

УДК 616-092.18

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-1-5-16

Т. Д. ВЛАСОВ, О. А. ЛАЗОВСКАЯ, Д. А. ШИМАНЬСКИ,  
И. И. НЕСТЕРОВИЧ, Н. Л. ШАПОРОВА

## Эндотелиальный гликокаликс: методы исследования и перспективы их применения при оценке дисфункции эндотелия

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия  
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8  
e-mail: tvlasov@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 05.01.20; принята к печати 14.02.20

### Резюме

Современный взгляд на эндотелиальную дисфункцию в патогенезе многих заболеваний включает, наряду с нарушением морфологии и функции клеток эндотелия, и повреждение гликокаликса – гелеобразного надмембранного комплекса из белково-углеводных, углеводно-липидных компонентов и плазменных молекул, образующих трехмерную сетчатую структуру на люминальной поверхности эндотелия. Особенности пограничного расположения эндотелиального гликокаликса в сосудистом русле обуславливают ряд важных функций – барьерную, регуляторную, противовоспалительную, антитромботическую, механотрансдукции и др. В последние годы, благодаря совершенствованию методов визуализации эндотелиального гликокаликса, детализирована его структура, уточнены физиологические функции, а также роль в развитии ряда патологических состояний. Современные способы оценки гликокаликса включают в себя инвазивные и неинвазивные методы исследования, наиболее перспективными среди которых являются темнопольная микроскопия и определение гликокаликс-ассоциированных биохимических маркеров. Повреждение эндотелиального гликокаликса является универсальным звеном патогенеза и наиболее ранним маркером развития большинства заболеваний, поэтому его оценка относится к перспективным направлениям исследований. Способность коррелировать с другими прогностическими показателями позволяет рассматривать повреждение эндотелиального гликокаликса как маркер неблагоприятного течения болезни, что в будущем позволит персонализировать лечение, предотвратить прогрессирование заболеваний у таких пациентов.

**Ключевые слова:** эндотелиальная дисфункция, эндотелиальный гликокаликс, методы исследования эндотелиального гликокаликса

**Для цитирования:** Власов Т. Д., Лазовская О. А., Шиманьски Д. А., Нестерович И. И., Шапорова Н. Л. Эндотелиальный гликокаликс: методы исследования и перспективы их применения при оценке дисфункции эндотелия. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020;19(1):5–16. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-1-5-16.

UDC 616-092.18

DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-1-5-16

T. D. VLASOV, O. A. LAZOVSKAYA, D. A. SHIMANSKI,  
I. I. NESTEROVICH, N. L. SHAPOROVA

## The endothelial glycocalyx: research methods and prospects for their use in endothelial dysfunction assessment

Pavlov University, Saint Petersburg, Russia  
6-8 L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022  
e-mail: tvlasov@yandex.ru

Received 05.01.19; accepted 14.02.20

### Summary

A modern concept of the endothelial dysfunction in the pathogenesis of many diseases includes the glycocalyx damage along with impaired of the morphology and function of endothelial cells. The glycocalyx is a gel-like submembrane complex of protein-carbohydrate, carbohydrate-lipid components and plasma molecules forming a three-dimensional network on the luminal surface of the endothelium. The features of the borderline location of endothelial glycocalyx in the vascular system determine various important functions: barrier, regulatory, anti-inflammatory, antithrombotic, mechanotransduction ones, etc. In recent years, due to the improvement of visualization methods endothelial glycocalyx structure has been detailed. Its physiological functions and the role in the development of some pathological conditions have been clarified. Modern methods of glycocalyx assessment include invasive and non-invasive research techniques. The most promising ones are dark-field microscopy and the determination of glycocalyx-associated biochemical markers. Endothelial glycocalyx damage is a universal pathogenetic

component and the earliest marker of the development of most diseases. Therefore, the endothelial glycocalyx assessment refers to promising areas of research. The ability to correlate with other prognostic indicators allows us to consider the endothelial glycocalyx damage as a marker of the poor health prognosis. That is why, assessment of the endothelial glycocalyx condition will allow to personalize treatment and to prevent the diseases progression.

**Keywords:** *endothelial dysfunction, endothelial glycocalyx, methods of glycocalyx assessment*

**For citation:** *Vlasov T. D., Lazovskaya O. A., Shimanski D. A., Nesterovich I. I., Shaporova N. L. The endothelial glycocalyx: research methods and prospects for their use in endothelial dysfunction assessment. Regional hemodynamics and microcirculation. 2020;19(1):5–16. Doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-1-5-16.*

## Введение

Современные представления о патогенезе ряда заболеваний, в том числе сердечно-сосудистой патологии, атеросклероза, системных аутоиммунных процессов, хронической болезни почек, сахарного диабета и многих других состояний, включают в себя эндотелиальную дисфункцию как обязательный компонент патологического процесса [1, 2]. При этом дисфункция эндотелия является результатом не только нарушения морфологии и активности клеток эндотелия, но и повреждения надклеточной системы – гликокаликса. В последние годы, благодаря совершенствованию методов визуализации эндотелиального гликокаликса, детализирована его структура, уточнены физиологические функции, а также роль в развитии ряда патологических состояний. Задачей настоящего обзора является рассмотрение особенностей строения и функции эндотелиального гликокаликса как пограничного слоя и связующего звена между потоком крови и сосудистой стенкой, а также возможностей его изучения в физиологических условиях и при патологических процессах.

## Строение эндотелиального гликокаликса

На люминальной поверхности эндотелия, на границе с кровотоком, расположен богатый углеводами пристеночный слой, именуемый гликокаликсом. Эндотелиальный гликокаликс (ЭГК) представляет собой гелеобразный надмембранный комплекс, состоящий из многих компонентов: протеогликанов, гликопротеинов, белков, связанных с поверхностью эндотелия или располагающихся относительно свободно в надклеточном пространстве между мембраной эндотелиальной клетки и жидкой частью крови [3, 4]. Структурные элементы ЭГК формируют трехмерный сетчатый каркас, способный удерживать и кумулировать различные молекулы. ЭГК не является статичным образованием, а представляет собой биологически активный слой: фиксированные и растворенные молекулы находятся в состоянии динамического равновесия с циркулирующими компонентами плазмы крови, в результате чего ЭГК обеспечивает взаимодействие компонентов плазмы крови с эндотелием [4]. Особенности расположения ЭГК на границе жидкости и ткани обуславливают ряд важных функций – барьерную, регуляторную, противовоспалительную, антитромботическую, механотрансдукции и др.

Свое название «гликокаликс» (*glyco*+*calyx*) получил благодаря доминированию полисахаридных компонентом в своем составе. На сегодняшний день известно, что толщина ЭГК в микрососудах в физиологических условиях составляет около 0,4–0,5 мкм

и зависит от размера сосуда, занимая при этом 10–20 % его просвета [5, 6].

В состав ЭГК входят белково-углеводные и углеводно-липидные комплексы, а также плазменные белки и другие молекулы, образующие сетчатую структуру на люминальной поверхности эндотелия [3, 7, 8].

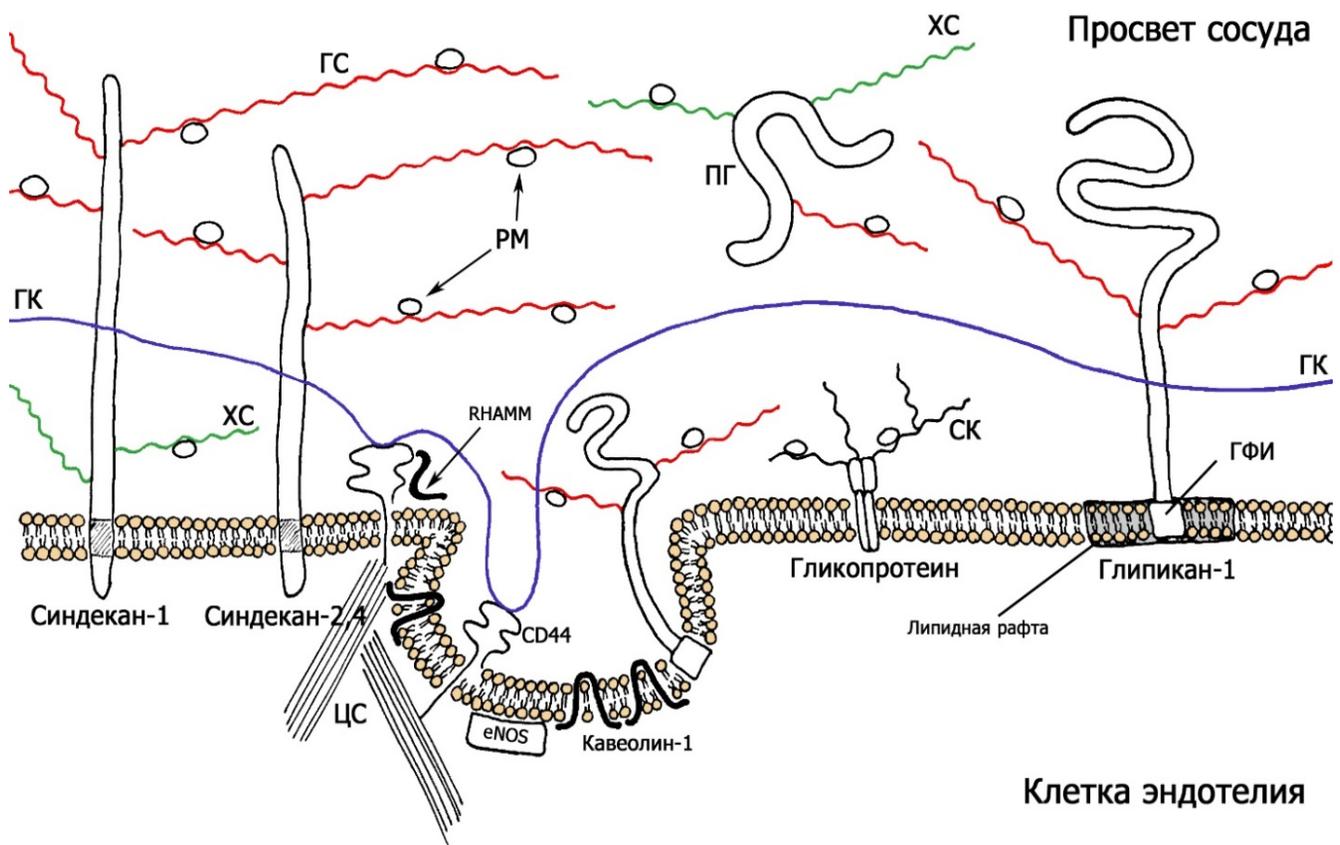
Благодаря особенностям расположения структурных компонентов, ЭГК состоит из условно выделяемых наружного и внутреннего слоев (рисунок). Внутренний слой ЭГК образуют в основном участки мембранных протеогликанов и связанных с ними молекул гликозаминогликанов (ГАГ), в то время как наружный слой, помимо цепей ГАГ и концевых участков протеогликанов, содержит другие растворенные молекулы, удерживающиеся с помощью нековалентных ионных сил. К ним относятся свободные протеогликаны (перлекан, бигликан и др.), плазменные белки и ферменты, цитокины, аминокислоты, липопротеины, молекулы воды и другие элементы [7, 8].

## Протеогликаны

Протеогликаны представляют собой основные опорные молекулы ЭГК, в основе которых находятся так называемые «коровые» белки. Они служат каркасом для прикрепления иных молекул, в том числе гликозаминогликанов и сиалогликопротеинов [4, 7, 9].

Протеогликаны в зависимости от способа удержания в слое ЭГК подразделяются на мембранные, имеющие домен для фиксации в цитоплазматической мембране клеток эндотелия, и растворенные, не связанные с мембраной ковалентно и удерживающиеся при помощи ионных сил. К первым относят синдеканы и глипиканы, имеющие несколько подтипов; ко вторым – бигликан, мимикан, перлекан, версикан, декорин и др. В слое ЭГК коровые белки протеогликанов ковалентно неспецифично связаны с молекулами гликозаминогликанов, не имеющих непосредственного контакта с поверхностью эндотелиальной клетки [7, 10].

**Синдеканы.** Всего выделяют четыре подтипа синдеканов, среди которых в ЭГК максимально представлены 1-й, 2-й и 4-й [8, 11]. Синдеканы представляют собой трансмембранные белки, имеющие короткий цитоплазматический домен, трансмембранный участок и «вытянутую» внеклеточную часть, способную связывать ГАГ. Синдекан-1 образует ковалентные связи с гепарансульфатом и хондроитинсульфатом и имеет пять точек связывания с ГАГ: три из них находятся вблизи NH<sub>2</sub>-концевого участка внеклеточного домена и два – около трансмембранного участка молекулы. Синдекан-3 способен связывать до восьми молекул ГАГ, пять из которых находятся на



Строение эндотелиального гликокаликса: ХС – хондроитинсульфат; ГС – гепарансульфат; ГК – гиалуроновая кислота; ПГ – протеогликан; СК – сиаловые кислоты; РМ – растворенные молекулы; ГФИ – гликозилфосфатидилинозитол; eNOS – эндотелиальная NO-синтаза; ЦС – цитоскелет

The structure of endothelial glycocalyx: ХС – chondroitin sulphate; ГС – heparan sulphate; ГК – hyaluronic acid; ПГ – proteoglycans; СК – sialic acid; РМ – soluble molecules; ГФИ – glycosylphosphatidylinositol; eNOS – endothelial nitric oxide synthase; ЦС – cytoskeleton

NH<sub>2</sub>-участке эктодомена. Синдекан-2 и синдекан-4 имеют три зоны контакта с ГАГ у NH<sub>2</sub>-терминали, связывая при этом только хондроитинсульфат [7]. Трансмембранный домен синдеканов, контактируя с цитоскелетом эндотелиальной клетки, обеспечивает трансдукцию сигнала внутрь клетки в результате связывания лигандов молекулами ГАГ [8, 9, 11]. При воздействии на гликокаликс, например, протеиназами, возможно отщепление внеклеточного домена, что позволяет рассматривать циркулирующий синдекан-1 как маркер деградации ЭГК. Так, показана связь повышения уровня плазменного синдекана-1 со степенью повреждения при травмах [12], с системной воспалительной реакцией и ее выраженностью [13], а также участие в межклеточных взаимодействиях и метастазировании опухолей [14]. Возрастание концентрации синдекана-1 коррелирует с повышенной проницаемостью эндотелия *in vitro* [12].

**Глипиканы.** Особенностью глипиканов, отличающей их от других мембраносвязанных протеогликанов, является наличие участка гликозилфосфатидилинозитола (GPI, ГФИ), удерживающего его в связи с поверхностью эндотелиальной клетки, а также глобулярная форма экстрацеллюлярного домена за счет многочисленных цистеиновых остатков вблизи N-терминальной части [8]. На поверхности эндотелия представлен только глипикан-1 при известных на сегодняшний день шести его типах [9]. Внеклеточный участок глипикана-1 способен связывать лишь гепарансульфат. Глипикан-1 с помощью GPI-домена

связан со специфически устроенными участками на мембране эндотелия – липидными рафтами и кавеолами, обеспечивающими трансмембранную передачу сигналов и транспорт молекул, например, альбумина. Кроме того, глипикан-1 является важным регулятором активности эндотелиальной NO-синтазы и образования оксида азота (NO), участвующего в регуляции сосудистого тонуса [7, 8, 15, 16].

**Растворимые протеоглики.** Такие протеоглики, как агрекан, перлекан, версикан, декорин, бигликан, мимекан, находятся в слое эндотелиального гликокаликса в растворенном виде, не формируя непосредственной связи с поверхностью эндотелиальной клетки и удерживаясь при помощи ионных сил. Это обуславливает существующий обмен и динамическое равновесие этих молекул между толщиной ЭГК и плазмой крови. Как и мембранные протеоглики, растворимые молекулы имеют участки связывания с различными гликозаминогликанами: гепаран-/хондроитин-/дерматан- и кератансульфатами [8], а также адгезионными гликопротеинами, такими как фибронектин, ламинин, тенасцин и др. [9].

### Гликозаминогликаны (ГАГ)

ГАГ представляют собой линейные длинноцепочечные отрицательно заряженные полимеры, состоящие из гидрофильных молекул дисахаридов [9].

Хорошо известны пять типов ГАГ, среди которых выделяют сульфатированные (гепарансульфат, хондроитинсульфат, дерматансульфат и кератансульфат)

и несulfатированные (гиалуроновая кислота, или гиалуронан). Хондроитинсульфат и дерматансульфат по своей химической структуре являются галактозаминогликанами благодаря наличию в составе галактозамина, причем дерматансульфат рассматривается как подтип хондроитинсульфата – сополимер с остатками глюкоуроновой и идуриновой кислот. Гепарансульфат и гиалуронан представляют собой глюкозаминогликаны, поскольку содержат в составе глюкозамин [8, 17].

Доминирующими ГАГ в ЭГК являются три молекулы – гепарансульфат, составляющий 50–90 % среди всех ГАГ, а также хондроитинсульфат и гиалуроновая кислота [4, 7, 10]. Связывание ГАГ с протеогликанами неспецифично: каждая молекула ПГ способна формировать контакты с различными ГАГ, преимущественно в соотношении «гепарансульфат: хондроитинсульфат» 4:1 [10].

**Сульфатированные ГАГ.** Гепаран- и хондроитинсульфат ковалентно связаны с мембранными «коровыми» белками – синдеканами и глипиканами, формируя протеогликаны, причем степень их сульфатирования, а следовательно, и отрицательного заряда, может меняться в зависимости от микроокружения [10, 17]. Их молекулы могут варьировать по длине и содержать от 40 до 200 дисахаридных остатков. Благодаря специфическому расположению центров сульфатирования, ГАГ способны формировать спиралевидные структуры, за счет чего реальная длина молекулы ГАГ может значительно превышать ее линейный размер в составе ЭГК [8, 17].

Помимо мембранных протеогликанов, ГАГ могут быть связаны с другими белковыми компонентами ЭГК – гиаладгеринами и гликопротеинами, содержащими сиаловые кислоты, которые способны присоединять концевыми участками различные молекулы [8].

Благодаря своим структурным особенностям и отрицательному заряду, ГАГ способны принимать участие во многих физиологических процессах, участвуя в связывании, активации или инактивации множества биологически активных молекул, модулируя иммунные реакции, воспаление, гемостаз, клеточный рост. К таким молекулам относятся антимикробные пептиды, ферменты, факторы роста, липопротеиновая липаза и ЛПНП, факторы свертывания крови и естественные антикоагулянты, протеиназы (нейтрофильная эластаза, катепсин G, карбоксипептидаза A), компоненты межклеточного матрикса (фибрин, фибронектин, коллаген и др), молекулы клеточной адгезии (селектины, MAC-1, PECAM), компоненты комплемента, хемокины (MIP-1a, RANTES, IP-10, IL-8), цитокины (GM-CSF, IL-2, 3, 4, 5, 7, 12, IFN $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) и другие белки. Кроме того, ГАГ модулируют пути сигналинга факторов роста: пути, активируемые факторами роста фибробластов (FGFs/FGFRs), сосудистыми эндотелиальными факторами роста (VEGFs/VEGFRs), тромбоцитарным фактором роста (PDGF/PDGF $\alpha$ ) и др. [17].

ГАГ способны участвовать в модулировании транскрипции генов в клетках эндотелия за счет стимуляции образования ядерного фактора NF $\kappa$ B [17].

**Гиалуроновая кислота** (гиалуронан) представляет собой длинноцепочечный несulfатированный ГАГ,

не связанный с мембранными протеогликанами, контактирующий с молекулами RHAMM и CD44 на мембране клеток эндотелия. RHAMM и CD44 связаны с актином цитоскелета клеток эндотелия и участвуют в кавеол-опосредованном эндоцитозе и трансцитозе [4, 7]. Гиалуронан образует контакты с растворимыми протеогликанами ЭГК – агреканом, версиканом и др. [18].

Гиалуронан является наиболее крупным гликозаминогликаном ЭГК, состоит из повторяющихся дисахаридных остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина. Он имеет в своей структуре от 2000 до 25 000 молекул дисахаридов, достигая в длину 0,2 мкм и молекулярной массы более 1 млн Да [6, 19]. При физиологических условиях гиалуронан имеет спиралевидную структуру и обладает высокой вязкостью и вязкоупругостью, что создает препятствие для трансэндотелиального проникновения жидкости и является физиологической «смазкой» на внутренней стенке сосуда. В результате гиалуронан представляет собой основной компонент ЭГК, определяющий барьерные свойства и регулирующий проницаемость сосудов [5, 12].

В норме уровень свободного гиалуронана в плазме невелик вследствие его быстрой элиминации в печени (85–90%), где он подвергается рецептор-опосредованному захвату с последующим катаболизмом эндотелиальными клетками синусоидов [18].

Гиалуроновая кислота играет заметную роль в поддержании целостности сосудистой стенки благодаря модуляции структуры ЭГК и влиянию на морфологию клеток эндотелия, процессы эндоцитоза и трансцитоза. Это обеспечивается, в частности, за счет реорганизации цитоскелета эндотелия и стимуляции кавеол-опосредованного эндоцитоза при активации CD44. Возрастание активности гиалуронидазы при ряде патологических состояний приводит к фрагментации высокомолекулярного гиалуронана и нарушению целостности ЭГК с повышением его проницаемости [19].

### Гликопротеины

К гликопротеинам, входящим в состав ЭГК, относят ряд молекул, фиксированных на мембране эндотелия, – преимущественно адгезионные факторы (селектины, интегрины, молекулы семейства иммуноглобулинов), обеспечивающие взаимодействие иммунокомпетентных клеток с компонентами сосудистой стенки, а также некоторые коагуляционные факторы, в частности, гликопротеин-Ib-V-IX-комплекс. Гликопротеины на концевых экстрацеллюлярных участках связаны с короткоцепочечными кислыми олигосахаридами и сиаловыми кислотами [3].

### Растворенные молекулы

Помимо свободных протеогликанов, в толще ЭГК находятся и другие растворенные молекулы – альбумин плазмы, орозомукоид, компоненты комплемента, иммуноглобулины, адгезионные молекулы, факторы роста, антимикробные пептиды, ферменты, в том числе супероксиддисмутаза и другие биологически активные агенты [4, 17].

### Функции эндотелиального гликокаликса

Все компоненты ЭГК интегрированы в единую систему, которая обеспечивает целостность структуры сосудистого русла и направлена на поддержание физиологических функций органов.

Благодаря своей структуре и особенностям организации, ЭГК выполняет следующие основные функции [20, 21]:

1) является барьером для транспорта протеинов и жидкости, что предотвращает «утечку» плазмы в капиллярах;

2) обеспечивает механосенсорные функции и трансдукцию сил кровяного давления и напряжения сдвига;

3) регулирует адгезию иммунокомпетентных клеток на поверхности эндотелия и их транскапиллярную миграцию, модулируя локальное воспаление;

4) является резервуаром (зоной связывания и накопления) для биологически активных молекул, влияя на микроокружение и метаболические процессы.

### 1. Барьерная функция. Регуляция сосудистой проницаемости

Пористая структура ЭГК обеспечивает избирательное и контролируемое проникновение плазменных молекул и элементов крови через сосудистую стенку. Компоненты гликокаликса, благодаря отрицательному заряду, формируют электростатический барьер для молекул, в частности, протеинов (альбумина) и форменных элементов крови, препятствуя их «утечке» из сосудистого русла [6, 7]. Повреждение ЭГК с разрушением ГАГ, сиаловых кислот приводит к повышению его проницаемости для воды и протеинов [12, 22].

ЭГК играет важнейшую роль в распределении жидкости между сосудистой системой и интерстициальной тканью [8]. В последние годы была пересмотрена классическая модель транскапиллярной фильтрации и реабсорбции жидкости, предложенная Старлингом – роль соотношения внутри- и внесосудистого гидростатического и онкотического давления в направлении движения жидкости через стенку капилляра. Благодаря ряду проведенных экспериментов, были вскрыты противоречия и несоответствия парадигмы Старлинга и уточнена важная роль гликокаликса в процессе ультрафильтрации жидкой части крови через сосудистую стенку. Так, показано влияние равновесия коллоидно-осмотического давления субгликокаликсного пространства и интерстиция, а также объема транскапиллярной фильтрации в реализации так называемой «гликокаликсной» модели, что несколько изменило отношение к классической модели Старлинга [23].

Повреждение ЭГК и нарушение межклеточных контактов в эндотелии, наблюдающиеся при ряде патологических состояний, приводят к повышению проницаемости сосудистой стенки [12, 19].

### 2. Механотрансдукция

Воздействие потока крови в сосудах влияет на состояние эндотелиальных клеток, изменяя их морфологию и функциональную активность.

Гемодинамические силы активируют механосенсоры и сигнальные пути, что в результате изменяет экспрессию внутриклеточных белков и транскрипционных факторов в клетках эндотелия. К таким гемодинамическим факторам можно отнести кровяное давление, окружное напряжение и напряжение сдвига. В связи с особенностями локализации на границе жидкой части крови и эндотелиального слоя, ЭГК является первичным звеном, испытывающим на себе воздействие гидродинамических сил. Функции ЭГК как первичного механосенсора и механотрансдуктора определяются структурными и организационными особенностями ЭГК [21].

В настоящее время известна интегральная роль оксида азота (NO) как физиологического регулятора состояния стенки сосуда. NO способен модулировать уровень кровяного давления, изменять барьерные свойства эндотелия, оказывать антиапоптотическое, антитромботическое действие и имеет ключевое значение в реализации ответа эндотелиальных клеток на изменение напряжения сдвига [16, 24]. Для высвобождения оксида азота необходима экспрессия эндотелиальной NO-синтазы. В работах последних лет показана важная роль глипикана-1 и гепарансульфата в индукции активности eNOS в ответ на повышение напряжения сдвига [7, 16]. Так, глипикан-1, связанный с гепарансульфатом, закреплен в мембране эндотелиальной клетки с помощью гликозилфосфатидилинозитолового (GPI) домена в области так называемых мембранных рафт – кавеол или липидных рафт – участков наружного билипидного слоя эндотелиальных клеток, богатых холестерином и сфинголипидами. При воздействии напряжения сдвига кластеризация гепарансульфата и глипикана-1 приводит к индукции PECAM-1, что запускает экспрессию eNOS и увеличение продукции NO [25]. Так, в ряде работ [15, 16, 26] показано снижение eNOS-ответа при воздействии напряжения сдвига в эксперименте при разрушении гепарансульфата или в отсутствие экспрессии глипикана-1.

Помимо увеличения продукции оксида азота, результатом воздействия напряжения сдвига является повышение плотности межклеточных контактов, а также изменение морфологии эндотелиальных клеток с увеличением их продольного размера. В ответ на повышение напряжения сдвига увеличивается плотность глипикана-1 в области межклеточных контактов, что обеспечивается их миграцией в составе липидных рафт, в то время как глипикан-1 в области кавеол остается неизменным. Последний, наряду с синдеканом-1, вызывает реорганизацию внутриклеточного цитоскелета с изменением морфологии эндотелиальных клеток [7, 26].

### 3. Регуляция адгезии иммунокомпетентных клеток

ЭГК является полупроницаемым «ситом» для проникновения воды и растворенных молекул, а также форменных элементов крови через сосудистую стенку. На сегодняшний день хорошо известны этапы и механизмы развития воспалительного процесса, в том числе роль лейкоцитов в его реализации.

В ходе патологического процесса при воздействии провоспалительных агентов происходит сращивание компонентов гликокаликса – гепарансульфата, гиалуронана, протеогликанов и т. д., что приводит к ухудшению барьерных свойств ЭГК и повышению понижаемости эндотелия. Деградация ЭГК показана в эксперименте при воздействии TNF- $\alpha$  [27], эндотоксина [28], активации сериновых и цистеиновых протеаз [29], комплемента [30], матриксных металлопротеиназ [31, 32]. Процесс трансэндотелиальной миграции лейкоцитов протекает в несколько известных последовательных стадий, включая непосредственное взаимодействие с поверхностью эндотелия во время роллинга («перекатывания») и адгезию при участии мембранных гликопротеиновых молекул (селектинов, интегринов). При физиологических условиях толщина гликокаликса в посткапиллярных венулах превышает размер адгезионных молекул и длину ворсинок лейкоцита при роллинге. В результате ЭГК, экранируя поверхность эндотелия, ограничивает возможности контакта мембраны лейкоцита с молекулами адгезии на эндотелии, модулируя рекрутирование иммунокомпетентных клеток в очаг воспаления. Уменьшение толщины гликокаликса за счет сращивания его ключевых компонентов под воздействием провоспалительных агентов улучшает проникновение лейкоцитов к стенке сосуда, тем самым облегчая их трансэндотелиальную миграцию [33, 34].

**4. ЭГК как резервуар биологически активных молекул**

Благодаря пористой структуре ЭГК и способности его структурных компонентов формировать межмолекулярные связи, в толще гликокаликса способны удерживаться различные молекулы, синтезируемые эндотелием или проникающие из кровотока. Такая кумуляция обеспечивает поддержание физиологических функций, регулируя микроокружение эндотелия [35]. Так, протеогликанов ЭГК способны связывать и накапливать липопротеиновую липазу, участвуя тем самым в метаболизме липопротеинов в пристеночном слое сосуда [36]. В толще ЭГК присутствует внеклеточная изоформа супероксиддисмутазы (ЕС-SOD) – фермента, катализирующего трансформацию цитотоксического супероксидного радикала. ЕС-SOD обладает высокой аффинностью к гликозаминогликанам (в том числе гепарансульфату) за счет своего положительного заряда. Активность внеклеточной супероксиддисмутазы на уровне ЭГК поддерживает

защитную антиоксидантную функцию и влияет на активность системы оксида азота как регулятора вазомоторных реакций [37].

В толще ЭГК аккумулированы молекулы, участвующие в модуляции коагуляционных процессов: антитромбин III, ингибитор пути тканевого фактора (TFPI), кофактор II гепарина, тромбомодулин, рецептор протеина C [35]. Баланс естественных антикоагулянтов в пристеночном слое обеспечивает тромборезистентность сосудов в физиологических условиях. При повреждении ЭГК и обнажении эндотелия отмечаются значимые нарушения в системе свертывания крови [12]. Кроме влияния на коагуляционное звено, ЭГК реализует антитромботическую функцию благодаря экранированию эндотелия, механически препятствуя агрегации тромбоцитов на его поверхности [33]. Так, в экспериментальных работах показана быстрая активация тромбоцитов с образованием агрегатов на поверхности эндотелия при повреждении ЭГК [38].

Влияние ЭГК на микроокружение эндотелия обнаруживается и в процессах ангио- и митогенеза: гликозаминогликаны ЭГК способны связывать и удерживать VEGF – эндотелиальный фактор роста, являющийся важным и специфичным регулятором ангиогенеза и сосудистой проницаемости. Накопление VEGF в толще гликокаликса способствует более эффективному его взаимодействию с рецепторами на поверхности эндотелия [39].

**Методы оценки и визуализации гликокаликса**

В недавно опубликованных позициях Рабочей группы Европейского общества кардиологов по изучению периферического кровообращения (2011) оценка гликокаликса признана перспективным направлением исследования [40]. Изучение структуры гликокаликса имеет большое потенциальное значение, так как признаки его поражения наблюдаются задолго до дебюта заболеваний [41]. Также он может использоваться в качестве маркера сосудистого повреждения, что представляет собой клинически полезный инструмент для оценки и прогнозирования заболевания [42].

Принято выделять инвазивные и неинвазивные методы исследования гликокаликса [40]. В этом обзоре мы отдельно выделили те методы, которые позволяют оценивать гликокаликс человека *in vivo* (таблица).

К методам инвазивной оценки гликокаликса человека относятся метод объемного разбавления,

**Методы исследования эндотелиального гликокаликса человека**

**Research methods of a human endothelial glycocalyx**

Прижизненные методы	Исследование гистологического материала и клеточных культур
Инвазивные: <ul style="list-style-type: none"> <li>• метод объемного разбавления;</li> <li>• биохимический метод</li> </ul>	Просвечивающая (трансмиссионная) электронная микроскопия; прижизненная (световая) микроскопия; атомно-силовая микроскопия
Неинвазивные: <ul style="list-style-type: none"> <li>• ортогональная поляризационная спектроскопия;</li> <li>• темнопольная микроскопия</li> </ul>	

определение концентраций гликокаликс-ассоциированных биохимических маркеров крови, просвечивающая (трансмиссионная) электронная микроскопия, прижизненная (световая) микроскопия, в том числе лазерная сканирующая микроскопия, и атомно-силовая микроскопия. Первые два метода позволяют прижизненно исследовать гликокаликс человека, тогда как остальные используются преимущественно на гистологическом материале, культуре клеток или на животных.

## 1. Прижизненные инвазивные методы исследования эндотелиального гликокаликса человека

### 1.1. Метод объемного разбавления

В основу метода объемного разбавления берется расчет системных объемов распределения, полученных после поочередного внутрисосудистого введения проникаемого для гликокаликса декстрана 40 кДа и непроницаемых меченных флуоресцеином эритроцитов исследуемого [40] или декстрана 70 кДа [43]. Известно, что ЭГК препятствует прямому контакту плазменных макромолекул и эритроцитов с эндотелиоцитами [44], а на глубину и скорость проникновения макромолекул в гликокаликс влияют их размер и величина заряда [45]. Следовательно, объем гликокаликса можно оценить, исследуя его проницаемость для разных молекул [44]. Системные объемы распределения проникаемого и непроницаемого через гликокаликс индикатора будут отличаться, что в последующем позволит рассчитать среднюю толщину гликокаликса [44]. Другими словами, данный метод основан на принципе объемного разбавления [41], позволяющем рассчитать разницу между объемами распределения декстрана 40кДа и плазмы крови [41]. Однако инвазивность, трудность подготовки индикаторов и выполнения самого исследования затрудняют повсеместное использование этого метода. Кроме того, этот метод оценивает среднюю толщину гликокаликса по всей сосудистой сети [40], тогда как на отдельных участках сосудистого русла толщина гликокаликса может значительно различаться. В критическом обзоре этого метода [41] выделено три глобальные проблемы: 1) возможная диссоциация декстрана 40 кДа на молекулы с более низкой молекулярной массой в процессе приготовления индикатора или в момент его введения; 2) неадекватная оценка объема плазмы, рассчитанная только на основании объема распределения циркулирующих эритроцитов и гематокрита венозной крови, которая не учитывает различия в распределении плазмы и эритроцитов в микроциркуляторном русле; 3) неизвестное значение коэффициента распределения индикатора между плазмой и жидкостной составляющей самого гликокаликса, так как объем жидкости внутри гликокаликса не может быть рассчитан по принципу объемного разбавления. Указанные проблемы, по мнению авторов [41], могут быть устранены путем оценки концентрации декстрана 40 кДа в момент введения с измерением объема распределения сывороточного альбумина или фибриногена, что более точно отражает объем плазмы в микроциркуляторном русле. Тем не менее метод показал свою

воспроизводимость и клиническую значимость [44], поэтому его использование может быть полезно для оценки гликокаликса [40], что в основном используется на лабораторных животных [43]. Указанный метод также может применяться и на человеке. Так, в ряде экспериментов наблюдалось уменьшение объема ЭГК у пациентов с индуцированной острой гипергликемией [44], с сахарным диабетом I типа [46]. Выявлена отрицательная корреляция между объемом ЭГК и уровнем липопротеинов низкой плотности, индексом массы тела [42]. При гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии у пациентов также отмечалось уменьшение системного объема гликокаликса [47]. Отмечена корреляция этого метода с ортогональной поляризационной спектроскопией [46].

### 1.2. Биохимический метод

Биохимический метод исследования гликокаликса заключается в оценке плазменных концентраций гликокаликс-ассоциированных молекул [48]. При деструкции ЭГК происходит не только высвобождение структурных компонентов гликокаликса (синдекана-1, гиалуронана, sVE-кадгерина, гепарансульфата, эндокана), но и увеличение в крови концентрации адсорбированных на нем функциональных молекул (ангиопоэтина-1,2; vWF, тромбомодулина, sE-селектина, sICAM-1, sVCAM-1, sVEGFR1, sFlt-1) [49–51]. В настоящее время имеется множество публикаций, в которых оценивается роль биохимических маркеров повреждения ЭГК при сердечно-сосудистых, онкологических, ревматических заболеваниях, травмах, воспалении, заболеваниях почек, преэклампсии и эклампсии [52–57]. Однако наиболее изученным и высокоспецифичным маркером деструкции ЭГК является циркулирующий синдекан-1, что подтверждается многочисленными сравнительными исследованиями [50, 52].

## 2. Прижизненные неинвазивные методы исследования эндотелиального гликокаликса человека: темнопольная микроскопия и ортогональная поляризационная спектроскопия

Вторая группа методов позволяет количественно оценивать параметры гликокаликса неинвазивными полуавтоматическими способами с использованием ортогональной поляризационной спектроскопии и темнопольной микроскопии поверхностного микроциркуляторного русла [40], суть которых заключается в регистрации глубины проникновения эритроцитов в сосудистую стенку, так называемого эритроцит-эндотелиального зазора, с последующим математическим расчетом показателей гликокаликса [58]. Эти методы позволяют неинвазивно и прижизненно оценивать ЭГК человека, что делает их перспективными и многообещающими [4, 59].

Темнопольная микроскопия основана на измерении пограничной области перфузии ЭГК, т. е. степени погружения эритроцитов в толщу стенки сосуда, что позволяет математическим путем в дальнейшем рассчитать толщину сублингвального ЭГК [59, 60]. По сравнению с ортогональной поляризационной спектроскопией, темнопольная микроскопия

обладает лучшей контрастностью и детализацией [61], сохраняя быстроту измерения и хорошую воспроизводимость. Такие преимущества достигаются путем синхронизации с частотой смены кадров и использования нескольких пучков света, что улучшает качество полученного изображения [58]. Однако, по мнению других ученых [62], использование данного метода все еще ограничено в связи с отсутствием крупных клинических исследований. В настоящий момент темнопольная микроскопия является одним из ведущих методов неинвазивной прижизненной оценки гликокаликса у человека [59]. Она уже применялась у пациентов с терминальной почечной недостаточностью [63] и при ишемической болезни сердца, использовалась в качестве вспомогательного показателя оценки выраженности коронарного атеросклероза [64], показала неблагоприятное прогностическое значение при отягощенной наследственности по сердечно-сосудистым заболеваниям [65], оценивалась при нейродегенеративных заболеваниях [48]. Так, в одной из работ [66] у пациентов с эпилепсией было получено значимое изменение толщины сублингвального гликокаликса, в другом исследовании [67] метод позволил прижизненно выявить снижение кровотока и плотности сосудов микроциркуляторного русла коры головного мозга при инсульте. Показана корреляция между показателями темнопольной микроскопии и уровнем синдекана-1 в сыворотке крови, отражающим деструкцию гликокаликса [63]. Несмотря на полученные данные, в ряде других исследований [68] не было выявлено никакой связи между толщиной гликокаликса, оцененной с помощью темнопольной микроскопии, и сердечно-сосудистым риском. Не исключено, что интерпретация полученных результатов затрудняется при заболеваниях полости рта [69, 70], а также может быть связана с наличием артефактов давления и движения при неправильном измерении [60]. Проведенный обзор литературы позволяет инициировать исследования с применением темнопольной микроскопии для уточнения ее места в оценке состояния эндотелия у пациентов с различными заболеваниями. Являясь более быстрым методом оценки сосудистого эндотелия с меньшим риском погрешностей и обладая хорошей реализуемостью и переносимостью пациентами, а также высокой воспроизводимостью измерений, которые не зависят от области исследования и временных промежутков между измерениями [71], его использование, безусловно, может быть ценным инструментом в диагностике и лечении многих заболеваний.

### 3. Методы исследования гистологического материала и клеточных культур

#### 3.1. Просвечивающая (трансмиссионная) электронная микроскопия

Следующим методом является просвечивающая (трансмиссионная) электронная микроскопия. Используемые длины волны электронного пучка в 100 000 раз короче волн фотонов в видимом свете, что позволяет достичь субнанометрического разрешения, в отличие от световых микроскопов [72]. Гликокаликс

плохо контрастирует при электронной микроскопии, так как не обладает внутренней электронной плотностью, а также он очень неустойчив для исследования *ex vivo*, поэтому требуется добавление катионов, представляющих собой ионы тяжелых металлов, для фиксации анионных остатков полисахаридных цепей гликокаликса, что реализуется путем дополнительного окрашивания [73, 74]. Исследуемые образцы ткани могут окрашиваться нитратом лантана [75], уранилацетатом и цитратом свинца [76], катионным ферритином [77], альциановым синим [43] и т. д., однако под воздействием некоторых фиксаторов происходит частичное разрушение ЭГК, что искажает полученные результаты [8]. С помощью этого метода были выполнены ряд исследований, посвященных изучению ЭГК человека при различных заболеваниях, используя биопсийный материал плаценты [74], конъюнктивы [78], слизистой оболочки тонкой кишки [79] и др. Уникальность просвечивающей электронной микроскопии заключается в возможности трехмерной реконструкции гликокаликса, что позволяет подробно изучать архитектуру гликокаликса, выявлять структурные особенности и нарушения строения при различных состояниях и заболеваниях [80]. Несмотря на свои возможности, использование электронной микроскопии имеет некоторые особенности, а именно – необходимость фиксации биоматериала. Следовательно, исследование возможно только на образцах тканей или культур клеток и не доступно для использования у человека *in vivo* [72].

#### 3.2. Прижизненная (световая) микроскопия

Прижизненная (световая) микроскопия включает в себя флуоресцентную микроскопию в темном поле, лазерную сканирующую конфокальную микроскопию, лазерную многофотонную сканирующую микроскопию и конфокальную микроскопию с вращающимся диском [8, 81]. Они отличаются между собой источником света, длиной волны излучения, числом одновременно испускаемых фотонов и способом детекции, что предопределяет различную глубину зондирования ткани, четкость изображения и возможность регистрации эндогенной флуоресценции [82]. Чтобы сформировать изображение с помощью световой микроскопии, возбуждающий луч должен столкнуться с молекулами-мишенями, вызвав в них переход электронов между двумя энергетическими уровнями, что и воспринимается детекторами устройства [82]. В качестве флуорофоров могут выступать экзогенные флуоресцентно меченные молекулы или эндогенные флуорофоры, постоянно или временно экспрессирующиеся в самой ткани [82]. В отличие от использования фиксирующих растворов, использование флуорофоров при световой микроскопии позволяет свести к минимуму проблему деструкции ЭГК изучаемого образца [8]. Метод прижизненной световой микроскопии использовался рядом авторов для оценки гликокаликса человека *ex vivo* [48]. Лазерной сканирующей микроскопией, широко используемой в медицине для диагностики заболеваний кожи, желудочно-кишечного тракта, сердца, легких и мочевыводящих путей, исследовался

гликокаликс на животных и клеточных культурах, однако у человека исследований пока не проводилось [76, 77, 83, 84].

### 3.3. Атомно-силовая микроскопия

Суть метода заключается в регистрации величины изгиба упругой консоли, кантилевера, при контакте нанометрового зонда с исследуемой поверхностью, что позволяет получать данные с атомарным разрешением. Таким образом, атомно-силовая микроскопия позволяет сканировать поверхность гликокаликса, определяя его рельеф, и в режиме силовой спектроскопии оценивать его механические свойства [85]. Данный метод не требует красителей или флуоресцентных меток [86]. С его помощью исследовался гликокаликс культуры эндотелиальных клеток, в том числе для оценки роли ангиопоэтина-2 [84].

### Заключение

Таким образом, очевидна перспективность исследования гликокаликса человека как для проведения дальнейших научных изысканий, так и для внедрения в практическую медицину. На сегодняшний день существующие методы исследования позволяют оценить как структурные, так и функциональные особенности гликокаликса. Наиболее перспективными среди них являются темнопольная микроскопия и определение гликокаликс-ассоциированных биохимических маркеров. На примере многих заболеваний показана несомненная клиническая ценность оценки гликокаликса, что позволяет инициировать дальнейшие исследования в этой области и продолжить изучения его роли при различных заболеваниях, ассоциированных с эндотелиальной дисфункцией. Способность коррелировать с другими прогностическими показателями позволяет рассматривать повреждение гликокаликса как маркер неблагоприятного течения заболеваний, что в будущем даст возможность своевременно персонифицировать тактику ведения и лечения таких пациентов.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

### Литература / References

1. Васина Л. В., Петрищев Н. Н., Власов Т. Д. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры // Регионар. кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16, № 1. – С. 4–15. [Vasina LV, Petrishchev NN, Vlasov TD. Markers of endothelial dysfunction. Regional blood circulation and microcirculation. 2017;16(1):4–15. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-1-4-15.
2. Власов Т. Д., Нестерович И. И., Шиманьски Д. А. Эндотелиальная дисфункция: от частного к общему. Возврат к «старой парадигме»? // Регионар. кровообращение и микроциркуляция. – 2019. – Т. 18, № 2. – С. 19–27. [Vlasov TD, Nesterovich II, Shimanski DA. Endothelial dysfunction: from the particular to the general. Return to the «Old Paradigm»? Regional blood circulation and microcirculation. 2019;18(2):19–27. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2019-18-2-19-27.
3. Reitsma S et al. The endothelial glycocalyx: Composition, functions, and visualization. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 2007;454(3):345–359. Doi: 10.1007/s00424-007-0212-8.
4. Cao R-N et al. Endothelial glycocalyx as a potential therapeutic target in organ injuries. *Chin. Med. J. (Engl). Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health)*. 2019;132(8):963–975. Doi: 10.1097/CM9.000000000000177.
5. Cabrales P et al. Microvascular and capillary perfusion following glycocalyx degradation. *J. Appl. Physiol.* 2007;102(6):2251–2259. Doi: 10.1152/jappphysiol.01155.2006.
6. Турашев А. Д., Максименко А. В. Эндотелиальный гликокаликс в функционировании микроциркуляторного русла // Кардиол. вестн. – 2009. – № 2. – С. 59–65. [Turashev AD, Maksimenko AV. Endothelial glycocalyx in the functioning of the microvasculature. *Russian Cardiology Bulletin*. 2009;2:59–65. (In Russ.)].
7. Zeng Y. Endothelial glycocalyx as a critical signalling platform integrating the extracellular haemodynamic forces and chemical signalling. *J. Cell. Mol. Med.* 2017;21(8):1457–1462. Doi: 10.1111/jcmm.13081.
8. Максименко А. В., Турашев А. Д. Эндотелиальный гликокаликс системы кровообращения. I. Обнаружение, компоненты, структурная организация // Биоорганическая химия. – 2014. – Т. 40, № 2. – С. 131–141. [Maksimenko AV, Turashev AD. Endothelial glycocalyx of blood circulation. I. Finding, components, structure organization (Review). *Bioorganicheskaja khimiia*. 2014;40(2):131–141. (In Russ.)]. Doi: 10.1134/s1068162014020113.
9. Cancel LM, Tarbell JMC. The glycocalyx and its significance in human medicine. *J. Intern. Med.* 2016;280:97–113. Doi: 10.1111/joim.12465.
10. Gao L, Lipowsky HH. Composition of the endothelial glycocalyx and its relation to its Thickness and diffusion of small solutes. *Microvasc. Res.* 2010;80(3):394–401. Doi: 10.1016/j.mvr.2010.06.005.
11. Tkachenko E, Rhodes JM, Simons M. Syndecans: New kids on the signaling block. *Circ. Res.* 2005;96(5):488–500. Doi: 10.1161/01.RES.0000159708.71142.c8.
12. Rahbar E et al. Endothelial glycocalyx shedding and vascular permeability in severely injured trauma patients. *J. Transl. Med.* 2015;13(1):1–7. Doi: 10.1186/s12967-015-0481-5.
13. Ostrowski SR et al. Sympathoadrenal activation and endothelial damage in patients with varying degrees of acute infectious disease: An observational study. *J. Crit. Care Elsevier Inc.* 2015;30(1):90–96. Doi: 10.1016/j.jcrc.2014.10.006
14. Ma P et al. Heparanase deglycanation of syndecan-1 is required for binding of the epithelial-restricted prosecretory mitogen lacritin. *J. Cell Biol.* 2006;174(7):1097–1106. Doi: 10.1083/jcb.200511134.
15. Ebong EE et al. Shear-induced endothelial NOS activation and remodeling via heparan sulfate, glypican-1, and syndecan-1. *Integr. Biol. (United Kingdom)*. 2014;6(3):338–347. Doi: 10.1039/c3ib40199e.
16. Zeng Y, Liu J. Role of glypican-1 in endothelial NOS activation under various steady shear stress magnitudes. *Exp. Cell Res. Elsevier*. 2016;348(2):184–189. Doi: 10.1016/j.yexcr.2016.09.017.
17. Zhang L. Glycosaminoglycan (GAG) biosynthesis and GAG-binding proteins. *Progress in Molecular Biology and Translational Science. 1st ed. Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2010;93:1–17. Doi: 10.1016/S1877-1173(10)93001-9.
18. Fraser JRE, Laurent TC, Laurent UB. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *J. Intern. Med.* 1997;242:27–33. Doi: 10.1046/j.1365-2796.1997.00170.x.
19. Lennon FE, Singleton PA. Hyaluronan regulation of vascular integrity. *Am. J. Cardiovasc. Dis.* 2011;1(3):200–213.

20. Yilmaz O et al. The role of endothelial glycocalyx in health and disease. *Clin. Kidney J.* 2019;12(5):611–619. Doi: 10.1093/Ckj/sfz042.
21. Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The Structure and Function of the Endothelial Glycocalyx Layer. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2007;9(1):121–167. Doi: 10.1146/annurev.bioeng.9.060906.151959.
22. Betteridge KB et al. Sialic acids regulate microvessel permeability, revealed by novel in vivo studies of endothelial glycocalyx structure and function. *J. Physiol.* 2017;595(15):5015–5035. Doi: 10.1113/JP274167.
23. Сокологорский С. В., Овечкин А. М. Принцип Старлинга, гликокаликс и эндотелиальный поверхностный слой. Как совместить? // *Анестезиология и реаниматология.* – 2018. – Т. 6. – С. 5–14. [Sokologorskiy SV, Ovechkin AM. Starling's principle, glycocalyx and endothelial surface layer: how can they be matched? *Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology (Anesteziologiya i Reanimatologiya)*. 2018;6:5–14. (In Russ.)]. Doi: 10.17116/anesthesiology20180615.
24. Di Lorenzo A et al. eNOS-derived nitric oxide regulates endothelial barrier function through VE-cadherin and Rho GTPases. *J. Cell Sci.* 2014;127(9):2120–2120. Doi: 10.1242/jcs.115972.
25. Xu S, Ha CH, Wang W, Xu X, Yin M, Jin FQ, Mastrangelo M, Koroleva M, Fujiwara K, Jin ZG. PECAM1 regulates flow-mediated Gab1 tyrosine phosphorylation and signaling. *Cell Signal.* 2016;28(3):117–124. Doi: 10.1016/j.cell-sig.2015.12.007.
26. Yen W et al. Endothelial surface glycocalyx can regulate flow-induced nitric oxide production in microvessels in vivo. *PLoS One.* 2015;10(1):1–20. Doi: 10.1371/journal.pone.0117133.
27. Chappell D et al. TNF- $\alpha$  induced shedding of the endothelial glycocalyx is prevented by hydrocortisone and antithrombin. *Basic Res. Cardiol.* 2009;104(1):78–89. Doi: 10.1007/s00395-008-0749-5.
28. Hofmann-Kiefer KF et al. Serum heparan sulfate levels are elevated in endotoxemia. *Eur. J. Med. Res.* 2009;14(12):526–531. Doi: 10.1186/2047-783x-14-12-526.
29. Ihrcke NS, Platt JL. Shedding of heparan sulfate proteoglycan by stimulated endothelial cells: Evidence for proteolysis of cell-surface molecules. *Journal of Cellular Physiology.* 1996;168(3):625–637. Doi: 10.1002/(SICI)1097-4652(199609)168:3<625::AID-JCP15>3.0.CO;2-Y.
30. Platt JL et al. The role of C5a and antibody in the release of heparan sulfate from endothelial cells. *Eur. J. Immunol.* 1991;21(11):2887–2890. Doi: 10.1002/eji.1830211135.
31. Brule S, Charnaux N, Sutton A, Ledoux D, Chaigneau T, Saffar L, Gattegno L. The shedding of syndecan-4 and syndecan-1 from HeLa cells and human primary macrophages is accelerated by SDF-1/CXCL12 and mediated by the matrix metalloproteinase-9. *Glycobiology.* 2006;16(6):488–501. Doi: 10.1093/glycob/cwj098.
32. Endo K et al. Cleavage of Syndecan-1 by Membrane Type Matrix Metalloproteinase-1 Stimulates Cell Migration. *J. Biol. Chem.* 2003;278(42):40764–40770. Doi: 10.1074/jbc.M306736200.
33. Lipowsky HH. The Endothelial Glycocalyx as a Barrier to Leukocyte Adhesion and its Mediation by Extracellular Proteases. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2012;40(4):840–848. Doi: 10.1007/s10439-011-0427-x.
34. Mulivor AW, Lipowsky HH. Inflammation- and ischemia-induced shedding of venular glycocalyx. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2004;286(5):55–5. Doi: 10.1152/ajp-heart.00832.2003.
35. Максименко А. В., Турашев А. Д. Функции и состояние эндотелиального гликокаликса в норме и патологии // *Атеросклероз и дислипидемии.* – 2011. – № 2. – С. 28–40. [Maksimenko AV, Turashev AD. Functions and state of endothelial glycocalyx in the norm and pathology conditions. *The Journal of Atherosclerosis and Dyslipidemias.* 2011;2:28–40. (In Russ.)].
36. Wilsie LC, Orlando RA. The low density lipoprotein receptor-related protein complexes with cell surface heparan sulfate proteoglycans to regulate proteoglycan-mediated lipoprotein catabolism. *J. Biol. Chem.* 2003;278(18):15758–15764. Doi: 10.1074/jbc.M208786200.
37. Faraci FM, Didion SP. Vascular protection: Superoxide dismutase isoforms in the vessel wall. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004;24(8):1367–1373. Doi: 10.1161/01.ATV.0000133604.20182.cf.
38. Vink H, Constantinescu AA, Spaan JA. Oxidized Lipoproteins Degrade the Endothelial Surface Layer. Implications for Platelet-Endothelial Cell Adhesion. *Circulation.* 2000;101:1500–1502. Doi: 10.1161/01.cir.101.13.1500.
39. Robinson CJ, Stringer SE. The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. *J. Cell Sci.* 2001;114(5):853–865.
40. Lekakis J et al. Methods for evaluating endothelial function: A position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation.* 2011;18(6):775–789. Doi: 10.1177/1741826711398179.
41. Michel CC, Curry FRE. Glycocalyx volume: A critical review of tracer dilution methods for its measurement. *Microcirculation.* 2009;16(3):213–219. Doi: 10.1080/10739680802527404.
42. Nieuwdorp M et al. Measuring endothelial glycocalyx dimensions in humans: A potential novel tool to monitor vascular vulnerability. *J. Appl. Physiol.* 2008;104(3):845–852. Doi: 10.1152/jappphysiol.00440.2007.
43. Dogné S et al. Hyaluronidase 1 deficiency preserves endothelial function and glycocalyx integrity in early streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes.* 2016;65(9):2742–2753. Doi: 10.2337/db15-1662.
44. Nieuwdorp M et al. Loss of endothelial glycocalyx during acute hyperglycemia coincides with endothelial dysfunction and coagulation activation in vivo. *Diabetes.* 2006;55(2):480–486. Doi: 10.2337/diabetes.55.02.06.db05-1103.
45. Vink H, Duling BR. Capillary endothelial surface layer selectively reduces plasma solute distribution volume. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2000;278(1):47–51. Doi: 10.1152/ajpheart.2000.278.1.H285.
46. Nieuwdorp M et al. Endothelial glycocalyx damage coincides with microalbuminuria in type 1 diabetes. *Diabetes.* 2006;55(4):1127–1132. Doi: 10.2337/diabetes.55.04.06.db05-1619.
47. Meuwese MC et al. Partial recovery of the endothelial glycocalyx upon rosuvastatin therapy in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *J. Lipid Res.* 2009;50(1):148–153. Doi: 10.1194/jlr.P800025-JLR200.
48. Hubert Louis Haeren R et al. Assessment and Imaging of the Cerebrovascular Glycocalyx. *Curr. Neurovasc. Res.* 2016;13(3):249–260. Doi: 10.2174/1567202613666160504104434.
49. Holzmann MS et al. Syndecan-1 as a biomarker for sepsis survival after major abdominal surgery. *Biomark. Med.* 2018;12(2):119–127. Doi: 10.2217/bmm-2017-0231.
50. Ushiyama A, Kataoka H, Iijima T. Glycocalyx and its involvement in clinical pathophysiology. *Journal of Intensive Care.* 2016;4(1). Doi: 10.1186/s40560-016-0182-z.
51. Iba T, Levy JH. Derangement of the endothelial glycocalyx in sepsis. *J. Thromb. Haemost.* 2019;17(2):283–294. Doi: 10.1111/jth.14371.

52. Kim YH et al. Endothelial Glycocalyx as Biomarker for Cardiovascular Diseases: Mechanistic and Clinical Implications. *Current Heart Failure Reports*. 2017;14(2):117–126. Doi: 10.1007/s11897-017-0320-5.
53. Нестерович И. И., Ночевная К. В., Рабик Ю. Д. и др. Роль сосудистых нарушений в поражении легких у больных ревматоидным артритом // Регионар. кровообращение и микроциркуляция. – 2016. – Т. 15, № 3. – С. 15–23. [Nesterovich II, Nochevnaya KV, Rabik YD, Speranskaya AA, Zolotnitskaya VP, Amosova NA, Amosov VI, Trofimov VI, Vlasov TD. Role of vascular disorders in lung injury in patients with rheumatoid arthritis. *Regional blood circulation and microcirculation*. 2016;15(3):15–23. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2016-15-3-15-23.
54. Saboia ZMRM et al. Association between syndecan-1 and renal function in adolescents with excess weight: Evidence of subclinical kidney disease and endothelial dysfunction. *Brazilian J. Med. Biol. Res*. 2018;51(3). Doi: 10.1590/1414-431X201771174.
55. Kang H et al. Cancer cell glycocalyx and its significance in cancer progression. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(9). Doi: 10.3390/ijms19092484.
56. Szpera-Gozdziewicz A, Breborowicz GH. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Front. Biosci. – Landmark. Frontiers in Bioscience*. 2014;19(5):734–746. Doi: 10.2741/4240.
57. Miranda S et al. New insights into antiphospholipid-related endothelial dysfunction by assessment of vascular glycocalyx layer: results from a preliminary cross-sectional study. *Lupus*. 2020;29(2):157–164. Doi: 10.1177/0961203319897958.
58. Мороз В. В., Рыжков И. А. Острая кровопотеря: регионарный кровоток и микроциркуляция (Обзор, часть II) // Общая реаниматология. – 2016. – Т. 12, № 5. – С. 65–94. [Moroz VV, Ryzhkov IA. Acute Blood Loss: Regional Blood Flow and Microcirculation (Review, Part II). *General Reanimatology*. 2016;12(5):65–94. (In Russ.)]. Doi: 10.15360/1813-9779-2016-5-65-94.
59. Lee DH et al. Deeper penetration of erythrocytes into the endothelial glycocalyx is associated with impaired microvascular perfusion. *PLoS One*. 2014;9(5). Doi: 10.1371/journal.pone.0096477.
60. Eriksson S, Nilsson J, Stureson C. Non-invasive imaging of microcirculation: A technology review. *Med. Devices Evid. Res*. 2014;7:445–452. Doi: 10.2147/MDER.S51426.
61. Goedhart PT et al. Sidestream Dark Field (SDF) imaging: a novel stroboscopic LED ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation. *Opt. Express*. 2007;15(23):15101. Doi: 10.1364/oe.15.015101.
62. Alphonsus CS., Rodseth RN. The endothelial glycocalyx: A review of the vascular barrier. *Anaesthesia*. 2014;69(7):777–784. Doi: 10.1111/anae.12661.
63. Vlahu CA et al. Damage of the endothelial glycocalyx in dialysis patients. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2012;23(11):1900–1908. Doi: 10.1681/ASN.2011121181.
64. Xue XJ et al. Relationship between the endothelial glycocalyx and the extent of coronary atherosclerosis. *Microcirculation*. 2018;25(8). Doi: 10.1111/micc.12504.
65. Mulders TA et al. Non-invasive assessment of microvascular dysfunction in families with premature coronary artery disease. *Int. J. Cardiol*. 2013;168(5):5026–5028. Doi: 10.1016/j.ijcard.2013.07.166.
66. Haeren RHL et al. Protocol for intraoperative assessment of the human cerebrovascular glycocalyx. *BMJ Open*. 2017;7(1). Doi: 10.1136/bmjopen-2016-013954.
67. Pérez-Bárcena J et al. Direct observation of human microcirculation during decompressive craniectomy after stroke. *Crit. Care Med*. 2011;39(5):1126–1129. Doi: 10.1097/CCM.0b013e31820ead5e.
68. Amraoui F et al. Microvascular Glycocalyx Dimension Estimated by Automated SDF Imaging is not Related to Cardiovascular Disease. *Microcirculation*. 2014;21(6):499–505. Doi: 10.1111/micc.12125.
69. Грудянов А. И., Ткачева О. Н., Хатагов А. Т. и др. Влияние хирургического лечения пародонтита на состояние эндотелия микрососудов подъязычной области // Стоматология. – 2016. – Т. 95, № 4. – С. 9–12. [Grudyanov AI, Tkacheva ON, Khatagov AT, Mustafina FN, Gorshko AYU. The impact of periodontal disease treatment on endothelium of sublingual microvessels. *Stomatologiia*. 2016;95(4):9–12. (In Russ.)]. Doi: 10.17116/stomat20169549-12.
70. Parkanyi L et al. Odontogenic foci and systemic diseases. A review. *Orv. Hetil*. 2018;159(11):415–422. Doi: 10.1556/650.2018.31008.
71. Горшков А. Ю., Гуманова Н. Г., Бойцов С. А. Темнопольная микроскопия в изучении эндотелиального гликокаликса: первый российский опыт; воспроизводимость метода // Регионар. кровообращение и микроциркуляция. – 2016. – Т. 15, № 1. – С. 33–41. [Gorshkov AY, Gumanova NG, Boytsov SA. Dark field microscopy for the endothelial glycocalyx study: first russian experience; the reproducibility of the method. *Regional blood circulation and microcirculation*. 2016;15(1):33–41. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2016-15-1-33-41.
72. Winey M et al. Conventional transmission electron microscopy. *Molecular Biology of the Cell*. 2014;25(3):319–323. Doi: 10.1091/mbc.E12-12-0863.
73. Hegermann J et al. Visualization of the glomerular endothelial glycocalyx by electron microscopy using cationic colloidal thorium dioxide. *Histochem. Cell Biol*. 2016;145(1):41–51. Doi: 10.1007/s00418-015-1378-3.
74. Fabre-Gray ACM et al. Imaging the placental glycocalyx with transmission electron microscopy. *Placenta*. 2018;74:59–61. Doi: 10.1016/j.placenta.2018.12.004.
75. Chappell D et al. Sevoflurane reduces leukocyte and platelet adhesion after ischemia-reperfusion by protecting the endothelial glycocalyx. *Anesthesiology*. 2011;115(3):483–491. Doi: 10.1097/ALN.0b013e3182289988.
76. Oltean S et al. Vascular endothelial growth factor-A165b is protective and restores endothelial glycocalyx in diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2015;26(8):1889–1904. Doi: 10.1681/ASN.2014040350.
77. Boels MGS et al. Atrasentan Reduces Albuminuria by Restoring the Glomerular Endothelial Glycocalyx Barrier in Diabetic Nephropathy. *Diabetes*. 2016;65(8):2429–2439. Doi: 10.2337/db15-1413.
78. Koufakis DI et al. Conjunctival surface changes in patients with Sjögren's syndrome: A transmission electron microscopy study. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2006;47(2):541–544. Doi: 10.1167/iovs.05-0804.
79. Dyduch A et al. Transmission electron microscopy of microvilli of intestinal epithelial cells in celiac disease in remission and transient gluten enteropathy in children after a gluten-free diet. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr*. 1993;16(3):269–272. Doi: 10.1097/00005176-199304000-00008.
80. Arkill KP et al. 3D Reconstruction of the Glycocalyx Structure in Mammalian Capillaries using Electron Tomography. *Microcirculation*. 2012;19(4):343–351. Doi: 10.1111/j.1549-8719.2012.00168.x.
81. Wang Z. Imaging nanotherapeutics in inflamed vasculature by intravital microscopy. *Theranostics*. 2016;6(13):2431–2438. Doi: 10.7150/thno.16307.
82. Masedunskas A et al. Intravital microscopy: A practical guide on imaging intracellular structures in live animals. *Bioarchitecture*. 2012;2(5):143–157. Doi: 10.4161/bioa.21758.

83. Dane MJC et al. *Glomerular endothelial surface layer acts as a barrier against albumin filtration. Am. J. Pathol.* 2013;182(5):1532–1540. Doi: 10.1016/j.ajpath.2013.01.049.

84. Lukasz A et al. *Endothelial glycocalyx breakdown is mediated by angiopoietin-2. Cardiovasc. Res.* 2017;113(6):671–680. Doi: 10.1093/cvr/cvx023.

85. Mukherjee R et al. *Nanoscale Surface Characterization of Human Erythrocytes by Atomic Force Microscopy: A Critical Review. IEEE Trans. Nanobioscience.* 2015;14(6):625–633. Doi: 10.1109/TNB.2015.2424674.

86. Pleshakova TO et al. *Atomic force microscopy for protein detection and their physicochemical characterization. International Journal of Molecular Sciences.* 2018;19(4). Doi: 10.3390/ijms19041142.

### Информация об авторах

**Власов Тимур Дмитриевич** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, e-mail: tvlasov@yandex.ru.

**Лазовская Ольга Александровна** – ассистент кафедры общей врачебной практики (семейной медицины) ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, e-mail: olazovskaya@gmail.com.

**Шиманьски Даниэль Анджеевич** – аспирант кафедры терапии госпитальной с курсом аллергологии и иммунологии им. акад. М. В. Черноруцкого с клиникой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский

университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, e-mail: next184@list.ru.

**Нестерович Ирина Ивановна** – д-р мед. наук, профессор кафедры терапии госпитальной с курсом аллергологии и иммунологии им. акад. М. В. Черноруцкого с клиникой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, e-mail: nester788@gmail.com.

**Шапорова Наталия Леонидовна** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой общей врачебной практики (семейной медицины) ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, e-mail: shapnl@mail.ru.

### Authors information

**Vlasov Timur D.** – Dr Sci. (Med.), professor, head of the Department of Pathophysiology with a course of clinical pathophysiology of Pavlov University (Russia), e-mail: tvlasov@yandex.ru.

**Lazovskaya Olga A.** – assistant Lecturer of the GP department of Pavlov University (Russia), e-mail: olazovskaya@gmail.com.

**Shimanski Daniel A.** – post-graduate student of the Department of Hospital Therapy with a course of Allergology and Immunology named after acad. M. V. Chernorutsky with a clinic of Pavlov University (Russia), e-mail: next184@list.ru.

**Nesterovich Irina Ivanovna** – Dr Sci. (Med.), professor of the Department of Hospital Therapy with a course of Allergology and Immunology named after acad. M. V. Chernorutsky with a clinic of Pavlov University (Russia), e-mail: nester788@gmail.com.

**Shaporova Nataliia L.** – Dr Sci. (Med.), professor, head of the GP department of Pavlov University (Russia), e-mail: shapnl@mail.ru.