

Laboratorinė medicina.
2011, t. 13, Nr. 3(51), p. 157–163.

Cigarečių rūkymo poveikis aterotrombozės rizikai: biožymenų apžvalga

Viktorija Andrejevaitė¹
Ernesta Jančauskaitė¹
Virginijus Šapoka¹
Dovilė Karčiauskaitė²

Santrauka

Šiame straipsnyje apžvelgiamas cigarečių rūkymo poveikis įvairių aterosklerozės patogenezės grandžių žymenims. Cigarečių rūkymas ir buvimas aplinkoje, kurioje rūkoma (pasyvus rūkymas), yra reikšmingas aterosklerozės rizikos veiksnys. Rūkymo sukelta širdies ir kraujagyslių ligų rizika yra tiesiogiai susijusi su surūkomų cigarečių skaičiumi ir su rūkymo trukme. Rūkymas širdies ir kraujagyslių ligų riziką didina veidams įvairiais mechanizmais, skatinančiais aterosklerozės vystymąsi, kraujagyslių pažeidimą, endotelio disfunkciją ir trombozę. Rūkaliams nustatoma reikšmingai padidėjusi uždegimo žymenų koncentracija, padidėjęs leukocitų skaičius, kraujagyslinių ląstelių adhezijos molekulių-1 (VCAM-1) ir tarpląstelinė adhezijos molekulių-1 (ICAM-1) koncentracija. Rūkymas sukelia oksidacinį stresą, todėl rūkaliams randama didesnė oksiduotų mažo tankio lipoproteinų, malondialdehido ir F₂-izoprostonų koncentracija bei sumažėjęs antioksidacinis pajėgumas. Rūkymas neigiamai veikia lipoproteinų apykaitą – didina bendrojo cholesterolio, triacilglicerolio koncentraciją ir mažina didelio tankio lipoproteinų cholesterolio koncentraciją. Jis sutrikdo protrombozinį ir antitrombozinį balansą, dėl to padidėja krešumas ir kraujo klampumas. Rūkaliams dažniau pasireiškia atsparumas insulinui, taip pat jų homocisteino koncentracija yra reikšmingai didesnė nei nerūkančių žmonių. Rūkymo poveikis įvairiems biožymenims dažnai yra ne tik trumpalaikis, bet ir ilgalaikis lėtinis. Metus rūkyti daugelis biožymenų po tam tikro laiko grįžta į normą, tačiau kai kurie pokyčiai, pavyzdžiui, padidėjusi uždegimo žymenų koncentracija, išlieka net ir neberūkant daugelį metų.

Reikšminiai žodžiai: rūkymas, aterosklerozė, nikotinas, biožymenys.

Cigarečių rūkymas ir buvimas aplinkoje, kurioje rūkoma (pasyvus rūkymas), yra reikšmingas veiksnys, didinantis koronarines širdies ligos, insulto, periferinių arterijų ligos riziką. Didesnė rizika yra susijusi tiek su ūmine susiaurėjusių kraujagyslių tromboze, tiek su labiau pažengusia ateroskleroze pažeistose kraujagyslėse. Cigarečių rūkymo sukelta širdies ir kraujagyslių ligų rizika yra tiesiogiai susijusi su surūkomų cigarečių skaičiumi ir rūkymo trukme. Tačiau net ir nedidelis surūkomų cigarečių skaičius ar pasyvus rūkymas šią riziką reikšmingai padidina, palyginti su nerūkančiais asmenimis. Be to, rizika rūkant cigaretes, kuriose mažiau dervų ir nikotino, nėra mažesnė nei rūkant įprastas cigaretes. Metus rūkyti ir vengiant pasyvaus rūkymo širdies ir kraujagyslių ligų rizika greitai ir reikšmingai sumažėja.

Manoma, kad rūkymas turi didesnę poveikį ūminėms, paprastai trombozinėms, ligoms nei aterogenezei [1]. Rūkymo poveikis labai akivaizdus jaunuų ir vidutinio amžiaus suaugusiųjų grupėse, kuriose maždaug 50 % ūminio miokardo infarkto atvejų yra dėl rūkymo. Santykinė širdies ir kraujagyslių ligų rizika jauniems rūkan-

dina, palyginti su nerūkančiais asmenimis. Be to, rizika rūkant cigaretes, kuriose mažiau dervų ir nikotino, nėra mažesnė nei rūkant įprastas cigaretes. Metus rūkyti ir vengiant pasyvaus rūkymo širdies ir kraujagyslių ligų rizika greitai ir reikšmingai sumažėja.

¹Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Vidaus ligų, Šeimos medicinos ir Onkologijos klinika
Vilnius University Faculty of Medicine, Family Medicine and Oncology Clinic
El. paštas: viktorija.andrejevaite@mf.vu.lt

²Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Fiziologijos, biochemijos ir laboratorinės medicinos katedra
Vilnius University Faculty of Medicine, Department of Physiology, Biochemistry and Laboratory Medicine

tiems žmonėms yra daug didesnė nei vyresnio amžiaus žmonėms iš esmės todėl, kad šių ligų jauniems nerūkantiems žmonėms pasitaiko labai retai [1]. Tačiau absoliuti papildoma rūkymo sukeliama rizika didėja su amžiumi [2]. Be rūkymo, esant ir kitų širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksnių, bendra šių ligų rizika padidėja dar labiau [3].

Rūkymas širdies ir kraujagyslių ligų riziką didina veikdamas įvairiais mechanizmais, skatinančiais aterosklerozės vystymąsi, kraujagyslių pažeidimą, endotelio disfunkciją bei trombozę. Šiame straipsnyje apžvelgiamas rūkymo poveikis įvairių aterosklerozės patogenezės grandžių biocheminiams žymenims.

Cigarečių dūmų sudėtis ir poveikis

Rūkant cigaretes susidarančiuose dūmuose išskiriamos keturios pagrindinės sudedamosios dalys: anglies monoksidas (CO), kitos dujinės medžiagos, nikotinas ir kietosios dalelės. Iš viso cigarečių dūmuose yra daugiau nei 4000 cheminių medžiagų, tarp kurių yra ir policiklinių aromatinių gliavandenilių bei oksiduojančiųjų dujų, veikiančių kardiotoksiškai. Su cigarečių dūmais įkvėptas anglies monoksidas prisijungia prie hemoglobino, dėl to pablogėja deguonies prijungimas, taip pat CO slopina deguonies atsipalaidavimą iš hemoglobino. Rūkalių karboksihemoglobino koncentracija kraujyje siekia 10 %, kartais net 15 %, o nerūkančių asmenų kraujyje – tik 0,5–2 %. CO kiekio padidėjimas kraujyje sukelia hipoksemiją, dėl to ima veikti kompensaciniai mechanizmai, kurie didina eritrocitų kiekį ir kraujo klampumą [4]. Tačiau nėra galutinai aišku, ar rūkalių CO koncentracijos padidėjimas ir su tuo susijusi nedidelė audinių hipoksija atlieka svarbų vaidmenį aterosklerozės patogenezėje. Eksperimentiniame tyrime su šunimis nustatyta, kad cigarečių dūmai ir anglies monoksidas didina arterijų sienelės pralaidumą žymėtam fibrinogenui, o tai lemia aterosklerozę skatinantį poveikį [5]. Taip pat paaiškėjo, kad toksinės anglies monoksido dozės sukelia žymų oksidacinį stresą [6].

Cigarečių rūkymas skatina oksiduotųjų medžiagų, tokių kaip hidrogeno peroksido, peroksinitritų ir superoksido susidarymą [7]. Oksiduojantys chemikalai, tokie kaip policikliniai aromatiniai gliavandeniliai, sukelia uždegimą ir gali skatinti endotelio

disfunkciją bei inicijuoti kraujagyslių pažeidimą [8].

Vieno iš pagrindinių cigarečių dūmuose esančių elementų – nikotino tiesioginis aterogenezinis poveikis nėra įrodytas. Nikotinas gali turėti netiesioginį aterogenezinį poveikį dėl simpatinės nervų sistemos aktyvinimo, noradrenalino ir adrenalino išsiskyrimo, nes tai skatina vazokonstrikciją, širdies ritmo sutrikimus ir didina šlyties jėgos poveikį aterosklerozinei plokštei [9]. Nikotinas veikia ne tik širdies ir kraujagyslių sistemą, padidindamas širdies susitraukimų dažnį, kraujo spaudimą, širdies išstūmimo tūrį, bet ir medžiagų apykaitą didindamas lipolizę. Vykstant lipolizei padidėja laisvųjų riebalų rūgščių ir glicerolio koncentracija kraujyje, o padidėjusi riebalų apykaita didina deguonies poreikį, todėl aktyvėja vainikinė kraujotaka ir deguonies sunaudojimas miokarde. Taip pat nustatyta, kad dėl nikotino poveikio didėja leukocitų skaičius bei dendritinių ir T ląstelių proliferacija, sutrikdoma endotelio funkcija [10, 11]. Ląstelių kultūrų tyrimai rodo, kad nikotinas skatina endotelio ląstelių DNR sintezę ir proliferaciją [12]. Kita vertus, tyrimais su kramtomuoju tabaku nustatytas toks pat simpatomimetinis poveikis, kaip ir rūkant, bet neįrodytas aterosklerozės ir ūminių koronarinių sindromų patogenezėi būtinų uždegimo, endotelio disfunkcijos, trombocitų aktyvacijos ar oksidacinio streso pasireiškimas [13].

Vis dėlto svarbiausia, kad nikotinas sukelia priklausomybę nuo tabako, o tai lemia, kad rūkalius veikia daug pavojingesni cigarečių dūmų komponentai.

Cigarečių dūmuose yra įvairių metalų – aliuminio, kadmio, vario, švino, gyvsidabrio, nikelio ir cinko. Šie metalai katalizuoja ląstelės baltymų oksidaciją [14]. Tai gali sukelti struktūrinius pažeidimus, endotelio disfunkciją, endotelio ląstelių atsisluoksniavimą nuo kraujagyslės sienelės. Nustatyta, kad rūkalių kraujyje kadmio koncentracija yra didesnė, be to, kadmio kaupiasi aortos sienelėje [15]. Epidemiologiniai tyrimai rodo, kad kadmio ir švino koncentracija kraujyje siejasi su širdies ir kraujagyslių ligomis [15].

Rūkymas, imuninė sistema ir uždegimo žymenys

Daugelis cigarečių rūkymo padarinių sveikatai gali būti siejami su neigiamu poveikiu imuninei sistemai – tiek įgimtą, tiek įgytą imunitetui [16]. Sergant autoimuninėmis reumatinė-

mis ligomis, tokiomis kaip reumatoidinis artritas ir sisteminė raudonoji vilkligė, rūkymas veikia genetinius veiksnius, tai lemia bendrą rizikos padidėjimą, šių ligų eigos ir baigčių pokyčius [17]. Nustatyta, kad pacientams, sergantiems antifosfolipidiniu sindromu, rūkymas padidina arterinės trombozės riziką [18]. Tai rodo, kad yra sinerginė sąveika tarp autoimuninio ir aterosklerozės uždegiminio proceso. Ankstyva ir pažengusi aterosklerozė yra būdinga kai kurioms autoimuninėms ligoms, o rūkymas dar labiau pagreitina aterosklerozės vystymąsi [17].

Padidėjęs leukocitų skaičius yra nepriklausomai susijęs su angiografiškai įrodyta koronarine širdies liga, daugybiniu vainikinių arterijų pažeidimu ir pasikartojančiu miokardo infarktu [19]. MRFIT (angl. *Multiple Risk Factor Intervention Trial*) tyrime įvertinus 6222 sveikų vyrų duomenis nustatyta, kad padidėjęs leukocitų skaičius buvo prognozinis mirties nuo koronarinės širdies ligos žymuo [20]. Leukocitų skaičius rūkalių kraujyje didėja priklausomai nuo surūkomų cigarečių skaičiaus [21]. Vienmomentiniai tyrimai nustatyta, kad rūkalių kraujyje leukocitų skaičius yra apie 10–20 % didesnis nei nerūkančių asmenų [22], reikšmingai padidėja visų leukocitų subpopuliacijų kiekis: aktyviai rūkantiems žmonėms padaugėja neutrofilų, monocitų, eozinofilų, B ir T limfocitų, tačiau labiausiai su rūkymu yra susijęs neutrofilų ir CD4+ T limfocitų skaičiaus didėjimas. Nustatyta, kad leukocitų skaičius reikšmingai padidėja surūkčius dvigubai, o metus rūkyti gali praeiti ir penkeri metai, kol hematologiniai rodikliai grįžta į normos ribas [23]. Autopsijų duomenimis, jauniems 30–34 metų vyrams cigarečių rūkymas lėmė didesnę makrofagų ir putotųjų ląstelių skaičių bei ApoE kaupimąsi aterosklerozinių pažeidimų vietose [24].

Didelio jautrumo C reaktyvusis baltymas (dj-CRB) yra svarbus rodiklis vertinant širdies ir kraujagyslių ligų riziką. Rūkalių kraujyje nustatoma didesnė dj-CRB koncentracija nei nerūkančių asmenų. Dj-CRB koncentracija yra tiesiogiai susijusi su pakmečiais (t. y. per dieną surūkomų cigarečių skaičius padauginamas iš rūkymo laikotarpio metais ir padalijamas iš 20) [25]. Ištyrus sveikus vyrus paaiškėjo, kad rūkymas yra vienas iš svarbiausių veiksnių, lemiančių dj-CRB koncentracijos kraujyje padidėjimą [26]. ECAT (angl. *European Concerted Action on Thrombosis*) tyrimo duomenimis, kito jautraus ūmios fazės baltymo amiloido A koncentracija serume

priklauso nuo laikotarpio, praėjusio metus rūkyti, ir yra mažiausia niekada nerūkiusių asmenų [27].

Keleto nedidelių tyrimų rezultatai rodo, kad rūkalių kraujyje sialo rūgšties koncentracija yra didesnė [28, 29], tačiau tikslus ryšys tarp sialo koncentracijos padidėjimo ir rūkymo nėra iki galo aiškus. Taip pat nėra visiškai aišku, koks ryšys sieja kitų ūmios fazės žymenų, pavyzdžiui, ceruloplazmino, 2-makroglubulino, 1-antichimotripsino, koncentracijos padidėjimą ir rūkymą [30].

Apskritai, uždegimo žymenų koncentracija rūkalių kraujyje yra reikšmingai didesnė nei nerūkančių asmenų, o metus rūkyti reikšmingai sumažėja, tačiau vis tiek išlieka didesnė nei niekada nerūkiusiųjų [31]. Tai, kad uždegimo žymenų koncentracija metus rūkyti nesumažėja iki niekada nerūkiusiųjų asmenų lygio, rodo išliekantį tam tikrą uždegimo mediatorių aktyvumą greičiausiai dėl besitęsiančio aterosklerozinio kraujagyslių pažeidimo, endotelio disfunkcijos ar kitų lėtinių ligų, pavyzdžiui, lėtinės obstrukcinės plaučių ligos.

Nustatyta, kad rūkymas turi panašų poveikį adhezijos molekulėms, kaip ir leukocitų skaičiaus padidėjimui. Keleto tyrimų duomenimis, rūkaliams padaugėjo ICAM-1, tačiau VCAM-1 kiekis liko nepakitęs [32, 33]. Tačiau rūkaliams, sergantiems periferinių arterijų liga, nustatytas tiek ICAM-1, tiek VCAM-1 kiekio padidėjimas [34]. E selektino kiekis taip pat reikšmingai buvo padidėjęs, bet ne tiek daug kaip leukocitų skaičius ar ICAM-1 [32]. Eksperimentiškai *in vitro* lyginant rūkalių ir nerūkančių asmenų kraujo serumą nustatyta, kad rūkymas lemia didesnę monocitų adheziją prie endotelio ląstelių, be to, ICAM-1 ekspresija ant žmogaus bambos venos endotelio ląstelių buvo didesnė po inkubacijos su rūkalių serumu, tačiau skirtumo nebuvo vertinant VCAM-1 ir E-selektino molekules [35].

Eksperimentuojant su pelėmis įrodyta, kad uždegimą skatinančių citokinų slopinimas sulėtina aterosklerozės progresavimą. Paaikškėjo, kad rūkymas didina daugelio uždegimą skatinančių citokinų koncentraciją.

IL-6 yra daugiafunkcis citokinas, kuris atlieka esminį vaidmenį vykstant uždegimui ir audinių pažeidimui. Jis skatina ūmios fazės baltymų, kitų citokinų ir augimo faktorių ekspresiją, gali aktyvinti trombocitus, pasižymi krešėjimą skatinančiu ir mitogeniniu poveikiu lygiųjų raumenų ląstelėms [36]. Perspektyviaisiais tyrimais įrodytas ryšys tarp IL-6 koncentracijos ir kardiovaskulinių įvykių rizikos [37,

38]. Taip pat atlikta nemažai tyrimų, kuriuose vertintas rūkymo poveikis IL-6. Nustatyta, kad rūkalių IL-6 koncentracija kraujyje yra reikšmingai didesnė nei nerūkančių asmenų [39].

IL-8 yra uždegimą skatinantis peptidas ir stiprus chemotaksio veiksnys neutrofilams. Klinikiniais tyrimais vertinant IL-8 ir širdies ligų ryšį paaikškėjo, kad IL-8 koncentracija širdies ligomis sergančių žmonių kraujyje didesnė nei sveikųjų. Lyginant rūkalių ir nerūkančių žmonių grupes nustatyta, kad IL-8 koncentracija buvo reikšmingai didesnė rūkalių kraujyje [40].

Rūkymas ir oksidacinis stresas

Oksidacinį stresą galima įvertinti pagal bilirubino, malondialdehido (MDA) koncentraciją kraujyje ir F₂-izoprostonų koncentraciją kraujyje ir šlapime [41]. Oksidacinį stresą galima išmatuoti ir tiesiogiai, tačiau kol kas abejojama šių metodų patikimumu.

Eksperimentiniai tyrimai rodo, kad rūkymas skatina superoksido susidarymą kraujagyslėse, o tai sumažina NO prieinamumą, nors NO sintazės ir cGMP aktyvumas lieka nepakitę [42]. Rūkymo sukeltą nuo endotelio priklausomo kraujagyslių atsipalaidavimo sutrikimą galima sumažinti vartojant vitamino C, kuris sujungia laisvuosius radikalus [43]. Rūkymas lemia lipidų oksidacijos produktų daugėjimą dėl padidėjusios lipidų peroksidacijos. Malondialdehido (MDA) koncentracija plazmoje didėja su amžiumi, tačiau rūkalių ir sergančių ateroskleroze žmonių MDA koncentracija yra reikšmingai didesnė nei nerūkančių ir sveikų žmonių [44]. Kitaip nei MDA, stabilūs lipidų peroksidacijos *in vivo* produktai yra F₂-izoprostonai, todėl iš jų kiekio galima tiksliau įvertinti lipidų peroksidaciją *in vivo*. Jų koncentracija rūkalių yra didesnė nei nerūkančių asmenų. F₂-izoprostonų koncentracija šlapime siejasi su kotinino, stabilaus nikotino metabolito, koncentracija šlapime [45].

Cigarečių dūmai yra laisvųjų radikalų šaltinis, tad rūkalių antioksidacinis pajėgumas yra sumažėjęs. Dietrich ir kt. duomenimis, rūkalių kraujyje vitamino C koncentracija buvo patikimai mažesnė nei nerūkančių žmonių, alfa-tokoferolio koncentracija plazmoje nesiskyrė, nors gama-tokoferolio koncentracija buvo didesnė tiek pasyviai, tiek aktyviai rūkalių žmonių, palyginti su nerūkančiais [46]. Lykesfeldt ir kt. nenustatė alfa-tokofero-

lio, beta-karoteno ir likopeno koncentracijos skirtumų rūkalių ir nerūkančių žmonių kraujyje [47]. Išaiškėjo, kad rūkymas sumažina ir kitų antioksidantų, tokių kaip bilirubinas ir glutatonas, koncentraciją [48].

Rūkymas ir endotelio funkcija

Sukaupta daug įrodymų, kad cigarečių rūkymas skatina funkcinis, biocheminius ir morfologinius endotelio pokyčius [49]. Ilgalais rūkymas lemia padidėjusį albumino praeinamumą per kapiliarų sienelę bei albuminuriją [50]. Ikiklinikinė mikroalbuminurija yra prognozinis tolesnių kardiovaskulinių įvykių rodiklis diabetu sergantiems ir juo nesergantiems asmenims. Eksperimentinio *in vitro* tyrimo, kurio metu analizuojant endotelio NO sintazės aktyvumą ląstelės buvo inkubuojamos su rūkalių ir nerūkančių žmonių serumu, rezultatai parodė, kad rūkalių endotelio disfunkcija yra susijusi su sutrikusia endotelio NO biosinteze [51]. Ilgai rūkalių asmenų išskvepiamo NO kiekis yra sumažėjęs ir šis sumažėjimas tiesiogiai proporcingas surūkytų cigarečių skaičiui. Remiantis šiais rezultatais manoma, kad rūkymas slopina NO sintazės aktyvumą, gali būti, kad endogeninio NO gamyba yra slopinama dėl didelės NO koncentracijos tabako dūmuose [52].

Endotelinas-1 yra kraujagysles smarkiai sutraukianti medžiaga, išskiriama endotelio ląstelių kaip atsakas į įvairius dirgiklius – angiotenziną-2, trombiną, vazopresiną, insuliną, gliukozę, audinių augimo faktorių, bradikininą [53]. Dauguma tyrimų patvirtina ryšį tarp padidėjusios endotelino-1 koncentracijos plazmoje ir rūkymo, tačiau šie rezultatai literatūroje interpretuojami nevienodai. Nors endotelino-1 koncentracijos padidėjimas dėl rūkymo gali būti reikšmingas aterosklerozės patogenezėje, endotelino-1 koncentracija gali padidėti ir dėl antirinių priežasčių, pavyzdžiui, dėl sumažėjusio endotelino-1 susijungimo ar padidėjusio išsiskyrimo dėl kitų fiziologinių ar patologiškų dirgiklių.

Rūkymas, trombocitų funkcija ir hemostazė

Vienas iš svarbiausių mechanizmų, lemiančių ūminius kardiovaskulinius įvykius, yra trombozė sukeliančios hiperkoaguliacinės būklės susidarymas. Epidemiologiniai tyrimai rodo, kad cigarečių rūkymas padidina ūminio miokardo infarkto ir staigios mirties nuo trombozės riziką [54]. Rūkymas skatina trombozė, indukuodamas

trombocitų aktyvaciją ir agregaciją bei stimuliuodamas krešėjimo veiksmų protrombocitinius pokyčius. Reikšmingo koronarinių įvykių prognozinio rodiklio fibrinogeno koncentracija rūkalių kraujyje yra padidėjusi. Trombozės riziką sustiprina ir padidėjęs eritrocitų kiekis dėl ilgalaikio CO poveikio, padidėjęs kraujo klampumas bei sustiprėjusi trombocitų aktyvacija. Fibrinogenas taip pat prisideda prie aterosklerozės vystymosi dėl tiesioginio poveikio trombocitams. Kaip buvo nustatyta švedų tyrime MONICA, svarbus fibrinogeno koncentracijos padidėjimo veiksnys yra amžius: paprastai, fibrinogeno padaugėja apie 1 % per metus, arba apie 10 % per dešimtmetį. Fibrino koncentracija padidėja tiek vyrų, tiek moterų, o rūkalių ji yra apie 10 % didesnė negu nerūkančių žmonių kiekvienoje amžiaus grupėje [55].

Audinių faktorių, kurio randama aterosklerozinėse plokštelėse, skatina plokštelės tromboteniskumą ir trombo susidarymą. Sambola ir kt. duomenimis, rūkymas didina audinių faktorių koncentraciją asmenims, kurie surūko 10 ar daugiau cigarečių per dieną [56].

Vienas iš pagrindinių trombocitų aktyvacijos kelių yra per ciklooksigenazę-1, dalyvaujančią tromboksano A_2 sintezėje, todėl trombocitų aktyvumą galima vertinti pagal 11-dehidrotromboksano B_2 (11-DHTB), stabilaus tromboksano A_2 metabolito, koncentraciją šlapime. HOPE (angl. *Heart Outcomes Prevention Evaluation*) tyrime vertinant didelės rizikos Kanados pacientų duomenis, nustatytas reikšmingas ryšys tarp 11-HTB ir miokardo infarkto bei mirties rizikos [57]. Lyginant aktyvius rūkalius su nerūkančiais žmonėmis, pirmiesiems buvo nustatytas reikšmingas 11-DHTB padaugėjimas, priklausomas nuo dozės. Be to, rūkalių trombocitų jautrumas tromboksano antagonistui prostaciklinui buvo sumažėjęs [58]. Aktyvus rūkymas padidina trombocitų agregaciją, sukelia trombiną, net jei vartojamas aspirinas [59]. Rūkalių trombinų gamyba yra apytiksliai du kartus aktyvesnė nei nerūkančių žmonių, o iš karto po cigaretės surūkymo trombinų gamyba padidėja net tris kartus [60]. Tačiau metus rūkyti jau po dviejų savaičių trombocitų agregacija reikšmingai sumažėja net ir ilgą laiką rūkusiems žmonėms [61].

Tirpus trombocitų membranos glikoproteinas V (GpV), naujas trombocitų aktyvacijos žymuo, yra reikšmingai padidėjęs sveikų rūkantių asmenų, palyginti su nerūkančiais. Iš karto surūkius cigaretę GpV koncentracija dar labiau nepadidėja, nors trombocitų ag-

regacija ir b-tromboglobulino, kito trombocitų aktyvacijos žymens, koncentracija padidėja [62].

Cigarečių rūkymas yra susijęs su tiesioginiu nuo dozės priklausomu von Willebrando faktoriaus (vWF) aktyvumo padidėjimu plazmoje. Rūkymas turi didesnę įtaką vWF aktyvumo padidėjimui nei fibrinogeno, ICAM-1 ir P-selektino koncentracijos padidėjimui [63].

Plazmos audinių plazminogeno aktyviklis (tPA) ir plazminogeno aktyviklio inhibitorius-1 (PAI-1) – fibrinolizės žymenys, kurie parodo profibrinolizinio (tPA) ir antifibrinolizinio (PAI-1) aktyvumo pusiausvyrą. Viena populiariausiuose tyrimuose nustatyti padidėję tiek tPA, tiek PAI-1 kiekiai 166 aktyviems rūkantiems, palyginti su 312 nerūkančiais asmenimis [64]. Kitų tyrimų rezultatai parodė, kad rūkymas neigiamai veikia fibrinolizės procesą vainikinėse kraujagyslėse ir esama tiesioginio ryšio tarp endotelio disfunkcijos ir aterosklerozės [65]. Edinburge atlikto tyrimo duomenimis, tPA antigeno titras buvo mažiausias nerūkančių tiriamųjų grupėje ir didžiausias – rūkantiųjų [66]. Kiti krešėjimo žymenys – VII faktorius ir protrombino fragmentai F_{1+2} buvo panašūs tiek rūkantių, tiek nerūkančių asmenų [67]. Rūkantių PAI-1 koncentracija kraujyje yra didesnė negu tų, kurie nerūko ar anksčiau rūkė. Newby ir kt., ištyrę vainikinės arterijos ir vainikinio ašies fibrinolizinį aktyvumą po P substancijos infuzijos, nustatė, kad rūkantių vainikinėse arterijose tPA išsiskiria reikšmingai mažiau negu nerūkančių žmonių [68].

Atlikus perspektyvų išeminės širdies ligos rizikos vertinimo tyrimą, nustatyta reikšmingai padidėjusi D dimerų koncentracija rūkantiems [69]. Tačiau Edinburge atlikto tyrimo autoriai D dimerų koncentracijų skirtumo tarp rūkantių ir nerūkančių asmenų nerado [67].

Homocisteinas

Nustatyta, kad rūkantių kraujyje homocisteino koncentracija yra didesnė ir priklauso nuo surūkiusių cigarečių skaičiaus [70]. Žinoma, kad net nedidelis plazmos homocisteino koncentracijos padidėjimas yra aterosklerozės ir padidėjusios mirtingumo rizikos žymuo. Kita vertus, manoma, kad reikšmingas ryšys tarp rūkymo ir padidėjusios homocisteino koncentracijos gali būti dėl skirtingų rūkantių žmonių mitybos įpročių. Paprastai rūkantių dienos davinyje yra mažesnis kiekis B grupės vitaminų ir folatų – būtinų kofaktorių, reguliuojančių ho-

mocisteino koncentraciją plazmoje. Vis dėlto homocisteino tyrimo rezultatai rodo, kad ryšys tarp rūkymo ir homocisteino koncentracijos padidėjimo išlieka net ir po mitybos korekcijos pagal vitamino B_{12} ir folatų koncentraciją [71].

Rūkymas, atsparumas insulinui ir antro tipo cukrinis diabetas

Rūkaliai turi didesnę atsparumo insulinui ir 2 tipo diabeto riziką [72]. Epidemiologiniais tyrimais nustatyta, kad 2 tipo diabeto rizika rūkantiems asmenims priklauso nuo surūkiusių cigarečių skaičiaus ir yra tris kartus didesnė daug rūkantiems asmenims [73]. EPIC-Norfolk tyrimo duomenimis, rūkymas yra nepriklausomai susijęs su padidėjusia hemoglobino A_{1c} ($Hb A_{1c}$) koncentracija ir šis ryšys tiesiogiai priklauso nuo surūkiusių cigarečių skaičiaus [74]. Atlikus vėžio prevencijos tyrimą (angl. *Cancer Prevention Study I*), kuriame dalyvavo daugiau nei 1 milijonas asmenų, paaiškėjo, kad metus rūkyti diabeto rizika iki niekada nerūkiusių asmenų lygio vyrams sumažėja po 10 metų, o moterims po 5 metų [73].

Rūkymas ir lipidų metabolizmas

Rūkantiems asmenims yra nustatoma didesnė bendrojo cholesterolio ir triacilglicerolių koncentracija nei nerūkantiems. Šis padidėjimas yra priklausomas nuo surūkiusių cigarečių skaičiaus ir yra didesnis moterims nei vyrams [75]. Rūkymas sumažina didelio tankio lipoproteinų (DTL) cholesterolio koncentraciją ir padidina triacilglicerolių koncentraciją, tačiau neveikia mažo tankio (MTL) cholesterolio koncentracijos. Nėra aišku, ar šis poveikis yra susijęs su antiestrogeniniu rūkymo poveikiu, ar skirtingais rūkantių ir nerūkančių žmonių mitybos įpročiais. Rūkantių bendrojo cholesterolio koncentracija yra 3 % didesnė nei nerūkančiųjų, triacilglicerolių – 10–15 % didesnė, o DTL cholesterolio apie 6,5 % mažesnė. Dėl rūkymo išsiskiriantis adrenalinas padidina laisvųjų riebalų rūgščių koncentraciją, o tai skatina daug triacilglicerolių turinčių labai mažo tankio lipoproteinų (LMTL) sintezę kepenyse ir išsiskyrimą į kraujotaką. Rūkymo poveikis kraujo lipidų koncentracijai yra greitas. Pastebėta, kad DTL cholesterolio koncentracija sumažėja surūkius dvi cigaretes. Be to, rūkantiems asme-

nims būdingas mažesnis lipoproteino lipazės ir lecitincholesterolaciltransferazės aktyvumas [76].

Apibendrinimas

Rūkymas priklauso modifikuojamam aterosklerozės rizikos veiksnių grupei. Rūkymo sukelti aterosklerozės biožymenų pokyčiai dažniausiai priklauso nuo surūkytų cigarečių skaičiaus, o metus rūkyti šie pokyčiai paprastai išnyksta ir biožymenys grįžta į normos ribas. Daug neigiamų rūkymo padarinių sveikatai lemia žalojantis poveikis imuninei sistemai. Rūkymas reikšmingai padidina uždegimo žymenų koncentraciją, sukelia oksidacinį stresą, sutrikdo lipoproteinų apykaitą. Rūkalių homocisteino koncentracija yra reikšmingai didesnė nei nerūkančių žmonių. Rūkymas sukelia protrombozinį ir antitrombozinį disbalansą, dėl to padidėja krešumas ir kraujų klampumas. Rūkymas yra stipriausias žinomas fibrinogeno koncentracijos sveikų žmonių kraujyje didėjimą lemiantis veiksnys. ◆

Gauta: 2011 07 01
Priimta spaudai: 2011 09 28

Summary

CIGARETTE SMOKING IMPACT ON ATHEROTHROMBOSIS RISK: REVIEW OF BIOMARKERS

Viktorija Andrejevaitė, Ernesta Jančiauskaitė, Virginijus Šapoka, Dovilė Karčiauskaitė

In the article cigarette smoking related changes of biomarkers reflecting various mechanisms of atheropathogenesis are reviewed. Cigarette smoking and involuntary exposure to tobacco smoke (passive smoking) is a significant modifiable risk factor for cardiovascular diseases. The cardiovascular risk attributable to cigarette smoking increases with the number of cigarettes smoked and with the duration of smoking. Smoking enhances cardiovascular risk through various mechanisms including progression of atherosclerosis, vascular injury, endothelial dysfunction and thrombosis. Levels of inflammatory markers are increased in smokers, as well as is increased count of white blood cells and levels of vascular cellular adhesion molecule-1 and intracellular adhesion molecule-1. Smoking is associated with oxidative stress and smokers have higher plasma level of oxidized low density lipoproteins, malondialdehyde and F₂-isoprostanes. Ciga-

rette smoke is an important source of free radicals, which have been shown to diminish antioxidant capacity. Smoking causes unfavorable changes in the lipid profile: cigarette smoking increases total cholesterol and triglycerides, and lowers high density cholesterol. Smoking enhances platelet aggregability and shifts the pro- and antithrombotic balance towards increased coagulability and blood viscosity. Insulin resistance is higher in smokers compared with nonsmokers, and smokers have higher blood levels of homocysteine than nonsmokers. Smoke exposure may influence acute as well as chronic changes of markers. Smoking cessation has been shown to restore the most of markers to the level of nonsmokers, except that the level of inflammatory biomarkers does not drop to levels observed in never-smokers.

Keywords: smoking, atherosclerosis, nicotine, biomarkers.

LITERATŪRA

- Benowitz NL. Cigarette smoking and cardiovascular disease: pathophysiology and implications for treatment. *Prog Cardiovasc Dis* 2003; 46: 91–111.
- Burns DM. Epidemiology of smoking-induced cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis* 2003; 46(1): 11–29.
- Metz L, Waters DD. Implications of cigarette smoking for the management of patients with acute coronary syndromes. *Prog Cardiovasc Dis* 2003; 46(1): 1–9.
- Safety and Toxicity. NY, USA: Oxford University Press, 1998.
- Allen DR, Browse NL, Rutt DL, Butler L, Fletcher C. The effect of cigarette smoke, nicotine, and carbon monoxide on the permeability of the arterial wall. *J Vasc Surg* 1988; 7: 139–52.
- Ernst A, Zibrak JD. Carbon monoxide poisoning. *N Engl J Med* 1998; 339: 1603–8.
- Burke A, Fitzgerald GA. Oxidative stress and smoking-induced vascular injury. *Prog Cardiovasc Dis* 2003; 46(1): 79–90.
- Steinberg MB, Schmelzer AC, Lin PN, Garzia G. Smoking as a chronic disease. *Curr Cardio Risk Rep* 2010; 4: 413–20.
- Benowitz NL, Hansson A, Jacob P III. Cardiovascular effects of nasal and transdermal nicotine and cigarette smoking. *Hypertension* 2002; 39: 1107–12.
- Aicher A, Heeschen C, Mohaupt M, Cooke JP, Zeiher AM, Dimmeler S. Nicotine strongly activates dendritic cell-mediated adaptive immunity: potential role for progression of atherosclerotic lesions. *Circulation* 2003; 107: 604–11.
- Neunteufl T, Heher S, Kostner K, Mitulovic G, Lehr S, Khoschsorur G, et al. Contribution of nicotine to acute endothelial dysfunction in long-term smokers. *J Am Coll Cardiol* 2002; 239: 251–6.
- Heeschen C, Jang JJ, Weis M, Pathak A, Kaji S, Hu RS, et al. Nicotine stimulates angiogenesis and promotes tumor growth and atherosclerosis. *Nat Med* 2001; 7: 833–9.
- Burke A, Fitzgerald GA. Oxidative stress and smoking-induced vascular injury. *Prog Cardiovasc Dis* 2003; 46: 79–90.
- Bernhard D, Rossmann A, Wick G. Metals in cigarette smoke. *IUBMB Life* 2005; 57: 805–9.
- Abu-Hayyeh S, Sian M, Jones KG, Manuel A, Powell JT. Cadmium accumulation in aortas of smokers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 863–7.
- Sopori M. Effects of cigarette smoke on the immune system. *Nat Rev Immunol* 2002; 2(5): 372–7.
- Harel-Meir M, Sherer Y, Shoenfeld Y. Tobacco smoking and autoimmune rheumatic diseases. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2007; 3: 707–15.
- Erkan D, Yazici Y, Peterson MG, Sammaritano L, Lockshin MD. A cross-sectional study of clinical thrombotic risk factors and preventive treatments in antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxf)* 2002; 41: 924–9.
- Cavusoglu E, Chopra V, Gupta A, Ruwende C, Yanamadala S, Eng C, et al. Usefulness of the white blood cell count as a predictor of angiographic findings in an unselected population referred for coronary angiography. *Am J Cardiol* 2006; 98: 1189–93.
- Sherwin R, Kaelber CT, Kezdi P, Kjelsberg MO, Thomas HE Jr. The multiple risk factor intervention trial (MRFIT) II. The development of the protocol. *Prev Med* 1981; 10: 402–25.
- Bovill EG, Bild DE, Heiss G, Kuller LH, Lee MH, Rock R, et al. White blood cell counts in persons aged 65 years or more from the Cardiovascular Health Study. Correlations with baseline clinical and demographic characteristics. *Am J Epidemiol* 1996; 143: 1107–15.
- Freedman DS, Flanders WD, Barboriak JJ, Malarcher AM, Gates L. Cigarette smoking and leukocyte subpopulations in men. *Ann Epidemiol* 1996; 6: 299–306.
- Avramakis, E. Papadimitraki, D. Papakonstandinou, K. Liakou, M. Zidianakis, A. Dermitzakis, et al. Platelets and white blood cell subpopulations among patients with myocardial infarction and unstable angina. *Platelets* 2007; 18: 16–23.
- Botti TP, Amin H, Hiltcher L, Wissler RW. A comparison of the

- quantitation of macrophage foam cell populations and the extent of apolipoprotein E deposition in developing atherosclerotic lesions in young people: high and low serum thiocyanate groups as an indication of smoking. PDAY Research Group. *Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth. Atherosclerosis* 1996; 124: 191–202.
25. Tracy RP, Psaty BM, Macy E, Bovill EG, Cushman M, Cornell ES et al. Lifetime smoking exposure affects the association of C-reactive protein with cardiovascular disease risk factors and subclinical disease in healthy elderly subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2167–76.
 26. Rohde LE, Hennekens CH, Ridker PM. Survey of C-reactive protein and cardiovascular risk factors in apparently healthy men. *Am J Cardiol* 1999; 84: 1018–22.
 27. Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD, Gallimore JR, Pepys MB. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet* 1997; 349: 462–6.
 28. Lindberg G, Rastam L, Gullberg B, Lundblad A, Nilsson-Ehle P, Hanson BS. Serum concentrations of total sialic acid and sialoglycoproteins in relation to coronary heart disease risk markers. *Atherosclerosis* 1993; 103: 123–9.
 29. Lindberg G, Rastam L, Gullberg B, Eklund GA, Tornberg S. Serum sialic acid concentration and smoking: a population based study. *BMJ* 1991; 303: 1306–7.
 30. Tappia PS, Troughton KL, Langley-Evans SC, Grimble RF. Cigarette smoking influences cytokine production and antioxidant defense. *Clin Sci* 1995; 88: 485–9.
 31. Lao XQ, Jiang CQ, Zhang WS, Adab P, Lam TH, Cheng KK, et al. Smoking, smoking cessation and inflammatory markers in older Chinese men: The Guangzhou Biobank Cohort Study. *Atherosclerosis* 2009; 203: 304–10.
 32. Winkelmann BR, Boehm BO, Nauck M, Kleist P, März W, Verho NK, et al. Cigarette smoking is independently associated with markers of endothelial dysfunction and hyperinsulinaemia in nondiabetic individuals with coronary artery disease. *Curr Med Res Opin* 2001; 17: 132–41.
 33. Takeuchi N, Kawamura T, Kanai A, Nakamura N, Uno T, Hara T, et al. The effect of cigarette smoking on soluble adhesion molecules in middle-aged patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2002; 19: 57–64.
 34. Blann AD, Seigneur M, Steiner M, Miller JP, McCollum CN. Circulating ICAM-1 and VCAM-1 in peripheral artery disease and hypercholesterolemia: relationship to the location of atherosclerotic disease, smoking, and in the prediction of adverse events. *Thromb Haemost* 1998; 79: 1080–5.
 35. Adams MR, Jessup W, Celermajer DS. Cigarette smoking is associated with increased human monocyte adhesion to endothelial cells: reversibility with oral l-arginine but not vitamin C. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 491–7.
 36. Saadeddin SM, Habbab MA, Ferns GA. Markers of inflammation and coronary artery disease. *Med Sci Monit* 2002; 8: RA5–12.
 37. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101: 1767–72.
 38. Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE, Siscovick DS, Mouton CP, Rifai N, et al. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative observational study. *JAMA* 2002; 288: 980–7.
 39. Bermudez EA, Rifai N, Buring JE, Manson JE, Ridker PM. Relation between markers of systemic vascular inflammation and smoking in women. *Am J Cardiol* 2002; 89: 1117–9.
 40. Romuk E, Skrzep-Poloczek B, Wojciechowska C, Tomasik A, Birkner E, Wodniecki J, et al. Selectin-P and interleukin-8 plasma levels in coronary heart disease patients. *Eur J Clin Invest* 2002; 32: 657–61.
 41. Block G, Dietrich M, Norkus EP, Morrow JD, Hudes M, Caan B, et al. Factors associated with oxidative stress in human populations. *Am J Epidemiol* 2002; 156: 274–85.
 42. Raji L, DeMaster EG, Jaimes EA. Cigarette smoke-induced endothelium dysfunction: role of superoxide anion. *J Hypertens* 2001; 19: 891–7.
 43. Mays BW, Freischlag JA, Eginton MT, Cambria RA, Seabrook GR, Towne JB. Ascorbic acid prevents cigarette smoke injury to endothelium-dependent arterial relaxation. *J Surg Res* 1999; 84: 35–9.
 44. Karvonen J, Kauma H, Kervinen K, Ukkola O, Rantala M, Päivänsalo M, et al. Apolipoprotein E polymorphism affects carotid artery atherosclerosis in smoking hypertensive men. *J Hypertens* 2002; 20: 2371–8.
 45. Reilly M, Delanty N, Lawson JA, Fitzgerald GA. Modulation of oxidant stress *in vivo* in chronic cigarette smokers. *Circulation* 1996; 94: 19–25.
 46. Dietrich M, Block G, Hudes M, Morrow JD, Norkus EP, Traber MG, et al. Antioxidant supplementation decreases lipid peroxidation biomarker F₂-isoprostanes in plasma of smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 7–13.
 47. Lykkesfeldt J, Christen S, Wallock LM, Chang HH, Jacob RA, Ames BN. Ascorbate is depleted by smoking and repleted by moderate supplementation: a study in male smokers and nonsmokers with matched dietary antioxidant intakes. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 530–6.
 48. Van Hoydonck PG, Temme EH, Schouten EG. Serum bilirubin concentration in a Belgian population: the association with smoking status and type of cigarettes. *Int J Epidemiol* 2001; 30: 1465–72.
 49. Ijzerman RG, Serne EH, van Weissenbruch MM, de Jongh RT, Stehouwer CD. Cigarette smoking is associated with an acute impairment of microvascular function in humans. *Clin Sci (Lond)* 2003; 104: 247–52.
 50. Jensen EW, Espersen K, Knudsen JH, Nielsen SL. Increased transcapillary escape rate of albumin in elderly subjects due to long-term smoking habits. *Clin Physiol* 1995; 15: 159–67.
 51. Barua RS, Ambrose JA, Eales-Reynolds LJ, DeVoe MC, Zervas JG, Saha DC. Dysfunctional endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium-dependent vasodilatation. *Circulation* 2001; 104: 1905–10.
 52. Kharitonov SA, Robbins RA, Yates D, Keatings V, Barnes PJ. Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 609–12.
 53. Noori A, Kabbani S. Endothelins and coronary vascular biology. *Coron Artery Dis* 2003; 14: 491–4.
 54. Bertrand ME, Simoons ML, Fox KA, Wallentin LC, Hamm CW, McFadden E, et al. Management of acute coronary syndromes: acute coronary syndromes without persistent ST-segment elevation; recommendations of the Task Force of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2000; 21: 1406–32.
 55. Eliasson M, Asplund K, Evrin PE, Lundblad D. Relationship of cigarette smoking and snuff dipping to plasma fibrinogen, fibrinolytic variables and serum insulin – The Northern Sweden MONICA study. *Atherosclerosis* 1995; 113: 41–53.
 56. Sambola A, Osende J, Hathcock J, Degen M, Nemerson Y, Fuster V, et al. Role of risk factors in the modulation of tissue factor activity and blood thrombogenicity. *Circulation* 2003; 107: 973–7.
 57. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002; 105: 1650–5.
 58. Burghuber OC, Punzengruber C, Sinzinger H, Haber P, Silberbauer K. Platelet sensitivity to prostacyclin in smokers and nonsmokers. *Chest* 1986; 90: 34–8.

59. Hung J, Kishimoto Y, Sugio K, Virmani A, McIntire DD, Minna JD, et al. Allele-specific chromosome 3p deletions occur at an early stage in the pathogenesis of lung carcinoma. *JAMA* 1995; 273: 558–63.
60. Hioki H, Aoki N, Kawano K, Homori M, Hasumura Y, Yasumura T, et al. Acute effects of cigarette smoking on platelet-dependent thrombin generation. *Eur Heart J* 2001; 22: 56–61.
61. Morita H, Ikeda H, Haramaki N, Eguchi H, Imaizumi T. Only two-week smoking cessation improves platelet aggregability and intraplatelet redox imbalance of long-term smokers. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 589–94.
62. Blann AD, Lanza F, Galajda P, Gurney D, Moog S, Cazenave JP, et al. Increased platelet glycoprotein V levels in patients with coronary and peripheral atherosclerosis – the influence of aspirin and cigarette smoking. *Thromb Haemost* 2001; 86: 777–83.
63. Whincup PH, Danesh J, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. von Willebrand factor and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *Eur Heart J* 2002; 23: 1764–70.
64. Hughes K, Choo M, Kuperan P, Ong CN, Aw TC. Cardiovascular risk factors in relation to cigarette smoking: a population-based survey among Asians in Singapore. *Atherosclerosis* 1998; 137: 253–8.
65. Chia S, Newby DE. Atherosclerosis, cigarette smoking, and endogenous fibrinolysis: is here a direct link? *Curr Atheroscler Rep* 2002; 4: 143–8.
66. Price JF, Mowbray PI, Lee AJ, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG. Relationship between smoking and cardiovascular risk factors in the development of peripheral arterial disease and coronary artery disease: Edinburgh Artery Study. *Eur Heart J* 1999; 20: 344–53.
67. Barua RS, Ambrose JA, Saha DC, Eales-Reynolds LJ. Smoking is associated with altered endothelial-derived fibrinolytic and antithrombotic factors: an *in vitro* demonstration. *Circulation* 2002; 106: 905–8.
68. MacCallum PK. Markers of hemostasis and systemic inflammation in heart disease and atherosclerosis in smokers. *The Proceedings of the American Thoracic Society* 2005; 2: 34–43.
69. Lowe GD, Yarnell JW, Rumley A, Bainton D, Sweetnam PM. C-reactive protein, fibrin d-dimer, and incident ischemic heart disease in the Speedwell study: are inflammation and fibrin turnover linked in pathogenesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 603–10.
70. Milani RV, Lavie CJ. *Mayo Clinic Proceedings*, LA November 2008; 83(11): 1200–2.
71. Nygard O, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE. Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 263–70.
72. Eliasson B. Cigarette smoking and diabetes. *Prog Cardiovasc Dis* 2003; 45: 405–13.
73. Will JC, Galuska DA, Ford ES, Mokdad A, Calle EE. Cigarette smoking and diabetes mellitus: evidence of a positive association from a large prospective cohort study. *Int J Epidemiol* 2001; 30: 540–6.
74. Sargeant LA, Khaw KT, Bingham S, Day NE, Luben RN, Oakes S, et al. Cigarette smoking and glycaemia: the EPIC-Norfolk study. *Int J Epidemiol* 2001; 30: 547–54.
75. Craig WY, Palomaki GE, Haddow JE. Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein concentrations: an analysis of published data. *BMJ* 1989; 298: 784–8.
76. Freeman DJ, Caslake MJ, Griffin BA, Hinnie J, Tan CE, Watson TD, et al. The effect of smoking on post-heparin lipoprotein and hepatic lipase, cholesteryl ester transfer protein and lecithin: cholesterol acyl transferase activities in human plasma. *Eur J Clin Invest* 1998; 28: 584–91.