



А.А. Мельник, к.б.н.

Гормон стресса копептин — новый нейроэндокринный биомаркер при остром инфаркте миокарда

В последнее время значительно вырос интерес исследователей к звену системы нейрогормональной регуляции – каскаду пептидов вазопрессина. Аргинин-вазопрессин (АВП), также известный как антидиуретический гормон, играет ключевую роль во многих физиологических и патофизиологических процессах в организме. Основная роль АВП заключается в сохранении воды почками (повышение АВП приводит к снижению объема выделяемой мочи), тем самым способствует осмотическому и кардиоваскулярному гомеостазу. Он также обладает гомеостатическим и эндокринным действием, оказывает влияние на нервную систему. Повышенное внимание к системе АВП прежде всего обусловлено открытием нового биомаркера, отражающего активность данной системы у больных с сердечно-сосудистой патологией. Этим биомаркером является копептин, который представляет собой С-терминальный гликопротеин, предшественник АВП. Впервые он был выделен в 1972 г. D. Holwerda из задней доли гипофиза свиньи. Копептин – это гликозилированный пептид с молекулярной массой 5000 Да из 39 аминокислот, основную часть которых составляет лейцин.

Синтез АВП и копептина

Про-АВП, предшественник пептида АВП, продуцируется и высвобождается путем 2 отдельных эндокринных механизмов, которые взаимодействуют на нейрональном уровне (рис. 1).

Первый механизм. Про-АВП продуцируется в крупноклеточных нейронах супраоптических и паравентрикулярных ядер гипоталамуса. Во время аксонного транспорта про-АВП к задней доле гипофиза образуются АВП, нейрофизин II и копептин (рис. 2).

В результате каскада ферментативных реакций (под действием эндопептидазы, экзопептидазы, монооксигеназы и лиазы) про-АВП превращается в АВП, нейрофизин II и копептин. Процесс обычно завершается на уровне нейрогипофиза. Все три пептида в дальнейшем секретируются из нейрогипофиза под действием гемодинамической или осмотической стимуляции.

Второй механизм. Про-АВП синтезируется в парвоцеллюлярных нейронах гипоталамуса. Это область, где высвобождается кортикотропин-релизинг-гормон. Образующийся при этом АВП попадает в гипофизарную портальную систему и действует на эндокринные клетки аденогипофиза.

Физиологические функции АВП/копептина

АВП представляет собой циклический нонапептид с внутримолекулярной дисульфидной связью между

аминокислотами Cys4 и Cys9. Высвобождение АВП оказывает действие на клетки через взаимодействие с тремя рецепторами G-белка: сосудистым рецептором AV1R, почечным AV2R и нейроэндокринным AV3R. Для АВП наиболее распространенными и преобладающими являются рецепторы AV1R. Их физиологическое действие реализуется посредством активации Gq-белков и каскада фосфолипазы C/инозитол-3-фосфата/протеинкиназы C, что приводит к повышению уровня внутриклеточного кальция. Рецепторы локализованы в эндотелиальных клетках гладких мышц, клетках надпочечников, миомерии, мочевого пузыря, адипоцитов, гепатоцитов, тромбоцитов, медулярных клетках почек, собирательных трубочек, селезенке, яйцках и во многих структурах ЦНС. Через рецепторы AV1R ангиотензин-вазопрессин может индуцировать вазоконстрикцию артериол, сердечный ионотропизм, агрегацию тромбоцитов, стероидогенез в надпочечниках, печеночный гликогенолиз, пролиферацию кардиомиоцитов, гепатоцитов и клеток гладкой мускулатуры, маточные сокращения, перистальтику желудочно-кишечного тракта, центральную регуляцию артериального давления, частоту сердечных сокращений, температуру тела, эмоциональное обучение, социальную память.

Связывание АВП с рецепторами другого типа AV2R стимулирует антидиуретическое действие в почках. Они в основном расположены в клетках собирательных трубочек почек. При взаимодействии АВП с данными рецепторами происходит

повышение активности внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата (ц-АМФ) через G-сигнальный путь. Это способствует синтезу мРНК, кодирующей синтез аквапорина 2, который стимулирует повышение проницаемости эпителия собирательных трубочек для воды и усиление ее обратного всасывания. Сосудистые эндотелиальные клетки содержат AV2R-рецепторы, играющие важную роль в механизмах коагуляции крови, т. к. увеличивают уровень в плазме фактора фон Виллебранда, фактора VIII и активатора плазминогена.

Третий тип АВП-рецептора – AV3R – располагается в передней доле гипофиза и участвует в секреции адренокортикотропного гормона. Помимо связывания со специфическими рецепторами, АВП способен взаимодействовать с окситоциновыми и определенными пуринергическими рецепторами, которые также являются членами суперсемейства G-протеиновых рецепторов. Окситоциновые рецепторы локализованы в эндотелии сосудистой стенки, и взаимодействие с ними приводит к вазодилатирующему действию.

Несмотря на важную роль в патогенезе заболеваний и высокую биологическую активность в организме, измерение и диагностическое использование АВП в качестве биомаркера связано с определенными трудностями. В первую очередь к ним относятся короткий период полураспада АВП (время полужизни в плазме 5–20 мин), быстрое выведение из организма (клиренс 600 мл/мин при концентрации в плазме 10 пг/мл), а также взаимодействие с тромбоцитами в крови (около 90% АВП связано с тромбоцитами), малый размер и, что немаловажно, нестабильность вне организма (не стабилен даже при -20 °С). В связи с этим активно исследуется родственный АВП пептид – копептин, который синтезируется в эквивалентных АВП количествах и отражает его природу и активность в организме. Необходимо отметить, что копептин достаточно стабильный пептид, его уровень сохраняется в сыворотке или плазме в течение нескольких дней после забора крови.

Клиническая биохимия копептина

Копептин высвобождается посредством тех же биологических медиаторов, которые характерны для АВП и регулируются исключительно на транскрипционном уровне. В ответ на физиологические и патофизиологические стимулы плазменный уровень копептина тесно связан с уровнем АВП. Нормальное значение копептина в плазме здоровых людей составляет 1,0–12,0 пмоль/л с медианой меньше 5 пмоль/л. Уровень копептина у мужчин несколько выше, чем у женщин, с разницей значения медианы 1,0 пмоль/л (20). Не выявлено значимого различия между концентрациями у разных возрастных групп.

В последние годы копептин рассматривается как перспективный биомаркер при многочисленных острых заболеваниях. Отмечена связь между повышенным уровнем копептина и неблагоприятным прогнозом у пациентов с инфекциями нижних дыхательных путей, сепсисом, инсультом и острым панкреатитом. Исследования демонстрируют положительную связь между копептином и тяжестью заболевания. Копептину уделяется особое внимание как диагностическому маркеру у пациентов с острым инфарктом миокарда (ОИМ).

Копептин при ОИМ

ОИМ является основной причиной смерти в промышленно развитых странах. Его распространенность также неуклонно растет в странах третьего мира. Основная причина развития ИМ – внезапное и быстрое прекращение кровоснабжения участка сердечной мышцы, которое может происходить из-за атеросклероза коронарных артерий, спазма коронарных сосудов на фоне атеросклероза или без него, тромбоза коронарных артерий. Непосредственной причиной смерти при ИМ обычно является остановка сердца, выражающаяся фибрилляцией желудочков или асистолией. В половине случаев смерть наступает в ближайшие 2 часа после появления первых признаков заболевания. Как правило, это происходит до того, как пациент доставлен в медицинское учреждение. Поэтому ранняя диагностика ОИМ (клиническая и лабораторная) имеет чрезвычайно важное значение. Это будет способствовать немедленному вмешательству, направленному на восстановление кровотока по окклюзированной коронарной артерии, и предотвращению преждевременной выписки пациентов с неподтвержденным ОИМ из отделения неотложной помощи.

Наиболее важными методами диагностики ОИМ являются электрокардиография (ЭКГ) и определение концентрации тропонина Т (сТnТ) в сыворотке. Кардиальный тропонин Т превосходит по своей значимости для подтверждения ОИМ другие биомаркеры, включая миоглобин, креатинкиназу-МВ (СК-МВ), миелопероксидазу, сердечный белок, связывающий жирные кислоты. Однако, несмотря на используемые функциональные методы диагностики и применяемые биомаркеры, необходимы более точные методы для подтверждения или исключения ОИМ. ЭКГ мало помогает для исключения ИМ, т. к. у 25–30% пациентов не выявлено существенных изменений на электрокардиограмме при наличии продолжающейся

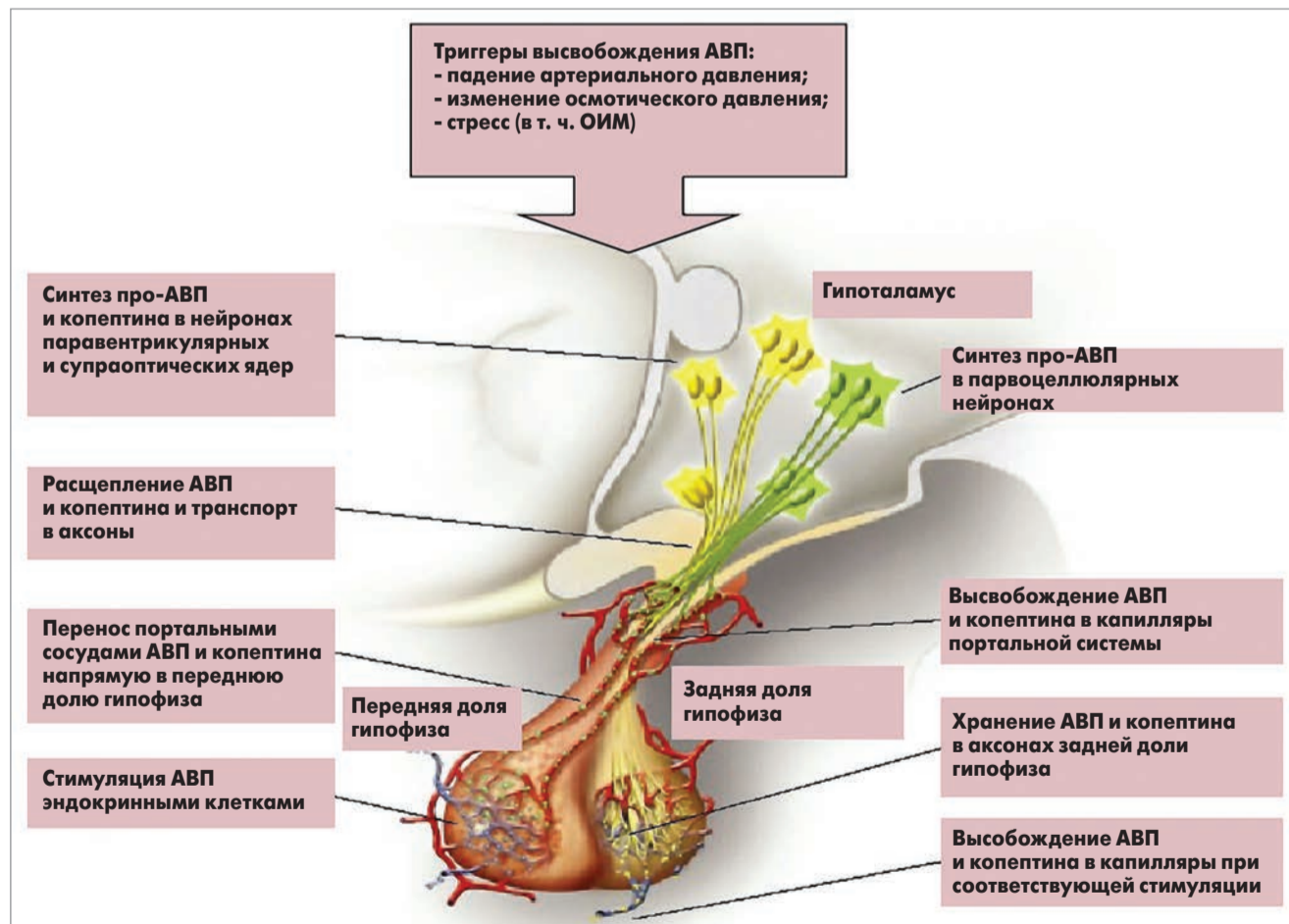


Рис. 1. Высвобождение АВП и копептина в гипоталамусе и гипофизе

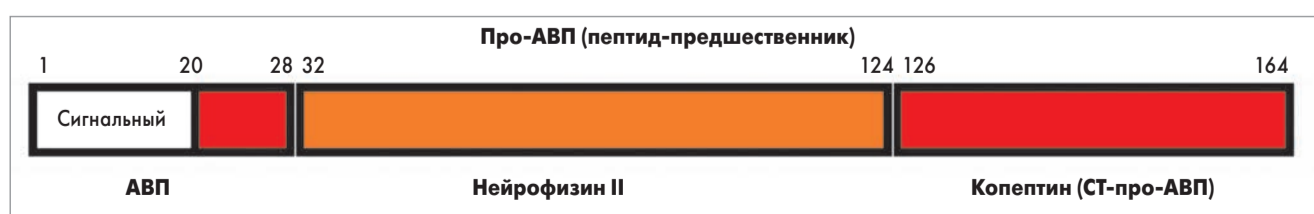


Рис. 2. Про-АВП (пептид-предшественник АВП). Про-АВП содержит 164 аминокислоты (20 – сигнальная последовательность, 9 – АВП, 93 – нейрофизин II, 39 – копептин)

острой сердечной недостаточности. Тем не менее ЭКГ необходима для идентификации пациентов с подъемом сегмента ST (STEMI – ST-elevation myocardial infarction) (рис. 3).

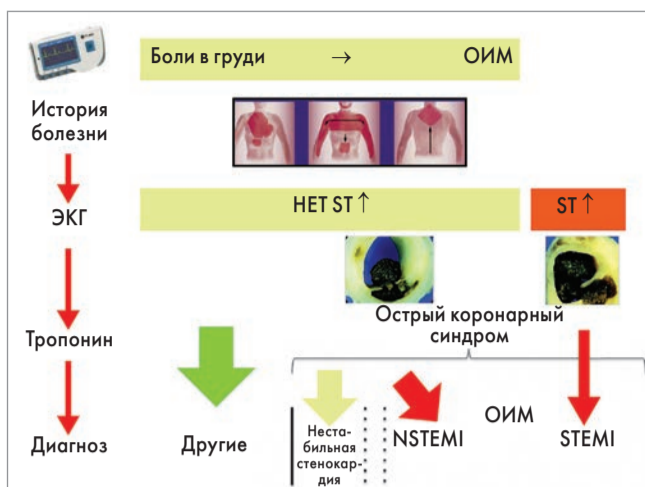


Рис. 3. Применение ЭКГ для идентификации пациентов с подъемом сегмента ST: подъем сегмента ST (ST-elevation myocardial infarction, STEMI) отражает наличие острой окклюзии коронарной артерии; отсутствие подъема сегмента ST (Non-ST-elevation myocardial infarction, NSTEMI) – наличие частичной окклюзии коронарной артерии

Раннее обнаружение ОИМ, особенно в случае STEMI, имеет решающее значение для быстрой инвазивной и агрессивной фармакологической реперфузионной терапии, что может уменьшить заболеваемость и смертность. Рекомендацией Американской кардиологической ассоциации / Американского колледжа кардиологии для менеджмента пациентов с острым STEMI является немедленное начало реперфузионной терапии с использованием чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) и фибринолитических препаратов; для пациентов с NSTEMI – немедленная катетеризация для реваскуляризации нестабильного коронарного повреждения. У пациентов с ранними признаками ОИМ обычные кардиомаркеры, такие как СК-МВ и сТnT, не способны быстро исключить данное заболевание. Это связано с тем, что их концентрация не увеличивается в течение первых часов. Поэтому для исключения ОИМ требуется мониторинг пациентов с серийным отбором проб для измерения концентрации сТnT между 6 и 9 часами.

Для повышения точности при подтверждении ОИМ применяется высокочувствительный сердечный тропонин (hs-cTnT), позволяющий измерять концентрацию ананта в 10 раз ниже предыдущего (сТnT). Однако несмотря на его способность к ранней диагностике ОИМ, существует т. н. промежуток слепого тропонина – от начала боли в груди до начала высвобождения тропонина (рис. 4).

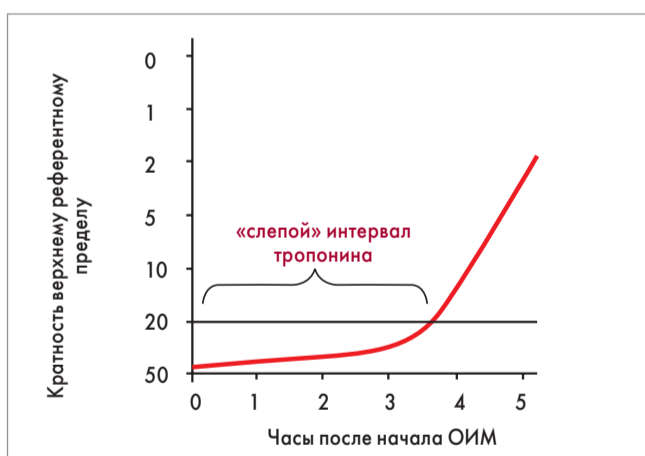


Рис. 4. Интервал «слепого» тропонина от начала ОИМ до момента высвобождения тропонина

Использование hs-cTnT позволяет выявить миокардиальное повреждение, которое включает в себя ишемию миокарда и физиологическое ремоделирование миоцита.

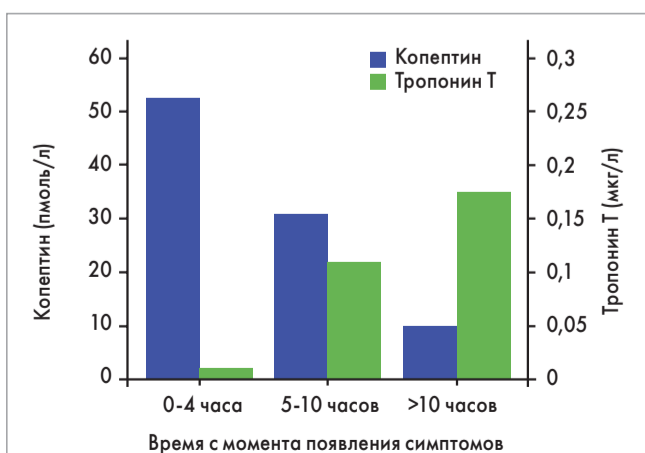


Рис. 5. Использование комбинации копеptина и тропонина для улучшения диагностической точности при ОИМ

Таблица 1. Методы определения концентрации копеptина в сыворотке крови

	BRANMS KRYPTOR compact Plus	ИФА-ридер	ИФА-ридер	ИФА-ридер
Анализатор				
Компания-производитель	Thermo SCIENTIFIC	Elabscience®	USBiological Life Sciences	LSBio LifeSpan BioSciences, Inc.
Страна-производитель	США	Китай	США	США
Набор/тест-система	BRANMS Copeptin proAVP	Human CPP (Copeptin) ELISA Kit	CPP (Copeptin) BioAssay™ ELISA Kit (Human)	Human Copeptin ELISA Kit
Принцип измерения	Технология TRACE – усиленное излучение криптоата с временным разрешением	Метод ELISA	Метод ELISA	Метод ELISA
Время измерения	14 мин	4,5 часа	4,5 часа	4,5 часа
Образец	Сыворотка, плазма	Сыворотка, плазма	Сыворотка, плазма	Сыворотка, плазма
Область измерения	0,7-500 пмоль/л (без разведения) 0,7-2000 пмоль/л (с разведением)	7,77-500 пмоль/л	7,77-500 пмоль/л	7,77-500 пмоль/л

Таблица 2. Комбинация копеptина и тропонина для исключения ОИМ

	Исключение ОИМ у пациентов с грудной болью	ОИМ? Необходимы повторные исследования	ОИМ? Да	Слишком поздно для определения копеptина
Копептин	–	+	+	–
Тропонин	–	–	+	–

Это приводит к увеличению количества положительных результатов при поступлении пациентов по сравнению с менее чувствительным сТnT, что усложняет дифференцировку и дальнейшее ведение пациентов.

Если организм подвергается эндогенному стрессу, такому как ОИМ, это приводит к активации системы АВП и экскреции копеptина в циркуляцию независимо от некроза клеток сердца. Кроме того, недостаточное наполнение левого желудочка, вызванное ОИМ, стимулирует барорецепторы сердца или прямое повреждение барорецепторов, которые впоследствии приводят к АВП и секреции копеptина из задней доли гипофиза. После появления боли в груди концентрация копеptина увеличивается в первые 4 часа, достигая своего пикового значения в 1-й день. На 2-й день копеptин начинает медленно снижаться, достигая плато через 3-5 дней. Уменьшение концентрации копеptина всего через день после ишемии миокарда может указывать на адаптацию к нейрогормональному стрессу путем активации АВП после ОИМ. Копептин повышается в то время, когда другие биомаркеры еще не обнаружены (СК-МВ, ТnT и hs-cTnT достигают пиковых значений после 14 часов и возвращаются к своим нормальным показателям значительно медленнее). Копептин является более чувствительным маркером, чем hs-cTnT и миоглобин, в течение первых 4 часов обнаружения ОИМ. Чувствительность копеptина составляет 75,2% (cut-off >9,8 пмоль/л), hs-cTnT – 43% (cut-off >0,03 мкг/л), миоглобина – 62,3% (cut-off >107 нг/мл). Однако для исключения ОИМ копеptин не может заменить hs-cTnT. Комбинация копеptина и hs-cTnT по сравнению с использованием только с hs-cTnT улучшает диагностическую точность при ОИМ, достигая чувствительности 85,1% и прогностической ценности отрицательного результата (Negative predictive value, NPV) 92,4% в течение 3 часов от начала боли в груди. Концентрация копеptина <14 пмоль/л в сочетании с тропонином Т ≤0,01 мкг/л исключает ОИМ с чувствительностью 98,8% и NPV 99,7% (рис. 5).

Стратегия использования нескольких биомаркеров (сТnT или hs-cTnT для обнаружения и количественного определения некроза миокарда и копеptина для количественного определения эндогенного стресса) для оценки ОИМ имеет преимущества, т. к. включает различные патологические пути и имеет большее прогностическое значение. Использование обоих показателей необходимо для быстрого и точного исключения ОИМ при возникновении симптомов, без повторного измерения диагностических маркеров через 3, 6 и 9 часов.

Методы определения копеptина

Для определения концентрации копеptина используют иммунофлуориметрический метод (Time Resolved Amplified Cryptate Emission, TRACE) и иммуноферментный анализ (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) (табл. 1).

Таким образом, измерение концентрации копеptина вместе с определением тропонина наряду с другими клиническими критериями позволяет проводить раннюю диагностику ОИМ. Отрицательный результат содержания копеptина вместе с тропонином позволяет исключить ОИМ на ранней стадии развития симптомов (табл. 2).

Некоторые ограничения применения копеptина как биомаркера

Важно отметить, что уровень такого биомаркера, как копеptин, должен всегда оцениваться в контексте клинической ситуации. Во-первых, лекарственные препараты могут подавлять действие копеptина. Например, в исследовании здоровых добровольцев копеptин ингибировался при лечении преднизолоном. Во-вторых, уровни копеptина выше у пациентов с почечной недостаточностью.

Выводы

1. Копептин – биомаркер, определение которого дает возможность раннего исключения ОИМ.
2. Использование 2 биомаркеров (копеptина и тропонина) позволяет более эффективно оценить риск возникновения острого коронарного синдрома.
3. Копептин существенно улучшает раннюю диагностику ОИМ (AUC при комбинации с тропонином 0,97).
4. Комбинация измерения уровней копеptина и тропонина приводит к исключению ОИМ с чувствительностью 98,8%.
5. Уровни копеptина и тропонина, а также результаты ЭКГ и другие клинические показатели, используемые в комплексе, могут сигнализировать о необходимости пребывания в лечебном учреждении и измерения уровня тропонина повторно через 6-8 часов у 2/3 пациентов. Подобное изменение в клинической практике может привести как к существенному улучшению качества медицинской помощи, так и к повышению ее экономической эффективности.