ricchiuti V., Apple F.S. RNA expression of cardiac troponin T isoforms in diseased human skeletal muscle. *Clin Chem*. 1999;45(12):2129–35.
26. Beganskaya L., Kishkun A., Sharapov G., Tsapenko M. Diagnosis of acute coronary syndrome in terms of evidence-based medicine. *Hospital medicine: Science and practice*. 2018;1(5):27–41. (In Russian)
27. Bergmann O., Bhardwaj R.D., Bernard S. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science*. 2009;324(5923):98–102. doi: 10.1126/science.1164680.
28. White H.D. Pathobiology of troponin elevations: do elevations occur with myocardial ischemia as well as necrosis? *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(24):2406–2408. doi: 10.1016/j.jacc.2011.01.029.
29. Docshin P., Karpov A., Eyyazova S. Activation of Cardiac Stem Cells in Myocardial Infarction. *Tsitologiya*. 2018;60(2):81–88. Available at: <https://doi.org/10.31116/tsitol.2018.02.02>. (In Russian)
30. Waring C.D., Vicinanza C., Papalamprou A. The adult heart responds to increased workload with physiologic hypertrophy, cardiac stem cell activation, and new myocyte formation. *Eur Heart J*. 2014;35(39):2722–31. doi: 10.1093/eurheartj/ehs338.
31. Rovira M., Borrás D.M., Marques I.J. Physiological Responses to Swimming-Induced Exercise in the Adult Zebrafish Regenerating Heart. *Front Physiol*. 2018;9:1362. doi: 10.3389/fphys.2018.01362.
32. Isomi M., Sadahiro T., Ieda M. Progress and Challenge of Cardiac Regeneration to Treat Heart Failure. *J Cardiol*. 2019;73(2):97–101. doi: 10.1016/j.jjcc.2018.10.002.
33. Zhang Q., Yu N., Yu B.T. MicroRNA-298 regulates apoptosis of cardiomyocytes after myocardial infarction. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22(2):532–539. doi: 10.26355/eurrev.201801.14206.
34. Weil B.R., Young R.F., Shen X. Brief Myocardial Ischemia Produces Cardiac Troponin I Release and Focal Myocyte Apoptosis in the Absence of Pathological Infarction in Swine. *JACC Basic Transl Sci*. 2017;2(2):105–114. doi: 10.1016/j.jacbas.2017.01.006.
35. Kamyschnikov V. *Norm in laboratory medicine*. M.: MEDpress-inform. 2014; 336 p. (In Russian).
36. Cheng W., Li B., Kajstura J., Li P., Wolin M.S., Sonnenblick E.H., Hintze T.H. Stretch-induced programmed myocyte cell death. *J Clin Invest*. 1995;96(5):2247–59. doi: 10.1172/JCI118280.
37. Weil B.R., Suzuki K., Young R.F. Troponin Release and Reversible Left Ventricular Dysfunction After Transient Pressure Overload. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(25):2906–2916. doi: 10.1016/j.jacc.2018.04.029.
38. Chaulin A., Abashina O., Duplyakov D. Pathophysiological mechanisms of cardiotoxicity in chemotherapeutic agents. *Russ. Open Med. J*. 2020;9(3):e0305. DOI: 10.15275/rusomj.2020.0305

39. Chaulin A., Duplyakov D. Arrhythmogenic effects of doxorubicin. *Complex Issues Cardiovasc. Dis.* 2020;9(3):69–80. Available at: <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2020-9-3-69-80> (In Russian).
40. El-Menyar A., Sathian B., Al-Thani H. Elevated serum cardiac troponin and mortality in acute pulmonary embolism: Systematic review and meta-analysis. *Respir Med.* 2019;157:26–35. doi: 10.1016/j.rmed.2019.08.011.
41. Daquarti G., March Vecchio N., Mitrione C.S. High-sensitivity troponin and right ventricular function in acute pulmonary embolism. *Am J Emerg Med.* 2016;34(8):1579–1582. doi: 10.1016/j.ajem.2016.05.071.
42. Chaulin A., Duplyakov D. Comorbidity in chronic obstructive pulmonary disease and cardiovascular disease. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2021;20(3):2539. Available at: <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2021-2539> (In Russian).
43. Singh K., Communal C., Sawyer D.B., Colucci W.S. Adrenergic regulation of myocardial apoptosis. *Cardiovasc Res.* 2000;45(3):713–9. doi: 10.1016/S0008-6363(99)00370-3.
44. Xiao R.P., Tomhave E.D., Wang D.J. Age-associated reductions in cardiac beta1- and beta2-adrenergic responses without changes in inhibitory G proteins or receptor kinases. *J Clin Invest.* 1998;101(6):1273–82. doi: 10.1172/JCI1335.
45. De Lucia C., Eguchi A., Koch W.J. New Insights in Cardiac β -Adrenergic Signaling During Heart Failure and Aging. *Front Pharmacol.* 2018;9:904. doi: 10.3389/fphar.2018.00904.
46. Schwartz P., Piper H.M., Spahr R., Spieckermann P.G. Ultrastructure of cultured adult myocardial cells during anoxia and reoxygenation. *Am J Pathol.* 1984;115(3):349–361.
47. Siegmund B., Koop A., Kliezt T. Sarcolemmal integrity and metabolic competence of cardiomyocytes under anoxia-reoxygenation. *Am J Physiol.* 1990;258(2 Pt 2):285–291. doi: 10.1152/ajpheart.1990.258.2.H285.
48. Sheyin O., Davies O., Duan W., Perez X. The prognostic significance of troponin elevation in patients with sepsis: a meta-analysis. *Heart Lung.* 2015;44(1):75–81. doi: 10.1016/j.hrtlung.2014.10.002.
49. Chen Y., Tao Y., Zhang L. Diagnostic and prognostic value of biomarkers in acute myocardial infarction. *Postgrad Med J.* 2019;95(1122):210–216. doi: 10.1136/postgradmedj-2019-136409.
50. Feng J., Schaus B.J., Fallavollita J.A. Preload induces troponin I degradation independently of myocardial ischemia. *Circulation.* 2001;103(16):2035–2037. doi: 10.1161/01.cir.103.16.2035.
51. Lin N.N., Cheng C.C., Lee Y.F. Early activation of myocardial matrix metalloproteinases and degradation of cardiac troponin I after experimental subarachnoid hemorrhage. *J Surg Res.* 2013;179(1):e41–48. doi: 10.1016/j.jss.2012.02.008.
52. Katrukha I.A., Kogan A.E., Vylegzhanina A.V. Thrombin-Mediated Degradation of Human Cardiac Troponin T. *Clin Chem.* 2017;63(6):1094–1100. doi: 10.1373/clinchem.2016.266635.
53. Chaulin A. Phosphorylation and Fragmentation of the Cardiac Troponin T: Mechanisms, Role in Pathophysiology and Laboratory Diagnosis. *Int. J. Biomed.* 2021;11(3):250–259. doi: 10.21103/Article11(3)_RA2
54. Chaulin A. Diagnostic value of highly sensitive cardiac troponins and mechanisms of their increase in serum and urine in arterial hypertension. *Riv. Ital. Med. Lab.* 2021;17(2):99–107. doi: 10.23736/S1825-859X.21.00107-9
55. Ito K., Hongo K., Date T. Tissue thrombin is associated with the pathogenesis of dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2017;228:821–827. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.11.176.
56. Hessel M.H., Atsma D.E., van der Valk E.J. Release of cardiac troponin I from viable cardiomyocytes is mediated by integrin stimulation. *Pflugers Arch.* 2008;455(6):979–986. doi: 10.1007/s00424-007-0354-8.
57. Ross R.S., Borg T.K. Integrins and the myocardium. *Circ Res.* 2001;88(11):1112–1119. doi: 10.1161/hh1101.091862.
58. Khabbaz K.R., Feng J., Boodhewani M. Nonischemic myocardial acidosis adversely affects microvascular and myocardial function and triggers apoptosis during cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008;135(1):139–146. doi: 10.1016/j.jtcvs.2007.07.035.
59. Thattai H.S., Rhee J.H., Zagari S.E. Acidosis-induced apoptosis in human and porcine heart. *Ann Thorac Surg.* 2004;77(4):1376–1383. doi: 10.1016/j.athoracsurg.2003.07.047.
60. Higgins J.P., Ananaba I.E., Higgins C.L. Sudden cardiac death in young athletes: preparticipation screening for underlying cardiovascular abnormalities and approaches to prevention. *Phys Sportsmed.* 2013;41(1):81–93. doi: 10.3810/psm.2013.02.2002.
61. DeFroda S.F., McDonald C., Myers C. Sudden Cardiac Death in the Adolescent Athlete: History, Diagnosis, and Prevention. *Am J Med.* 2019;132(12):1374–1380. doi: 10.1016/j.amjmed.2019.05.025.
62. Martínez-Navarro I., Sánchez-Gómez J., Sanmiguel D. Immediate and 24-h post-marathon cardiac troponin T is associated with relative exercise intensity. *Eur J Appl Physiol.* 2020;120(8):1723–1731. doi: 10.1007/s00421-020-04403-8.
63. Richardson A.J., Leckie T., Watkins E.R. Post marathon cardiac troponin T is associated with relative exercise intensity. *J Sci Med Sport.* 2018;21(9):880–884. doi: 10.1016/j.jsams.2018.02.005.
64. Paana T., Jaakkola S., Bamberg K. Cardiac troponin elevations in marathon runners. Role of coronary atherosclerosis and skeletal muscle injury. The MaraCat Study. *Int J Cardiol.* 2019;295:25–28. doi: 10.1016/j.ijcard.2019.08.019.
65. O'Hanlon R., Wilson M., Wage R. Troponin release following endurance exercise: is inflammation the cause? a cardiovascular magnetic resonance study. *J Cardiovasc Magn Reson.* 2010;12(1):38. doi: 10.1186/1532-429X-12-38.
66. Lazzarino A.L., Hamer M., Gaze D. The association between cortisol response to mental stress and high-sensitivity cardiac troponin T plasma concentration in healthy adults. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(18):1694–1701. doi: 10.1016/j.jacc.2013.05.070.
67. Yamaji M., Tsutomoto T., Kawahara C. Serum cortisol as a useful predictor of cardiac events in patients with chronic heart failure: the impact of oxidative stress. *Circ Heart Fail.* 2009;2(6):608–615. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.868513.
68. Chaulin A., Duplyakov D. On the potential effect of circadian rhythms of cardiac troponins on the diagnosis of acute myocardial infarction. *Signa Vitae.* 2021;17(3):79–84. doi: 10.22514/sv.2021.050
69. Bakay M., Zhao P., Chen J., Hoffman E.P. A web-accessible complete transcriptome of normal human and DMD muscle. *Neuromuscul Disord.* 2002;12 Suppl 1:125–141. doi: 10.1016/S0960-8966(02)00093-7.
70. Messner B., Baum H., Fischer P. Expression of messenger RNA of the cardiac isoforms of troponin T and I in myopathic skeletal muscle. *Am J Clin Pathol.* 2000;114(4):544–549.
71. Rusakov D., Yamshchikov N., Tulayeva O. Histogenesis and peculiarities of structural organization of the cardiac muscle tissue on the walls of human caval and pulmonary veins. *Morphology.* 2015;148(6):38–42. (In Russian)
72. Bodor G.S., Porterfield D., Voss E.M. Cardiac troponin-I is not expressed in fetal and healthy or diseased adult human skeletal muscle tissue. *Clin Chem.* 1995;41(12 Pt 1):1710–1715.
73. Hammerer-Lercher A., Erlacher P., Bittner R. Clinical and experimental results on cardiac troponin expression in Duchenne muscular dystrophy. *Clin Chem.* 2001;47(3):451–458.
74. Schmid J., Liesinger L., Birner-Gruenberger R. Elevated Cardiac Troponin T in Patients with Skeletal Myopathies. *J Am Coll Cardiol.* 2018;71(14):1540–1549. doi: 10.1016/j.jacc.2018.01.070.