

ИВАНОВ А. Н., ГРЕЧИХИН А. А.,
НОРКИН И. А., ПУЧИНЬЯН Д. М.

Методы диагностики эндотелиальной дисфункции

*Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии,
410002, ул. Чернышевского д. 148, г. Саратов, Россия
e-mail: lex558452@rambler.ru*

Реферат

Эндотелиальная дисфункция определяется как патологическое состояние, характеризующееся прогрессирующим повреждением клеток эндотелия и сопровождающееся нарушением его функций. Эндотелиальная дисфункция является важным патогенетическим звеном широкого круга заболеваний, что обуславливает высокую практическую значимость разработки методов ее диагностики. В настоящее время существуют различные методические подходы к выявлению и оценке дисфункции эндотелия. Целью работы являлся анализ преимуществ и недостатков современных методов диагностики эндотелиальной дисфункции. Рассматривается ряд неинвазивных методик оценки сосудистой реактивности периферического макро- и микроциркуляторного русла, которые позволяют выявлять изменения вазомоторной функции эндотелия. В разделе, посвященном биохимическим методам диагностики, проведен обзор спектра маркеров эндотелиальной дисфункции — различных веществ, продуцируемых эндотелиоцитами или влияющих на них. Описанные биохимические маркеры разделены на группы в соответствии с функциями эндотелия, нарушения которых они характеризуют. Представлены результаты исследований, демонстрирующие изменения уровня этих маркеров при различных заболеваниях. Кроме того, приведены данные, касающиеся факторов повреждения эндотелиоцитов, которые могут быть использованы для прогнозирования развития и дальнейшего прогрессирования дисфункции эндотелия, а также кардиоваскулярного риска. Специальный раздел статьи посвящен возможностям использования цитологических методов исследования циркулирующих в крови эндотелиальных клеток для характеристики процессов повреждения и регенерации эндотелия, т. е. для оценки морфологического субстрата его дисфункции. Обзор и систематизация существующих в настоящее время методов выявления эндотелиальной дисфункции могут быть полезны для оптимизации диагностических алгоритмов.

Ключевые слова: эндотелий, эндотелиальная дисфункция, функциональная диагностика, лабораторная диагностика, биохимические маркеры.

Эндотелий — основной компонент гистогематических барьеров, выполняет разнообразные функции, среди которых вазомоторная, обеспечивающая регуляцию сосудистого тонуса и, соответственно, кровотока за счет продукции вазоконстрикторов и вазодилататоров; гемостатическая, осуществляемая путем продукции регуляторов системы гемостаза; участие в ангиогенезе посредством модуляции роста гладкомышечных клеток и ремоделирования сосудистого русла [47]. В качестве компонента гистогематических барьеров эндотелий обеспечивает регуляцию проницаемости сосудистой стенки для различных веществ и трансмиграции клеток через эндотелий [50]. Регуляция взаимодействия сосудистой стенки с клетками крови, в том числе адгезии лейкоцитов позволяет выделить адгезионную функцию эндотелия [26, 39]. Некоторые авторы выделяют иммунную функцию эндотелия, реализуемую за счет синтеза цитокинов и антигенпрезентирующей роли [17]. Действие повреждающих факторов различной природы приводит к структурным изменениям эндотелиоцитов, нарушению их межклеточных и клеточно-матриксных взаимодействий и выполняемых функций [18]. Эндотелиальная дисфункция определяется, прежде всего, как дисбаланс продукции вазоконстрикторов и вазодилататоров [2]. Однако в связи с разнообразием выполняемых функций более корректным является определение дисфункции эндо-

телия как патологического состояния, характеризующегося прогрессирующим повреждением клеток эндотелия и нарушением его функций. Эндотелиальная дисфункция является ключевым звеном патогенеза широкого круга заболеваний, а в ряде случаев — и начальным этапом развития патологических процессов [36]. Поэтому выявление и оценка эндотелиальной дисфункции имеет не только научное, но и практическое значение [18].

Целью исследования являлось рассмотрение преимуществ и недостатков современных методов диагностики эндотелиальной дисфункции.

Методы функциональной диагностики эндотелиальной дисфункции

Методы функциональной диагностики эндотелиальной дисфункции основаны на оценке реализации вазомоторной функции эндотелия за счет изменения продукции оксида азота и других вазоактивных веществ. Эта группа методов включает определение эндотелийзависимой вазодилатации, жесткости сосудистой стенки и распространения пульсовой волны. В настоящее время потокзависимая вазодилатация плечевой артерии, определяемая при помощи ультразвуковых датчиков, является наиболее широко используемым тестом для оценки эндотелиальной дисфункции [19]. Некоторые авторы указывают на необходимость изучения потокопосредованной вазо-

констрикции для более точной оценки функционального состояния эндотелия сосудистой стенки [21].

Различные виды плетизмографии позволяют оценить изменения параметров пульсовой волны, периферического артериального тонуса и скорость распространения пульсовой волны при реактивной гиперемии с целью изучения вазомоторной функции эндотелия [22].

Отдельного внимания заслуживают лазерные методы оценки эндотелиальной дисфункции — лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) и лазерная спекл-контрастная визуализация, которые позволяют регистрировать скорость движения эритроцитов в сосудах микроциркуляторного русла [33]. Широко применяемым методом является лазерная доплеровская флоуметрия микрокровотока и слизистых. ЛДФ, в отличие от ультразвуковых методов, позволяет оценить как индуцированную, так и базальную продукцию оксида азота эндотелием [6, 7]. Так, параметры осцилляций микрокровотока, полученные с помощью спектрального анализа ЛДФ-грамм в диапазоне частот, близких к 0,01 Гц, отражают функциональное состояние эндотелия сосудистой стенки [6, 28]. Функциональные пробы при проведении ЛДФ (окклюзионная, тепловая и фармакологическая) позволяют оценить индуцированную продукцию оксида азота эндотелием. Принцип окклюзионной пробы аналогичен таковому при оценке потокзависимой вазодилатации плечевой артерии ультразвуковыми методами. Однако при проведении окклюзионной пробы у здоровых лиц с помощью ультразвуковой доплерографии регистрируется увеличение диаметра плечевой артерии в пределах 10–15 %, а с помощью ЛДФ — увеличение перфузии микроциркуляторного русла более чем в 5 раз, что обеспечивает более раннее и доказательное выявление нарушения вазомоторной функции эндотелия. Тепловая проба при лазерной доплеровской флоуметрии проводится путем нагрева участка кожи в области регистрации ЛДФ, а фармакологическая проба основана на сравнении сосудистых реакций в ответ на введение специфических агентов, вызывающих эндотелийзависимую и эндотелий-независимую вазодилатацию. Указанные пробы позволяют обнаруживать и количественно характеризовать степень эндотелиальной дисфункции [6, 7].

Таким образом, современные методы функциональной диагностики позволяют выявлять эндотелиальную дисфункцию. С помощью этих методов возможно проводить выявление и оценку нарушений только вазомоторной функции эндотелия сосудистой стенки. Несомненным преимуществом данной группы методов является их неинвазивность.

Биохимические методы оценки дисфункции эндотелия

Биохимические методы диагностики эндотелиальной дисфункции основаны на выявлении и определении концентрации маркеров эндотелиальной дисфункции — различных веществ, продуцируемых эндотелиоцитами или влияющих на них [41]. В отличие от методов функциональной диагностики,

которые позволяют оценить в основном вазомоторную функцию, биохимические исследования обеспечивают получение информации практически обо всех функциях эндотелия, а также факторах его повреждающих [18].

Маркеры нарушений вазомоторной функции эндотелия. Среди факторов, позволяющих оценить вазодилатирующую функцию эндотелия, в первую очередь, следует отметить метаболиты и ферменты цикла оксида азота. Для оценки продукции оксида азота используют определение концентрации его стабильных метаболитов — нитритов и нитратов. Однако трактовка результатов определения уровня нитритов в сыворотке крови затруднена тем, что при ряде заболеваний, в частности, при артериальной гипертензии, происходит угнетение активности эндотелиальной NO-синтазы, нарушающее вазомоторную функцию, но в то же время повышается экспрессия индуцибельной NO-синтазы, обуславливающей увеличение сывороточной концентрации нитритов [8].

Одним из перспективных маркеров дисфункции эндотелия является асимметричный диметиларгинин (АДМА) — эндогенный конкурентный ингибитор NO-синтазы. Показано, что концентрация АДМА может служить маркером эндотелиальной дисфункции при ишемической болезни сердца, ревматоидном артрите и др. [29, 32].

Для биохимической оценки вазоконстрикторной функции эндотелия в настоящее время используется определение концентрации эндотелина I, вызывающего значительные изменения гемодинамики и ремоделирование сосудистого русла. Повышение уровня эндотелина-I в сыворотке крови выявлено у больных ишемической болезнью сердца, артериальной гипертензией, поражениями почек, акушерско-гинекологической патологией [15, 35]. У больных ишемической болезнью сердца концентрация эндотелина-I в сыворотке крови находится в прямой корреляционной взаимосвязи с нарушением эндотелийзависимой вазодилатации и степенью поражения коронарных сосудов [1].

Таким образом, биохимическая оценка вазомоторной функции эндотелия может быть проведена путем определения концентрации в крови продуцируемых им вазоактивных веществ. Однако концентрация вазоактивных метаболитов в сыворотке не всегда коррелирует с выраженностью нарушения вазомоторной функции. В частности, сложные реакции системы оксида азота при развитии эндотелиальной дисфункции обуславливают неудобство использования биохимических методов определения концентрации нитритов в сыворотке крови по сравнению с функциональными методами оценки вазомоторной функции эндотелия.

Маркеры нарушения тромборезистентности эндотелия. В физиологических условиях сосудистая стенка обладает тромборезистентностью, оценка которой может проводиться как непосредственным определением концентрации продуцируемых эндотелием регуляторов свертывания крови и фибринолиза, так и изучением изменения параметров системы гемостаза при манжеточной пробе. Наиболее рас-

пространенными маркерами нарушения тромбоз-резистентности эндотелия являются фактор фон Виллебранда, тромбомодулин, тканевой активатор плазминогена, ингибиторы тканевого активатора плазминогена [14].

Изменение содержания фактора фон Виллебранда в крови отражает нарушение антиагрегантных и антикоагулянтных свойств, повреждение эндотелиоцитов и развитие эндотелиальной дисфункции [24]. Определение активности фактора фон Виллебранда возможно с помощью иммуноферментного анализа [3], а также по его способности вызывать агглютинацию тромбоцитов в присутствии антибиотика ристоцетина (ристомидина) [5].

Об антикоагулянтной активности сосудистой стенки можно судить также по уровню тромбомодулина в сыворотке крови, повышенное содержание которого свидетельствует о повреждении эндотелиальных клеток. Однако значимое увеличение концентрации тромбомодулина в сыворотке крови у больных острым коронарным синдромом выявляется только при одновременном повышении уровня четырех повреждающих факторов: гомоцистеина, липопротеина (а), С-реактивного белка и антител к окисленным липопротеинам низкой плотности [12].

Фибринолитическую активность эндотелия можно оценить путем определения с помощью иммуноферментного анализа концентрации в сыворотке крови тканевого активатора плазминогена (t-РА) и его ингибиторов. Нарушение выделения t-РА при манжеточной пробе может быть использовано при оценке эндотелиальной дисфункции [40].

Таким образом, на основании данных литературы можно заключить, что оценка тромбоз-резистентности при диагностике дисфункции эндотелия может быть проведена путем определения концентрации ряда маркеров, таких как фактор фон Виллебранда, тромбомодулин, тканевой активатор плазминогена, ингибиторы тканевого активатора плазминогена. Однако в настоящее время в литературе есть данные, свидетельствующие о том, что эндотелиальная дисфункция, в частности, у больных сахарным диабетом, не обязательно сопровождается изменением активности указанных факторов [14].

Маркеры нарушений адгезионной функции эндотелия. Выявление и оценка нарушений адгезионной функции сосудистой стенки возможны за счет определения концентрации в сыворотке крови растворимых форм адгезивных молекул эндотелия. Адгезивные молекулы эндотелия сосудистой стенки представляют собой разнородную группу протеинов четырех основных структурных семейств: селектинов, интегринов, кадгеринов и суперсемейства иммуноглобулинов [30]. Эти молекулы участвуют в регуляции адгезии и трансмиграции лейкоцитов, проницаемости сосудистой стенки и ангиогенеза [13, 44, 45]. Количество и распределение адгезивных молекул на поверхности эндотелиальных клеток имеют большое значение в патогенезе эндотелиальной дисфункции при различных заболеваниях, в том числе сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной систем, а также онкологических

процессах. Наиболее часто в качестве маркера для выявления эндотелиальной дисфункции используют определение концентрации ICAM-1 (Inter-Cellular Adhesion Molecule-1), VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecule-1) и E-селектина [27].

Факторы, регулирующие ангиогенез, в качестве маркеров эндотелиальной дисфункции. Одним из важных патогенетических звеньев эндотелиальной дисфункции являются нарушения пролиферации и миграции эндотелиальных клеток, а также их апоптоз. Поэтому для мониторинга дисфункции эндотелия возможно определение концентрации в сыворотке крови регуляторов процесса ангиогенеза, таких как фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста фибробластов и др. Клиническое значение VEGF как маркера эндотелиальной дисфункции в настоящее время показано в онкологии (коррелирует с неблагоприятным прогнозом при раке молочной железы, легкого, простаты, остеосаркоме, миеломной болезни), ревматологии (у больных ревматоидным артритом), кардиологии (атеросклеротическое поражение сосудистой стенки) [4]. Кроме того, установлено, что повышение уровня основного фактора роста фибробластов в крови коррелирует со степенью агрессивности опухолевого процесса и может служить прогностическим фактором при многих солидных опухолях, лейкозах, лимфомах [49].

Факторы, повреждающие эндотелий, в качестве маркеров эндотелиальной дисфункции. Отдельного внимания заслуживает группа маркеров эндотелиальной дисфункции, включающая факторы, повреждающие эндотелий. К ним относят гомоцистеин, окисленные липопротеины низкой плотности, С-реактивный белок, антифосфолипидные антитела, липопротеин (а) и цитокины.

Гомоцистеин является цитотоксичной аминокислотой. Продукты аутоокисления гомоцистеина, протекающего с образованием активных форм кислорода, индуцируют формирование атеросклеротической бляшки путем повреждения эндотелия и стимуляции пролиферации гладкомышечных клеток меди. Исследованиями в течение последних 15 лет установлено, что гомоцистеин является ранжированным независимым фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний — атеросклероза, инфаркта миокарда, инсульта и венозной тромбоэмболии [38, 43]. Кроме гомоцистеина, и другие метаболиты способны оказывать повреждающее действие на эндотелий. В частности, окисленные липопротеины низкой плотности (оЛПНП) и антитела к ним могут использоваться в качестве маркеров эндотелиальной дисфункции [23]. Повышенные уровни аутоантител против оЛПНП обнаружены в циркулирующей крови у пациентов с ишемической болезнью сердца, при преэклампсии и системной красной волчанке. Сниженные уровни этих аутоантител наблюдали при септицемии и инфаркте миокарда [31].

В качестве дополнительных маркеров эндотелиальной дисфункции могут быть использованы концентрации цитокинов (моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 — MCP-1, фактора некроза опухоли, интерлейкинов) и острофазных белков

(С-реактивного белка) в сыворотке крови [34, 37]. Результаты крупномасштабных проспективных исследований показывают, что оценка концентрации СРБ позволяет с высокой вероятностью определять риск развития инфаркта миокарда, ишемического инсульта и внезапной сердечной смерти. При этом именно развитие эндотелиальной дисфункции считают патогенетическим звеном, обеспечивающим взаимосвязь концентрации СРБ и кардиоваскулярного риска [46]. Некоторые данные свидетельствуют, что МСР-1 является высокочувствительным маркером эндотелиальной дисфункции. У больных с хронической ишемией головного мозга с помощью ROC-анализа сывороточные уровни МСР-1 идентифицированы как маркер эндотелиальной дисфункции, обладающий максимальной чувствительностью и специфичностью [10].

Таким образом, можно заключить, что особенностью биохимических методов диагностики эндотелиальной дисфункции по сравнению с функциональными является возможность выявления нарушения всех функций эндотелия и прогнозирования дальнейшего повреждения эндотелиальных клеток, а также кардиоваскулярного риска. Однако эндотелиальная дисфункция не всегда сопровождается изменением концентрации отдельных маркеров. Это диктует необходимость одновременного определения комплекса различных маркеров.

Цитологические методы оценки состояния эндотелия

В исследованиях последних лет показано увеличение количества циркулирующих эндотелиоцитов при ряде сердечно-сосудистых заболеваний, что имеет важное прогностическое значение при нестабильной стенокардии, остром инфаркте миокарда, инсульте, сахарном диабете [16]. Циркулирующие в крови эндотелиальные клетки отражают процессы как повреждения, так и восстановления интимы сосудов [48]. С одной стороны, в кровотоке попадают клетки эндотелия, слущенного в результате повреждения

сосудистой стенки, с другой — в крови присутствуют предшественники эндотелиальных клеток, которые мигрируют из красного костного мозга к месту ее повреждения [20].

Определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток осуществляют по методике J. Hladovec в модификации Н. Н. Петрищева и др. [11] с помощью фазово-контрастной микроскопии. Альтернативой данного метода является приготовление фиксированных препаратов циркулирующих эндотелиальных клеток, окрашенных азур-II-эозином [9]. В настоящее время детекция циркулирующих эндотелиальных клеток также осуществляется методом проточной цитофлуориметрии [42]. Инкубация препаратов с различными видами антител позволяет оценить общий пул эндотелиальных клеток, а также отдельные субпопуляции [25].

Таким образом, цитологические методы диагностики не позволяют непосредственно оценить и дифференцировать нарушения функций эндотелия, но, в отличие от методов других групп, обеспечивают анализ морфологического субстрата эндотелиальной дисфункции — степень повреждения эндотелиальных клеток. Кроме того, данная группа методов позволяет установить не только степень повреждения эндотелия, но и его регенерацию.

Заключение

Подводя итог анализа литературных данных, следует отметить, что актуальность разработки и совершенствования методов диагностики эндотелиальной дисфункции обусловлена ее важной ролью в патогенезе широкого круга заболеваний. В настоящее время предложено много подходов к диагностике дисфункции эндотелия. Функциональные, биохимические и цитологические методы диагностики имеют свои характерные преимущества и недостатки. Качественная современная диагностика эндотелиальной дисфункции достигается использованием комбинации функциональных, биохимических и цитологических методов.

Литература

1. Билецкий С. В., Билецкий С. С. Эндотелиальная дисфункция и патология сердечно-сосудистой системы // *Внутренняя мед.* 2008. Т. 2. № 8. С. 36–41.
2. Бувальцев В. И. Дисфункция эндотелия как новая концепция профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний // *Международ. мед. журн.* 2001. № 3. С. 202–209.
3. Власик Т. Н., Плющ О. П., Мазуров А. В. и др. Определение фактора Виллебранда с помощью иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител. Применение метода для диагностики болезни Виллебранда // *Гематол. и трансфузиол.* 2005. № 2. С. 20–25.
4. Захарова Н. Б., Дурнов Д. А., Михайлов В. Ю. и др. Диагностическое значение исследования фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови // *Фундамент. иссл.* 2011. № 11. Ч. 1. С. 215–220.
5. Ибрагимов О. Б., Цибульский А. П., Минуллина И. Р. и др. Определение активности фактора Виллебранда при помощи лазерного анализатора агрегации тромбоцитов // *Клин. лаборатор. диагностика.* 1998. № 3. С. 13–15.
6. Крупаткин А. И. Новые возможности оценки иннервации микрососудов кожи с помощью спектрального анализа колебаний микрогемодинамики // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2004. Т. 3. № 4. С. 52–59.
7. Крупаткин А. И., Сидоров В. В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: рук-во для врачей. М.: Медицина, 2005. 256 с.
8. Лапина Л. А., Кравчун П. Г., Титова А. Ю., Глебова О. В. Значение определения нитритов-нитратов как маркеров дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистой патологии // *Український медичний часопис.* 2009. № 6. С. 49–53.
9. Мясоедова Е. Е., Омеляненко М. Г. Метод приготовления препаратов десквамированных эндотелиоцитов периферической крови // *Бюлл. Федерального ин-та пром. собственности Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам.* 2007. Т. 22. № 1. С. 30.
10. Никитина В. В., Захарова Н. Б. Диагностическое значение показателей активности внутрисосудистого

воспаления и эндотелиальной дисфункции у больных с хронической ишемией головного мозга // *Цитокины и воспаление*. 2011. Т. 10. № 3. С. 30–34.

11. Петрищев Н. Н., Беркович О. А., Власов Т. Д. и др. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиальных клеток в крови // *Клин. лаборат. диагностика*. 2001. №1. С. 50–52.

12. Петрищев Н. Н., Васина Л. В., Луговая А. В. Сохранение растворимых маркеров апоптоза и циркулирующих аннексин V-связанных апоптотических клеток в крови больных острым коронарным синдромом // *Вестник Санкт-Петербург.ун-та*. 2008. Сер. 11. Вып. 1. С. 14–23.

13. Balciūnas M., Bagdonaite L., Samalavicius R., Baublys A. Markers of endothelial dysfunction after cardiac surgery: soluble forms of vascular-1 and intercellular-1 adhesion molecules // *Medicina (Kaunas)*. 2009. Vol. 45. № 6. P. 434–439.

14. Beer S., Feihl F., Ruiz J. et al. Comparison of skin microvascular reactivity with hemostatic markers of endothelial dysfunction and damage in type 2 diabetes // *Vasc. Health. Risk. Manag.* 2008. Vol. 4. № 6. P. 1449–1458.

15. Böhm F., Pernow J. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease // *Cardiovasc. Res.* 2007. Vol. 76. № 1. P. 8–18.

16. Boos C. J., Lip G. Y., Blann A. D. Circulating endothelial cells in cardiovascular disease // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006. Vol. 48. P. 1538–1547.

17. Danese S., Dejana E., Fiocchi C. Immune regulation by microvascular endothelial cells: directing innate and adaptive immunity, coagulation, and inflammation // *J Immunol.* 2007. Vol. 178. № 10. P. 6017–6022.

18. Deanfield J. E., Halcox J. P., Rabelink T. J. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance // *Circulation*. 2007. Vol. 115. № 10. P. 1285–1295.

19. Ghiadoni L., Versari D., Giannarelli C. et al. Non-invasive diagnostic tools for investigating endothelial dysfunction // *Curr. Pharm. Des.* 2008. Vol. 14. № 35. P. 3715–3722.

20. Goon P. K., Lip G. Y., Boos C. J. et al. Circulating endothelial cells, endothelial progenitor cells, and endothelial microparticles in cancer // *Neoplasia*. 2006. Vol. 8. № 2. P. 79–88.

21. Gori T., Dragoni S., Lisi M. et al. Conduit artery constriction mediated by low flow a novel noninvasive method for the assessment of vascular function // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008. Vol. 51. № 20. P. 1953–1958.

22. Hamburg N. M., Keyes M. J., Larson M. G. et al. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study // *Circulation*. 2008. Vol. 117. № 19. P. 2467–2474.

23. Itabe H. Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of in vivo oxidative stress: from atherosclerosis to periodontitis // *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2012. Vol. 51. № 1. P. 1–8.

24. Jansson J. H., Nilsson T. K., Johnson O. Willebrand factor in plasma: a novel risk factor for recurrent myocardial infarction and death // *Br. Heart J.* 1991. Vol. 66. № 5. P. 351–355.

25. Khan S. S., Solomon M. A., McCoy J. P. Detection of circulating endothelial cells and endothelial progenitor cells by flow cytometry // *Jr. Cytometry. B. Clin. Cytom.* 2005. Vol. 64. № 1. P. 1–8.

26. Kharbanda R. K., Deanfield J. E. Functions of the healthy endothelium // *Coron. Artery Dis.* 2001. Vol. 12. № 6. P. 485–491.

27. Klimiuk P. A., Fiedorczyk M., Sierakowski S. et al. Soluble cell adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1, and sE-selectin) in patients with early rheumatoid arthritis //

Rheumatol. 2007. Vol. 36. №5. P. 345–50.

28. Kvandal P., Landsverk S. A., Bernjak A., et al. Low-frequency oscillations of the laser Doppler perfusion signal in human skin // *Microvasc. Res.* 2006. Vol. 72. № 3. P. 120–127.

29. Landim M. B., Casella A., Chagas A. C. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction: implications for atherogenesis // *Clinics (Sao Paulo)*. 2009. Vol. 64. № 5. P. 471–478.

30. Ley K. Adhesion Molecules: Function and Inhibition: Progress in Inflammation Research. Springer, 2007. 309 p.

31. Li D., Mehta J. L. Oxidized L. D. L.A critical factor in atherogenesis // *Cardiovasc. Res.* 2005. Vol. 68. № 3. P. 353–354.

32. Løland K. H., Bleie O., Borgeraas H. et al. The association between progression of atherosclerosis and the methylated amino acids asymmetric dimethylarginine and trimethyllysine // *PLoS One*. 2013. Vol. 8. № 5. P. e64774.

33. Mahé G., Abraham P., Durand S. Laser method can also be used for endothelial function assessment in clinical practice // *J. Atheroscler. Thromb.* 2013. Vol. 20. №5. P. 512–513.

34. Martynowicz H., Janus A., Nowacki D., Mazur G. The role of chemokines in hypertension // *Adv. Clin. Exp. Med.* 2014. Vol. 23. № 3. P. 319–325.

35. Mazzuca M. Q., Li W., Reslan O. M., Yu P. et al. Downregulation of microvascular endothelial type B endothelin receptor is a central vascular mechanism in hypertensive pregnancy // *Hypertension*. 2014. Vol. 64. № 3. P. 632–643.

36. Messner B., Bernhard D. Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherosclerosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014. Vol. 34. № 3. P. 509–515.

37. Mizia-Stec K. Cytokines and adhesive molecules in detection of endothelial dysfunction // *Pharmacol Rep.* 2006. Vol. 58. P. 21–32.

38. Moat S. J. Plasma total homocysteine: instigator or indicator of cardiovascular disease? // *Ann. Clin. Biochem.*, 2008, Vol. 45. P. 345–348.

39. Nussbaum C., Gloning A., Pruenster M. et al. Neutrophil and endothelial adhesive function during human fetal ontogeny // *J. Leukoc. Biol.* 2013. Vol. 93. № 2. P. 175–184.

40. Oliver J. J., Webb D. J., Newby D. E. Stimulated tissue plasminogen activator release as a marker of endothelial function in humans // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005. Vol. 25. № 12. P. 2470–2479.

41. Page A. V., Liles W. C. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction in infectious diseases // *Virulence*. 2013. Vol. 4. № 6. P. 507–516.

42. Pizarro S., Garcia-Lucio J., Peinado V. I. et al. Circulating progenitor cells and vascular dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease // *PLoS One*. 2014. Vol. 9. № 8. P. e106163.

43. Schaffer A., Verdoia M., Cassetti E. et al. Relationship between homocysteine and coronary artery disease. Results from a large prospective cohort study // *Thromb. Res.* 2014. Vol. 134. № 2. P. 288–293.

44. Semina E. V., Rubina K. A., Sysoeva V. Y. et al. Novel mechanism regulating endothelial permeability via T-cadherin-dependent VE-cadherin phosphorylation and clathrin-mediated endocytosis // *Mol. Cell. Biochem.* 2014. Vol. 387. № 1–2. P. 39–53.

45. Sumagin R., Kuebel J. M., Sarelius I. H. Leukocyte rolling and adhesion both contribute to regulation of microvascular permeability to albumin via ligation of ICAM-1 // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2011. Vol. 301. № 4. P. 804–813.

46. Tiong W. N., Sim E. U., Fong A. Y., Ong T. K. Early detection of C-reactive protein and von Willebrand factor

levels in Malaysian patients with acute coronary syndrome // *J. Cardiovasc. Dis. Res.* 2013. Vol. 4. № 1. P. 3–6.

47. Vita J. A. Endothelial function // *Circulation.* 2011. Vol. 124. № 25. P. e906–12.

48. Wu H., Chen H., Hu P. C. Circulating endothelial cells and endothelial progenitors as surrogate biomarkers in vascular dysfunction // *Clin. Lab.* 2007. Vol. 53. № 5–6. P. 285–295.

49. Yetgin S., Yenicesu I., Cetin M., Tuncer M. Clinical importance of serum vascular endothelial and basic fibroblast growth factors in children with acute lymphoblastic leukemia // *Leuk. Lymphoma.* 2001. Vol. 42. №. 1–2. P. 83–88.

50. Yuan S. Y., Rigor R. R. Regulation of Endothelial Barrier Function. *San Rafael (CA) // Morgan and Claypool Life Sciences.* 2011. 156 p.

UDK 611.018.74 – 0.72.7

Ivanov A. N., Grechikhin A. A., Norkin I. A., Puchinyan D. M.

Methods of endothelial dysfunction diagnosis

*Saratov Scientific and Research Institute of Traumatology and Orthopedics,
Chernyshevsky str. 148, Saratov, Russia
e-mail: lex558452@rambler.ru*

Abstract

Endothelial dysfunction is a pathological state, which is characterized by progressive damage of endothelial cells and is accompanied by disturbances of their functions. Endothelial dysfunction is an important pathogenetic factor of various diseases. So, development of its diagnostic methods is of great need. At present, there are various methodological approaches to the assessment of endothelial dysfunction. The purpose of this review is to consider the advantages and disadvantages of modern methods of endothelial dysfunction diagnosis. In this article different non-invasive methods of peripheral macro- and microvascular reactivity assessment aimed at identification of changes in vasomotor endothelial function are discussed. The spectrum of endothelial dysfunction markers-various substances produced by endothelial cells or affecting them — is reviewed in the special section dealing with biochemical diagnostic methods. In this section of the article, biochemical markers are divided into groups according to the functions of endothelium and disorders they characterize. The results of studies showing changes of these markers levels in different diseases are presented. In addition, data regarding factors of endothelial damage, which can be used to predict the development and subsequent progression of endothelial dysfunction and cardiovascular risk are discussed. Special section is devoted to the possibilities of using cytological study of circulating endothelial cells to characterize processes of endothelial damage and regeneration as a morphological substrate of dysfunction. Review and systematization of currently existing methods for detection of endothelial dysfunction is necessary for optimization of diagnostic algorithms.

Keywords: endothelium, endothelial dysfunction, functional diagnostics, laboratory diagnostics, biochemical markers.

References

1. Bileckij S.V., Bileckij S.S. Jendotelial'naja disfunkcija i patologija serdechno-sosudistoj sistemy [Endotelial dysfunction and pathology of cardiovascular system] // *Vnutrennjaja medicina [Internal medicine].* 2008. V.2. N 8. P. 36–41. [In Russian].

2. Buval'cev V. I. Disfunkcija jendotelija kak novaja koncepcija profilaktiki i lechenija serdechno-sosudistyh zabolevanij [Endotelial dysfunction as a new concept of cardiovascular diseases prevention and treatment] // *Mezhdunarodnyj med zhurnal [International medical journal].* 2001. N 3. P. 202–209. [In Russian].

3. Vlasik T.N., Pljushh O.P., Mazurov A.V. et al. Opredelenie faktora Villebranda s pomoshh'ju immunofermentnogo analiza s ispol'zovaniem monoklonal'nyh antitel. Primenenie metoda dlja diagnostiki bolezni Villebranda [Villebrand's factor detecting by the immunofermental analysis with monoclonal antibodies. Usage of this method in Villebrand's disease diagnostics] // *Gematologija i transfuziologija [Hematology and transfusiology].* 2005. N 2. C.20–25. [In Russian].

4. Zaharova N.B., Durnov D.A., Mihajlov V.Ju. et al. Diagnosticheskoe znachenie issledovanija faktora rosta jendotelija osudov v syvorotke krovi [Diagnostic value of an endotelial growth factor measuring in blood serum] // *Fundamental'nye issledovanija [Fundamental researches].* 2011. N 11 (part 1). P. 215–220. [In Russian].

5. Ibragimov O.B., Cibul'kin A.P., Minullina I.R. et al. Opredelenie aktivnosti faktora Villebranda pri pomoshhi lazernogo analizatora agregacii trombocitov. [Measuring

of Villebrand's factor activity by laser-mediated analyse of platelets aggregation] // *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika [Clinical laboratory diagnostics].* 1998. N 3. P.13–15. [In Russian].

6. Krupatkin A.I. Novye vozmozhnosti ocenki innervacii mikrososudov kozhi s pomoshh'ju spektral'nogo analiza kolebanij mikrogemodinamiki [New opportunities of skin microvessels' innervation assessment by spectral analysis of microhaemodynamic fluctuations] // *Regionarnoe krovoobrashhenie i mikrocirkuljacija. [Regional haemodynamics and microcirculation].* 2004. V. 3. N 4. P. 52–59. [In Russian].

7. Krupatkin A.I., Sidorov V.V. Lazernaja dopplerovskaja floumetrija mikrocirkuljicii krovi. Rukovodstvo dlja vrachej. [Laser Doppler floumetry of blood microcirculation. The manual for doctors]. Moscow: Medicina [Medicina]. 2005. 256 P. [In Russian].

8. Lapshina L. A., Kravchun P. G., Titova A. Ju., Glebova O. V. Znachenie opredelenija nitritov-nitratov kak markerov disfunkcii jendotelija pri serdechno-sosudistoj patologii. [Definition of nitrites-nitrates as endotelial dysfunction markers in cardiovascular pathology] // *Ukrai'ns'kyj medychnyj chasopys. [Ukrainian Medical Journal].* 2009. N 6. P. 49–53. [In Russian].

9. Mjasoedova E.E., Omel'janenko M.G. Metod prigotovlenija preparatov deskvamirovannyh jendotelioцитov perifericheskoy krovi. [Method of peripheral blood desquamated endotelioocytes samples preparation] // *Bjulleten' federal'nogo gosudarstvennogo uchrezhdenija «Federal'nyj*

- institut promyshlennoj sobstvennosti Federal'noj sluzhby po intellektual'noj sobstvennosti, patentam i tovarnym znakam» [Bulletin of «Federal Institute of Industrial Property of Federal Service for Intellectual Property, to Patents and Trademarks» federal state institution]. 2007. T. 22. N 1. P. 30. [In Russian].
10. Nikitina V.V., Zaharova N.B. Diagnosticheskoe znachenie pokazatelej aktivnosti vnutrisosudistogo vospaleniya i jendotelial'noj disfunkcii u bol'nyh s hronicheskoj ishemiej golovnogo mozga. [Diagnostic value of intravascular inflammation and endothelial dysfunction indicators in patients with chronic brain ischemia] // Citokiny i vospalenie. [Cytokines and inflammation]. 2011. V. 10. N 3. P. 30–34. [In Russian].
11. Petrishhev N.N., Berkovich O.A., Vlasov T.D. et al. Diagnosticheskaja cennost' opredelenija deskvamirovannyh jendotelial'nyh kletok v krovi. [The diagnostic value of desquamated endothelial cells in blood] // Klin. lab. Diagnost [Clin. Lab. Diagnost.]. 2001. N1. P. 50-52. [In Russian].
12. Petrishhev N.N., Vasina L.V., Lugovaja A.V. Soderzhanie rastvorimyh markerov apoptoza i cirkulirujushih aneksin V-svjazannyh apoptoticheskikh kletok v krovi bol'nyh ostrym koronarnym sindromom. [The maintenance of soluble apoptosis markers and circulating annexin V-connected apoptosed cells in blood of patients with an acute coronary syndrome] // Vestnik Sankt-Peterburgskogo Universiteta. [Bulletin of the St. Petersburg State University]. 2008. V.11. (1). P. 14-23. [In Russian].
13. Balcūnas M., Bagdonaite L., Samalavicius R., Baublys A. Markers of endothelial dysfunction after cardiac surgery: soluble forms of vascular-1 and intercellular-1 adhesion molecules // Medicina (Kaunas). 2009. V. 45. N 6. P. 434-439.
14. Beer S., Feihl F., Ruiz J. et al. Comparison of skin microvascular reactivity with hemostatic markers of endothelial dysfunction and damage in type 2 diabetes // Vasc. Health. Risk. Manag. 2008. V. 4. N 6. P. 1449-58.
15. Böhm F., Pernow J. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease // Cardiovasc. Res. 2007. V. 76. N 1. P. 8-18.
16. Boos C.J., Lip G.Y., Blann A.D. Circulating endothelial cells in cardiovascular disease // J. Am. Coll. Cardiol. 2006. V. 48. P. 1538–47.
17. Danese S., Dejana E., Fiocchi C. Immune regulation by microvascular endothelial cells: directing innate and adaptive immunity, coagulation, and inflammation // J Immunol. 2007. V. 178. N 10. P. 6017-22.
18. Deanfield J.E., Halcox J.P., Rabelink T.J. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance // Circulation. 2007. V. 115. N 10. P. 1285-95.
19. Ghiadoni L., Versari D., Giannarelli C. et al. Non-invasive diagnostic tools for investigating endothelial dysfunction // Curr. Pharm. Des. 2008. V. 14. N 35. P. 3715-22.
20. Goon P.K., Lip G.Y., Boos C.J. et al. Circulating endothelial cells, endothelial progenitor cells, and endothelial microparticles in cancer // Neoplasia. 2006. V. 8. N 2. P. 79-88.
21. Gori T., Dragoni S., Lisi M. et al. Conduit artery constriction mediated by low flow a novel noninvasive method for the assessment of vascular function // J. Am. Coll. Cardiol. 2008. V. 51. N 20. P. 1953-8.
22. Hamburg N.M., Keyes M.J., Larson M.G. et al. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study // Circulation. 2008. V. 117. N 19. P. 2467-74.
23. Itabe H. Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of in vivo oxidative stress: from atherosclerosis to periodontitis // J. Clin. Biochem. Nutr. 2012. V. 51. N 1. P. 1-8.
24. Jansson J.H., Nilsson T.K., Johnson O. Willebrand factor in plasma: a novel risk factor for recurrent myocardial infarction and death // Br. Heart J. 1991. V. 66. N 5. P. 351-355.
25. Khan S.S., Solomon M.A., McCoy J.P. Detection of circulating endothelial cells and endothelial progenitor cells by flow cytometry // Jr. Cytometry. B. Clin. Cytom. 2005. V. 64. N 1. P. 1-8.
26. Kharbanda R.K., Deanfield J.E. Functions of the healthy endothelium // Coron. Artery Dis. 2001. V. 12. N 6. P. 485-491.
27. Klimiuk P.A., Fiedorczyk M., Sierakowski S. et al. Soluble cell adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1, and sE-selectin) in patients with early rheumatoid arthritis // Rheumatol. 2007. V. 36. N5. P. 345-50.
28. Kvandal P., Landsverk S.A., Bernjak A. et al. Low-frequency oscillations of the laser Doppler perfusion signal in human skin // Microvasc. Res. 2006. V. 72. N 3. P.120-7.
29. Landim M.B., Casella A., Chagas A.C. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction: implications for atherogenesis // Clinics (Sao Paulo). 2009. V. 64. N 5. P. 471-478.
30. Ley K. Adhesion Molecules: Function and Inhibition: Progress in Inflammation Research. Springer. 2007. 309 p
31. Li D., Mehta J.L. Oxidized LDL, a critical factor in atherogenesis // Cardiovasc. Res. 2005. V. 68. N 3. P. 353-4.
32. Løland K.H., Bleie O., Borgeraas H. et al. The association between progression of atherosclerosis and the methylated amino acids asymmetric dimethylarginine and trimethyllysine // PLoS One. 2013. V. 8. N 5. P. e64774.
33. Mahé G., Abraham P., Durand S. Laser method can also be used for endothelial function assessment in clinical practice // J Atheroscler Thromb. 2013. V. 20. N5. P. 512-3.
34. Martynowicz H., Janus A., Nowacki D., Mazur G. The role of chemokines in hypertension // Adv. Clin. Exp. Med. 2014. V. 23. N 3. P. 319-325.
35. Mazzuca M.Q., Li W., Reslan O.M., Yu P. et al. Downregulation of microvascular endothelial type B endothelin receptor is a central vascular mechanism in hypertensive pregnancy // Hypertension. 2014. V. 64. N 3. P. 632-643.
36. Messner B., Bernhard D. Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2014. V. 34. N 3. P. 509-515.
37. Mizia-Stec K. Cytokines and adhesive molecules in detection of endothelial dysfunction // Pharmacol Rep. 2006. V. 58. P.21-32.
38. Moat S.J. Plasma total homocysteine: instigator or indicator of cardiovascular disease? // Ann. Clin. Biochem., 2008, V. 45, P. 345–348.
39. Nussbaum C., Gloning A., Pruenster M. et al. Neutrophil and endothelial adhesive function during human fetal ontogeny // J. Leukoc. Biol. 2013. V. 93. N 2. P. 175-184.
40. Oliver J.J., Webb D.J., Newby D.E. Stimulated tissue plasminogen activator release as a marker of endothelial function in humans // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2005. V. 25. N 12. P. 2470-9.
41. Page A.V., Liles W.C. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction in infectious diseases // Virulence. 2013. V. 4. N 6. P. 507-516.
42. Pizarro S., García-Lucio J., Peinado V.I. et al. Circulating progenitor cells and vascular dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease // PLoS One. 2014. V. 9. N 8. P.e106163.
43. Schaffer A., Verdoia M., Cassetti E. et al. Relationship between homocysteine and coronary artery disease. Results from a large prospective cohort study // Thromb. Res. 2014. V. 134. N 2. P. 288-293.
44. Semina E.V., Rubina K.A., Sysoeva V.Y. et al. Novel mechanism regulating endothelial permeability via

T-cadherin-dependent VE-cadherin phosphorylation and clathrin-mediated endocytosis. // *Mol. Cell. Biochem.* 2014. V. 387. N 1-2. P. 39-53.

45. Sumagin R., Kuebel J.M., Sarelius I.H. *Leukocyte rolling and adhesion both contribute to regulation of microvascular permeability to albumin via ligation of ICAM-1* // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2011. V. 301. N 4. P. 804-813.

46. Tiong W.N., Sim E.U., Fong A.Y., Ong T.K. *Early detection of C-reactive protein and von Willebrand factor levels in Malaysian patients with acute coronary syndrome* // *J. Cardiovasc. Dis. Res.* 2013. V. 4. N 1. P. 3-6.

47. Vita J.A. *Endothelial function* // *Circulation.* 2011. V.

124. N 25. P. e906-12.

48. Wu H., Chen H., Hu P.C. *Circulating endothelial cells and endothelial progenitors as surrogate biomarkers in vascular dysfunction* // *Clin. Lab.* 2007. V. 53. N 5-6. P. 285-295.

49. Yetgin S., Yenicesu I., Cetin M., Tuncer M. *Clinical importance of serum vascular endothelial and basic fibroblast growth factors in children with acute lymphoblastic leukemia* // *Leuk. Lymphoma.* 2001. V. 42. N. 1-2. P. 83-8.

50. Yuan S.Y., Rigor R.R. *Regulation of Endothelial Barrier Function.* San Rafael (CA): Morgan and Claypool Life Sciences. 2011. 156 p.