

**Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Государственный научно-исследовательский центр  
профилактической медицины»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

*На правах рукописи*

Горшков Александр Юрьевич

**ОЦЕНКА ПОГРАНИЧНОЙ ОБЛАСТИ ПЕРФУЗИИ  
ГЛИКОКАЛИКСА И ЕЕ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ИНТСРУМЕНТАЛЬНО-  
БИОХИМИЧЕСКИМИ МАРКЕРАМИ СОСТОЯНИЯ СОСУДОВ У ЛИЦ С  
РАЗЛИЧНОЙ ВЕЛИЧИНОЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО РИСКА**

14.01.05 – «Кардиология»

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:  
доктор медицинских наук,  
профессор  
Бойцов Сергей Анатольевич**

**Москва – 2016**

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	10
1.1 Эндотелиальный гликокаликс .....	10
1.1.1 Составные компоненты и структура эндотелиального гликокаликса .....	10
1.1.2 Функции эндотелиального гликокаликса .....	12
1.2 История визуализации эндотелиального гликокаликса и современные методы его изучения <i>in vivo</i> .....	17
1.3 Современные представления о роли гликокаликса в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний .....	19
1.3.1 Атеросклероз .....	20
1.3.2 Артериальная гипертензия .....	21
1.3.3 Мозговой инсульт .....	21
1.3.4 Состояние гликокаликса при патологиях, ассоциированных с развитием сердечно-сосудистых заболеваний .....	22
1.3.5 Способы протекции гликокаликса при лечении сердечно-сосудистых и других патологий .....	24
1.4 Изучение гликокаликса методом темнопольной микроскопии в медицине ....	24
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	27
2.1 Дизайн исследования .....	27
2.2 Методы исследования .....	29
2.2.1 Инструментальные методы исследования .....	29
2.2.2 Лабораторные методы исследования .....	39
2.2.3 Методы статистического анализа .....	40
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	42
3.1 Валидация метода измерения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса .....	42
3.1.1 Реализуемость и переносимость исследования .....	42
3.1.2 Воспроизводимость измерения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в зависимости от области сублингвальной локализации .....	43
3.1.3 Воспроизводимость измерения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в зависимости от временных интервалов между измерениями .....	45
3.1.4 Анализ гендерных различий пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса .....	47
3.2 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса у лиц в возрасте 40-65 лет с суммарным сердечно-	

сосудистым риском по шкале SCORE, выраженностью отдельных параметров шкалы SCORE и других традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний .....	49
3.2.1 Характеристика участников исследования, стратифицированных по шкале SCORE .....	49
3.2.2 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса с суммарным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE .....	50
3.2.3 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии с выраженностью отдельных параметров шкалы SCORE .....	52
3.2.4 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии с выраженностью традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, неучитываемых в шкале SCORE .....	52
3.3 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса с параметрами морфофункционального состояния микроциркуляторного русла и стенок артерий у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза .....	54
3.3.1 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса с параметрами, характеризующими толщину комплекса интима-медиа и выраженность атеросклероза сонных артерий у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза .....	54
3.3.2 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса с параметрами, характеризующими жесткость магистральных артерий и аорты у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза .....	55
3.3.3 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса с параметрами микроциркуляции кожи в состоянии покоя и в функциональной пробе с артериальной окклюзией у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза .....	56
3.3.4 Изучение взаимосвязи величины пограничной область перфузии эндотелиального гликокаликса с поток-зависимой вазодилатацией плечевой артерии у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза .....	57
3.3.5 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса и уровнем биохимических маркеров липидного и углеводного обменов, маркеров эндотелиальной функции у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза.....	58

3.4	Определение порогового значения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса, ассоциированного с наличием морфофункциональных отклонений микроциркуляторного русла кожи и в стенках артерий у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза, а также с ишемической болезнью сердца у всех обследованных пациентов в возрасте 40-65 лет .....	59
3.5	Оценка эффективности порогового значения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в отношении шансов наличия высокого сердечно-сосудистого риска по шкале SCORE, структурно-функциональных изменений магистральных артерий и микроциркуляторного русла у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза .....	63
3.5.1	Оценка эффективности порогового значения параметра пограничная область перфузии эндотелиального гликокаликса в отношении риска наличия пациентов высокого сердечно-сосудистого риска по шкале SCORE .....	63
3.5.2	Оценка эффективности порогового значения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в отношении атеросклеротических изменений стенок сонных артерий у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза .....	64
3.5.3	Оценка эффективности порогового значения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в отношении повышенной жесткости магистральных артерий и аорты у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза .....	65
3.5.4	Оценка эффективности порогового значения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в отношении нарушений микроциркуляторного кровотока кожи у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза .....	66
3.5.5	Оценка эффективности порогового значения пограничной области перфузии в отношении вазодвигательной функции эндотелия плечевой артерии, биохимических маркеров сосудистого эндотелия, углеводного и липидного обменов у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза .....	68
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ .....		69
ВЫВОДЫ .....		79
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....		81
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....		82
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 .....		84
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....		85

## ВВЕДЕНИЕ

### АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Смертность от болезней системы кровообращения (БСК) остается ведущей причиной убыли населения во всем мире.

Согласно официальной статистике, в 2013 г. каждой третьей причиной смерти в США явились БСК, при этом каждый пятый, умерший от БСК, был моложе 65 лет [64].

Проблема высокой смертности трудоспособного населения от БСК остается актуальной и для Российской Федерации. Так, по данным Росстата, в 2015 г. 29,2% смертельных исходов среди трудоспособного населения были обусловлены БСК, что составило 133699 смертей в абсолютном количестве. «Лидирующие» позиции в структуре смертности от БСК в данной возрастной категории традиционно занимают ишемическая болезнь сердца (ИБС) и цереброваскулярные болезни.

Согласно результатам исследования NHANES около 75% инфарктов миокарда возникает при субклиническом атеросклеротическом поражении артерий [18], когда степень сужения кровеносных сосудов не достигает гемодинамической значимости. По данным Фрамингемского исследования (в когорте лиц со средним возрастом 60 лет) распространенность субклинического атеросклероза составила 38% у женщин и 41% у мужчин [49].

Пациенты, не имеющие клинических проявлений заболеваний, связанных с атеросклерозом, но имеющие высокий риск их развития, а, следовательно, и высокий риск фатальных исходов, требуют особого внимания. Своевременное выявление и правильное лечение пациентов высокого сердечно-сосудистого риска (ССР), являются основными задачами первичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ).

К настоящему времени разработано и предложено для клинического использования несколько моделей оценки ССР. Реальная практика

демонстрирует, что ССР при стратификации по Framingham Risk Score недооценивается у 30–45% лиц [23] и у 25–40% по Systemic Coronary Risk Evaluation (SCORE) [98].

Таким образом, остающийся высоким уровень смертности и инвалидизации от БСК и недооценка истинной величины ССР определили необходимость поиска новых маркеров, которые могли бы улучшить стратификацию ССР и разработать профилактические программы на индивидуальном уровне, улучшить диагностику ранних патологических изменений сосудистой стенки (включая дисфункцию эндотелия (ДЭ)), а также оценку эффективности терапевтических воздействий.

Эндотелиальный гликокаликс (ЭГ), располагающийся на границе взаимодействия кровотока и эндотелия, а также выполняющий ряд важнейших функций в физиологических и патологических условиях, оправдано может претендовать на роль потенциального маркера для стратификации ССР и верификации патологических изменений сосудистого русла.

В настоящее время активно внедряемым и широко используемым подходом для изучения ЭГ является использование темнопольной микроскопии с расчетом в автоматическом режиме глубины проникновения эритроцитов в толщу ЭГ микрососудов, обозначаемой как пограничная область перфузии эндотелиального гликокаликса (ПОП ЭГ). Физиологическим основанием для оценки ПОП ЭГ является вазопротективная роль ЭГ, реализующаяся в лимитировании тесных контактов эритроцитов и апикальной поверхности эндотелиальных клеток (ЭК) [104].

Несмотря на активное использование данного метода изучения ЭГ в различных клинических и экспериментальных моделях, информации в научной литературе о переносимости исследования, воспроизводимости значений, получаемых полностью автоматизированным методом, крайне мало. Также нет данных о взаимосвязи величины ПОП ЭГ с параметрами, характеризующими состояние стенок артерий различных локализаций (аорта, сонные артерии (СА), коронарные артерии) и микроциркуляторного русла, а также биохимическими параметрами. С позиции возможной клинико-диагностической перспективы

дальнейшего использования ПОП ЭГ как предиктора развития ССЗ, особенно актуально его изучение у лиц, не имеющих клинического проявления атеросклероза.

Представленные выше положения предопределили выбор цели и постановку задач настоящего исследования.

## **ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Произвести валидацию метода измерения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса и оценить взаимосвязь ее величины с инструментально-биохимическими маркерами состояния сосудов у лиц с различным сердечно-сосудистым риском.

## **ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ**

1. Произвести валидацию метода измерения ПОП ЭГ в сосудах микроциркуляторного русла сублингвальной локализации путем оценки воспроизводимости ее определения в зависимости от пола, локализации и времени измерения.

2. Оценить взаимосвязь величины ПОП ЭГ у лиц в возрасте 40-65 лет с суммарным ССР по шкале SCORE, выраженностью отдельных параметров шкалы SCORE и других традиционных факторов риска ССЗ.

3. Оценить взаимосвязь величины ПОП ЭГ у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза с толщиной комплекса интима-медиа (ТИМ), фактом наличия атеросклеротических бляшек (АСБ) в СА и степенью их стеноза.

4. Сопоставить результаты оценки величины ПОП ЭГ с морфофункциональными параметрами различных отделов сосудистого русла, оцениваемых по величине каротидно-феморальной скорости распространения пульсовой волны ( $СРПВ_{кф}$ ), сердечно-лодыжечного сосудистого индекса (СЛСИ), поток-зависимой вазодилатации плечевой артерии (ПЗВД ПА) и параметров

функционального состояния микроциркуляции кожи у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза.

**5.** Сопоставить результаты оценки величины ПОП ЭГ с уровнем биохимических маркеров липидного и углеводного обменов, маркеров эндотелиальной функции у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза.

**6.** Определить пороговое значение ПОП ЭГ, ассоциированное с морфофункциональными отклонениями микроциркуляторного русла кожи и в стенках артерий у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза, а также с ИБС у всех обследованных пациентов в возрасте 40-65 лет.

### **НАУЧНАЯ НОВИЗНА**

В рамках изучения свойств нового параметра– ПОП ЭГ, впервые доказана воспроизводимость его измерений вне зависимости от области сублингвальной локализации и временных интервалов между измерениями; показано отсутствие взаимосвязи величины ПОП ЭГ с полом пациента.

Впервые показана взаимосвязь величины ПОП ЭГ с суммарным ССР, рассчитанным по шкале SCORE, наличием и длительностью АГ, уровнем apoA1, ТИМ<sub>ср</sub> и ТИМ<sub>макс</sub>, наличием АСБ в СА и степенью их стеноза, параметром эластических свойств магистральных артерий – СЛСИ, а также с параметрами, характеризующими реактивность и дилататорный резерв микроциркуляторного русла кожи.

Впервые установлена пороговая величина ПОП ЭГ (2 мкм), превышение которой ассоциировано с двукратным увеличением шансов наличия высокого ССР по шкале SCORE, стенозирующего атеросклероза СА и ИБС, повышенной жесткости магистральных артерий (выше возрастной нормы по параметру СЛСИ), а также с увеличением ТИМ<sub>ср</sub> и ТИМ<sub>макс</sub>, ухудшением функционального состояния микроциркуляторного русла кожи и повышением концентрации apoA1.



## **ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ**

Результаты исследования позволяют рассматривать ПОП ЭГ в качестве нового потенциального инструмента для уточнения ССР.

Установленная в ходе исследования величина ПОП ЭГ  $>2$  мкм может использоваться в качестве биологического маркера высокого ССР по шкале SCORE, стенозирующего атеросклероза СА и ИБС, повышенной жесткости стенок магистральных артерий, нарушения морфофункционального состояния микроциркуляторного русла кожи, увеличения ТИМ и концентрации апоА1.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Эндотелиальный гликокаликс

#### 1.1.1 Составные компоненты и структура эндотелиального гликокаликса

Взаимодействие между кровью и эндотелием уже более века привлекает к себе внимание исследователей и получило повышенный интерес с прогрессирующим достижением в области биохимии и микроскопии.

В настоящее время установлено, что ЭГ является высокоорганизованной пространственной полианионной сетью с суммарным отрицательным зарядом, основными компонентами которого являются протеогликаны, мембранные гликопротеины, глюкозаминогликаны и ассоциированные с ними белки плазмы [106].

Глюкозаминогликаны – это линейные полидисперсные полисахариды, которые характеризуются повторяющимися блоками сахараидов [47]. Определенные комбинации дисахаридов образуют различные типы глюкозаминогликанов, таких как гепарансульфат, хондроитинсульфат, гиалуроновая кислота/гиалуронат [73]. Известно, что глюкозаминогликаны участвуют во множестве как физиологических (передача клеточного сигнала, эмбри- и ангиогенез, регуляция коагуляции крови), так и патологических процессов (развитие и метастазирование опухоли) [40].

Линейные полимерные цепи глюкозаминогликанов, ковалентно связываясь с белковыми каркасными молекулами ЭК, образуют протеогликаны – синдеканы и глипиканы [47]. Основными задачами протеогликанов являются передача сигнала из внеклеточного окружения в клетку и участие в процессах везикулярного транспорта. Другим важным компонентом ЭГ являются гликопротеины, представляющие собой двухкомпонентные мембранные белки, в которых белковая часть ковалентно соединена с одной или несколькими группами гетероолигосахаридов. К основным гликопротеинам, являющимся важнейшими

рецепторами клеточной поверхности ЭК, относятся селектины, интегрины, суперсемейство иммуноглобулинов [106].

В пионерском исследовании ультраструктурной организации ЭГ Squire JM и соавторы в 2001 г., используя преобразование Фурье-изображений, полученных при электронной микроскопии, впервые показали, что компоненты ЭГ образуют квазипериодическую трехмерную сеть, связанную с нижележащим актином цитоскелета ЭК [87]. Позднее, моделирование ультраструктуры ЭГ позволило ученым прогнозировать влияние кровотока на ЭГ и подлежащий кортикальный скелет, механизм осмотического потока через ЭГ и его коэффициент отражения [107].

Сложность структуры ЭГ (рисунок 1) дополняет ее динамичность: непрерывные процессы разрушения и образования его компонентов.

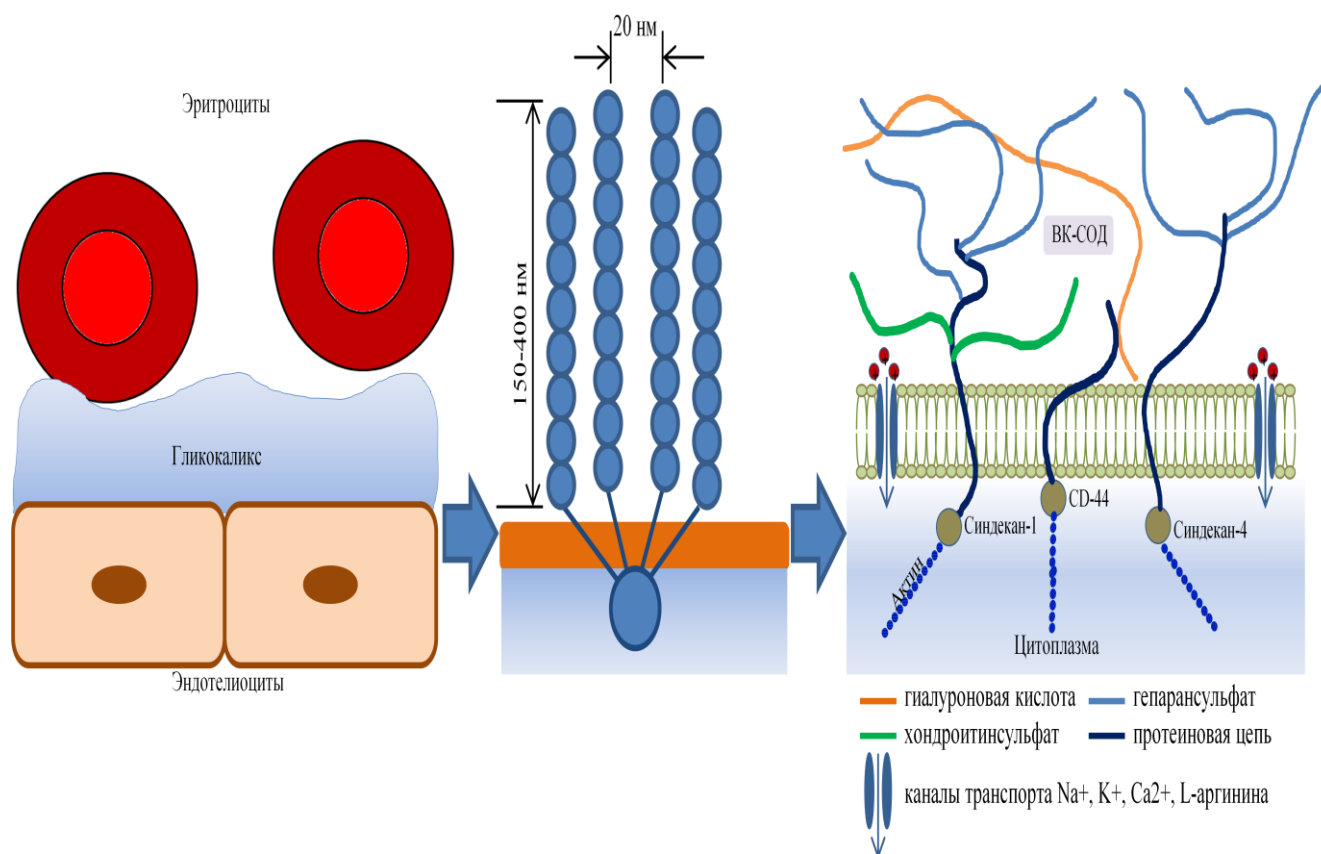


Рисунок 1 - Схематическое представление эндотелиального гликокаликса и его основных компонентов. Примечание: ВК-СОД — внеклеточная супероксиддисмутаза.

Воздействия различного генеза, направленные на специфическую модификацию состава и структуры ЭГ, способны целенаправленно изменять и функциональную активность ЭГ.

### **1.1.2 Функции эндотелиального гликокаликса**

Сложный биохимический состав, структура, а также «стратегическая» локализация, обуславливают широкий спектр функций ЭГ как в норме, так и при патологии.

#### **Регуляция сосудистой проницаемости**

Расположенный на границе непосредственного взаимодействия сосудистого эндотелия и циркулирующей крови, ЭГ является важным фактором, определяющим сосудистую проницаемость [45].

В норме ЭГ проницаем для низкомолекулярных соединений (вода, ионы), в то время как для макромолекул он демонстрирует селективную проницаемость, которая зависит от нескольких факторов: молекулярный размер соединения, его заряд и строение [100]. В опытах с использованием конфокальной микроскопии на артериях брыжейки крыс было показано, что флуоресцентно меченые декстраны с молекулярной массой 4,4 килоДальтон (кДа) быстрее проникают через ЭГ по направлению к стенке артерии, чем декстраны с массой 50,7 кДа. Тогда как для декстранов с массой 148 кДа ЭГ оставался не проницаем [100]. Однако на проницаемость ЭГ влияют не только характеристики транспортируемого вещества, но и функциональное состояние самого ЭГ. Экспериментально было показано, что толщина и уровень заряда ЭГ определяют проницаемость альбумина при изменении напряжения сдвига в культуре клеток [91] и флуоресцентно меченых декстранов в артериях брыжейки крыс [99]. Установлено, что разрушение компонентов ЭГ гепариназой [97], а также повреждение ЭГ при ишемии [22], гипоксии [105] или воздействии окисленных липопротеинов низкой плотности [28], способствуют потере его барьерной функции, увеличению проницаемости и вследствие этого развитию тканевого отека.

Открытие и изучение ЭГ определило необходимость пересмотра принципов фильтрации жидкости из капиллярного кровотока в интерстиций и обратно, постулированных Старлингом еще в 1896 г. К настоящему времени гипотезы, согласно которым ЭГ (ранее не предусмотренный в концепции Старлинга) непосредственно определяет фильтрационные процессы в сосудистом русле через создание градиентов гидростатического и онкотического давления [108], подтверждены в экспериментах на лабораторных животных [78], что указывает на важность и неотъемлемость ЭГ в регуляции сосудистой проницаемости.

### **Регуляция взаимодействия эндотелия и клеток крови**

Помимо регуляции сосудистой проницаемости для циркулирующих в кровотоке молекул, ЭГ определяет взаимодействие ЭК и клеток крови. ЭГ, имея ворсинчатое строение, участвует в регуляции функционального диаметра капилляров, отталкивая эритроциты от люминальной поверхности ЭК и способствуя их дальнейшему продвижению по сосудистому руслу [102]. Подобным образом в физиологических условиях ЭГ ведет себя и в отношении тромбоцитов, препятствуя их адгезии к сосудистой стенке. Частичное разрушение ЭГ, путем введения окисленных липопротеинов низкой плотности [101] или нейраминидазы [77], способствует увеличению количества взаимодействий между сосудистой стенкой и тромбоцитами. Данные наблюдения не исключают активного участия ЭГ в инициации процесса первичной адгезии тромбоцитов к сосудистой стенке в условиях патологии, например, атеросклероза.

Роль ЭГ во взаимодействии лейкоцитов и стенки сосуда двойственна. С одной стороны в составе ЭГ представлены молекулы клеточной адгезии, такие как Р-селектин, ICAM-2 и PECAM-1, а с другой, ЭГ снижает адгезию лейкоцитов, «скрывая» в своей толще молекулы адгезии, длина которых в несколько раз меньше толщины ЭГ [79].

Установлено, что расщепление гепариназой боковых цепей гепарансульфата дозозависимо увеличивает адгезию лейкоцитов к ЭК, в то время как внутривенное введение гепарансульфата и гепарина снижает роллинг и иммобилизацию лейкоцитов у стенки сосуда, путем восстановления толщины и заряда ЭГ [29].

Окисленные липопротеины низкой плотности и фактор некроза опухолей  $\alpha$  также индуцируют роллинг и адгезию лейкоцитов [29, 46].

Таким образом, в нормальных условиях компоненты интактного ЭГ представляют собой щит для молекул адгезии, препятствуя патологическим межклеточным взаимодействиям. Тогда как деградация ЭГ или реорганизация его структуры в более открытую сеть под воздействием различных ферментов, цитокинов, ишемии и реперфузии, способствуют развитию взаимодействий ЭГ и клеток крови.

### **Восприятие и преобразование механических воздействий кровотока**

Эндотелий непрерывно подвергается воздействию различного типа механических сил, индуцированных потоком крови, например напряжением сдвига. Напряжение сдвига – сила, стремящаяся вызвать деформацию вещества путем сдвига вдоль плоскости, параллельной приложенному усилию. Значительный вклад в изучение действия напряжения сдвига внесли работы отечественных физиологов, в которых было установлено, что напряжение сдвига регулирует морфологию и проницаемость эндотелиоцитов, определяет сосудистый тонус, а также органный и коллатеральный кровотоки [10]. ЭГ защищает ЭК от напряжения сдвига, участвуя в генерации адаптивного клеточного ответа на воздействие потока крови, что необходимо для поддержания гомеостаза сердечно-сосудистой системы. Увеличение напряжения сдвига опосредованно через ЭГ увеличивает производство ЭК оксида азота (NO), что приводит к расширению сосудов и снижению напряжения сдвига [48]. В то время как, патологические ответные реакции эндотелия на действие напряжения сдвига способствуют развитию сосудистых заболеваний, включая артериальную гипертензию (АГ), тромбоз, атеросклероз [112]. Подтверждением активного участия ЭГ в формировании эндотелиального ответа на напряжение сдвига является полное ингибирование продукции NO в условиях воздействия напряжения сдвига при ферментативном удалении гепарансульфата гепариназой [39]. Помимо участия в инициации внутриклеточного сигнала, ЭГ также участвует в ремоделировании цитоскелета и межклеточных контактов ЭК в ответ на напряжение сдвига [106].

## **Регуляция микроокружения эндотелиальных клеток, вазопротективные свойства гликокаликса**

Ячеистая структура ЭГ, способствующая депонированию в своей структуре множества активных веществ, определяет роль ЭГ в регуляции микроокружения ЭК. Данная функция ЭГ реализуется несколькими способами. Первый - связывание рецепторов с соответствующими лигандами ЭГ способствует локализованному росту концентрации этих веществ, что, в свою очередь, определяет ответный сигнал или ферментативную модификацию. Примером этого является активное участие протеогликанов (гепарансульфата) ЭГ в катаболизме липопротеинов очень низкой плотности, определяя их рецептор-опосредованный транспорт в клетку [109]. Второй – связывание молекул плазмы с ЭГ способствует созданию локального градиента концентрации, который часто наблюдается при транскрипции генов клетки в процессе ее роста и дифференцировки [76]. Третий - аккумулируя в своей толще различные группы ферментов, а также их агонисты и ингибиторы, ЭГ осуществляет дополнительные защитные функции, которые способствуют поддержанию сосудистого гомеостаза. ЭГ содержит целый ряд антикоагулянтных молекул: тромбомодулин, антитромбин III, ингибитор пути тканевого фактора, кофактор II гепарина, поддерживающие тромборезистентность интактного эндотелия [36]. Ослабляя связывание цитокинов с рецепторами клеточной поверхности, ЭГ модулирует воспалительные реакции. Напротив, разрушение гепарансульфата ЭГ повышает чувствительность ЭК к активации цитокинами, с дальнейшим закономерным развитием ДЭ [46].

Вазопротекторная роль ЭГ также реализуется в его способности депонировать антиоксиданты, например, внеклеточные супероксиддисмутазы (ВК-СОД). Эти ферменты помимо снижения окислительного стресса – катализируют дисмутацию супероксида в кислород и пероксид водорода, участвуют в поддержании биодоступности NO, тем самым предотвращая ДЭ [50].

В таблице 1 представлен ряд молекул, функциональная активность которых зависит от их взаимодействия с ЭГ.

Таблица 1 - Вещества, физиологическая активность которых опосредована эндотелиальным гликокаликсом

Соединение	Основная функция в сосудистом русле
Антитромбин III	Мощный инактиватор основных факторов свертывания крови, таких как тромбин, факторы IXa, Xa; активность усиливается гепарином или гепаран сульфатом
Кофактор гепарина II	Инактиватор (ингибитор) тромбина; активируется дерматансульфатом в ЭГ
ИПТФ	Антикоагулянт-белок, блокирующий активированные факторы VII и X
ЛПЛ	Фермент, участвующий в расщеплении ЛНП
ЛНП	Транспортируют холестерин и триглицериды в системе кровообращения
ФРЭС	Мощный стимулятор ангиогенеза, вырабатывающийся при гипоксии
ТФР $\beta 1/2$	Фактор роста, участвует во многих путях регуляции, включая дифференцировку гладкомышечных клеток, контроль реактивности и тонуса сосудов.
ФРФ (p)	Фактор роста (рецептор), участвующий в пролиферации эндотелиальных клеток и ангиогенезе
ВК-СОД	Внеклеточный блокатор активных форм кислорода
ИЛ 2, 3, 4, 5, 7, 8, 12, RANTES	Хемотаксис лейкоцитов в субэндотелиальное пространство; участвуют в краевом стоянии и выходе лейкоцитов из сосудов

Примечание: ИПТФ – ингибитор пути тканевого фактора, ЛПЛ – липопротеинлипаза, ФРЭС – фактор роста эндотелия сосудов, ТФР  $\beta 1/2$  – трансформирующий фактор роста  $\beta 1$  или  $\beta 2$ , ФРЭС (p) – фактор роста фибробластов (рецептор), ВК-СОД – внеклеточная супероксиддисмутаза, ИЛ – интерлейкин, RANTES – Regulated on Activation, Normal T Expressed and Secreted, другое название хемокин CCL5.

(Адаптировано из Reitsma Sietze. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. Eur J Physiol. 2007; 454(3): 345-59).

Таким образом, располагаясь непосредственно на границе взаимодействия кровотока и сосудистой стенки, выполняя широкий спектр адаптивных функций, ЭГ по праву можно назвать дирижером сосудистого гомеостаза.

Гипергликемия, гиперлипидемия, воспалительные агенты, активные формы кислорода, низкое напряжение сдвига – факторы, вызывающие повреждение ЭГ.



При разрушении и модификации гликокаликс теряет свои защитные свойства, что играет решающую роль в развитии ряда сосудистых патологий. В частности, обсуждается гипотеза первостепенного значения дисфункции ЭГ в развитии атеротромбоза [70], клинические проявления которого остаются основной причиной смертности и инвалидизации населения.

## **1.2 История визуализации эндотелиального гликокаликса и современные методы его изучения *in vivo***

В 1940 г. Danielli впервые предложил концепцию, согласно которой эндотелий сосудов покрыт тонким эндокапиллярным слоем [34]. С этого момента целью многих исследователей стал поиск оптимального метода изучения неуловимой структуры. Первая визуализация ЭГ была выполнена в 1966 г., когда Luft ЛН, используя электронную микроскопию и рутений красный в качестве красителя при подготовке препарата слизистой кишечника крысы, обнаружил тонкий слой (~ 20 нм толщиной) на внутренней поверхности капиллярной стенки [58]. Долгое время методики приготовления (окрашивания) препаратов скрывали от исследователей истинные значения ЭГ, т.к. способствовали его дегидратации и деструкции. В дальнейшем использование метода трансмиссионной электронной микроскопии и новых способов окрашивания позволило выявить толщину ЭГ от 50-100 нм в фенестрированных капиллярах кишечника крысы [82] и до 200-500 нм в миокардиальных капиллярах крысы [97]. Существенным ограничением использования трансмиссионной электронной микроскопии является невозможность визуализировать ЭГ в условиях *in vivo* [79].

В экспериментах на лабораторных животных с использованием современных методов микроскопии (двухфотонная и конфокальная лазерная сканирующая микроскопия) удалось осуществить прижизненную визуализацию ЭГ с расчетом его толщины. Так, методом двухфотонной лазерной микроскопии было выявлено, что толщина ЭГ крупных эластических артерий (сонных артерий мышей) в физиологических условиях может достигать толщины 4,5 мкм [62].

Осознание перспективности динамического контроля ЭГ в клинической практике, подтолкнуло научное сообщество к разработке методов прижизненного изучения ЭГ у людей.

В 2011 г. рабочей группой Европейского общества кардиологов по периферическому кровообращению определено два технологически различных направления для оценки состояния ЭГ, с целью диагностики ДЭ [55]. Первое направление связано с использованием инвазивного метода оценки ЭГ в объеме всего сосудистого русла, путем введения декстрана 40 и флуоресцентно меченых эритроцитов [69]. Различия между двумя внутрисосудистыми зонами окрашивания определяют массу ЭГ в объеме всего человеческого организма. Инвазивный характер и трудоемкая подготовка для определения системного объема гликокаликса лимитируют использование данного метода на больших когортах. Более того, не ясно, позволяет ли этот метод оценить равномерность распределения ЭГ по всей сосудистой системе. Темне менее эта техника может быть пригодна для получения первых данных о системной распространенности ЭГ в объеме человеческого организма [55].

Второе направление связано с использованием неинвазивных, полу- и автоматических методов изучения ЭГ микроциркуляторного русла (основанных на принципах ортогональной поляризационной спектроскопии и темнопольной микроскопии) с высокой пропускной способностью пациентов [55]. Оба метода количественно характеризуют толщину ЭГ.

В 2008 г. группой исследователей выполнена прижизненная оценка толщины ЭГ у здоровых добровольцев методом ортогональной поляризационной спектроскопии с корреляционным анализом взаимосвязи толщины ЭГ и факторов ССР. Результаты этого исследования продемонстрировали количественную воспроизводимость толщины ЭГ при использовании ортогональной спектроскопии и выявили: а) обратную взаимосвязь толщины ЭГ с уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛНП) и индексом массы тела (ИМТ); б) прямую взаимосвязь толщины ЭГ с уровнем холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛВП), глюкозы плазмы крови [68].

При сопоставлении ортогональной спектроскопии и темнопольной микроскопии, выявлено, что изображения, получаемые методом темнопольной микроскопии, характеризуются лучшей контрастностью и детализацией [41, 37]. Поэтому, устройства, основанные на работе темнопольной микроскопии, получили большую популярность среди исследователей в изучении микроциркуляции и ЭГ в частности.

В настоящее время активно внедряемым и широко используемым подходом для изучения ЭГ является использование устройств, разработанных на принципе темнопольной микроскопии, с расчетом в автоматическом режиме глубины проникновения эритроцитов в толщу ЭГ микрососудов – пограничной области перфузии (ПОП). Физиологическим основанием для оценки ПОП является вазопротективная роль ЭГ, реализующаяся в лимитировании тесных контактов эритроцитов и апикальной поверхности эндотелиальных клеток. Установлено, что поврежденный ЭГ приводит более к глубокому проникновению эритроцитов к эндотелиальной поверхности, что отражается в росте значения ПОП [104]. Использование темнопольной микроскопии с расчетом ПОП применялось в исследованиях у пациентов с различными нозологиями: сахарным диабетом [43], терминальной почечной недостаточностью [104], сепсисом [35], ССЗ [19, 59, 65].

### **1.3 Современные представления о роли гликокаликса в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний**

ЭГ играет определяющую роль в поддержании сосудистого гомеостаза. Результаты исследований, посвященных изучению ЭГ, демонстрируют, что повреждение и модификация ЭГ являются одними из первых патогенетических механизмов развития различных патологий, и в первую очередь ССЗ. Между тем, ряд состояний (таких как диабет, почечная недостаточность, воспаление), оказывают повреждающее действие на ЭГ, потенцируя развитие патологических изменений в макро- и микрососудах.

### 1.3.1 Атеросклероз

В начале 1980-х г. Lewis с соавторами продемонстрировал, что сегменты коронарных артерий, подверженные более частому атеросклеротическому поражению, характеризовались наименьшей толщиной ЭГ [56]. Спустя более 20 лет похожие результаты были получены при изучении толщины ЭГ в СА [95]. Несмотря на то, что авторам в данных работах не удалось установить точный механизм участия ЭГ в развитии атеросклероза (обсуждалась определяющая роль напряжения сдвига в регуляции толщины ЭГ и его протективных свойств), было продемонстрировано, что ЭГ является важным регулятором атеросклеротического поражения артерий. Позже в опытах на мышах van den Bergc соавторами выявил, что при болюсном введении липопротеинов низкой плотности наибольшее их трансэндотелиальное накопление происходит в области истонченного ЭГ [96]. Эти результаты также указывают на то, что нарушение барьерных свойств ЭГ может способствовать развитию атеросклероза. К подобным выводам пришел Nagy N с соавторами, когда обнаружил, что ингибирование синтеза гиалуроновой кислоты (структурного компонента ЭГ), способствует адгезии лейкоцитов с последующим воспалением и прогрессированием атеросклероза [66].

В других работах было показано, что не только быстро вызванная (болюсным введением липопротеинов низкой плотности, ингибированием синтеза гиалуроновой кислоты) модификация ЭГ способствует атеросклеротической трансформации артерий. Так, высокохолестериновая диета длительностью 10 недель вызывала значительное уменьшение толщины ЭГ в области АСБ в СА у мышей с нокаутированным геном апоЕ [26]. Схожие данные были получены при изучении ЭГ у пациентов с семейной гиперхолестеринемией, у которых системный объем ЭГ (рассчитанный с использованием декстрана 40 и меченых эритроцитов) достоверно был меньше, чем у лиц с нормальным уровнем холестерина, а краткосрочная терапия статинами способствовала его частичному восстановлению [63].

### **1.3.2 Артериальная гипертензия**

В своих работах Ueno и соавторы при изучении ранних изменений гематоэнцефалического барьера гипоталамуса и гиппокампа при хронической гипертензии, определяли сосудистую проницаемость и свойства ЭГ у спонтанно гипертензивных и нормотензивных крыс [92,93]. Они обнаружили, что нарушение гематоэнцефалического барьера и значимое повреждение ЭГ в этих регионах возникает только у спонтанно гипертензивных крыс (при достижении трех месячного возраста).

Kumase F и соавторы в опытах на животных выявили повреждение ЭГ при гипертензии и диабете [51]. Методом трансмиссионной электронной микроскопии они показали, что у спонтанно гипертензивных крыс толщина ЭГ в капиллярах сетчатки и хориоидеи была значительно меньше, чем у крыс в контрольной группе. Авторам удалось визуализировать повышенную адгезию лейкоцитов и тромбоцитов к люминальной поверхности сосудов в тех местах, где деградация ЭГ была выражена в большей степени. Ряд исследований также подтверждает важное значение ЭГ в предупреждении развития артериальной гипертензии, в частности при чрезмерном употреблении соли. Так, было показано, что отрицательно заряженный ЭГ способен транзиторно связывать избыток ионов натрия, тем самым защищая ЭК от солевой перегрузки и развития артериальной гипертензии [52]. В другом эксперименте с имитацией «соль-индуцированной гипертензии» продемонстрировано, что толщина ЭГ обратно коррелирует с концентрацией ионов натрия [71].

### **1.3.3 Мозговой инсульт**

Одними из первых работ, посвященных роли ЭГ в развитии нарушений мозгового кровообращения, являются работы Ueno и соавторов [92, 93], которые изучали данный вопрос в опытах на животных. Было выявлено, что спонтанно гипертензивные крысы, склонные к раннему развитию инсульта, имеют выраженное повреждение ЭГ в области гиппокампа и гипоталамуса.

В другой работе было выявлено, что у пациентов с лакунарными инсультами в микроциркуляторном русле сублингвальной локализации отмечается нарушение сосудистой проницаемости и толщины ЭГ [59].

Повышенный уровень системного гематокрита увеличивает риск развития инсульта и инфаркта миокарда. Richter и соавторы выявили значительное уменьшение толщины ЭГ у мышей трансгенной линии с уровнем гематокрита от 0,85 (вследствие гиперэкспрессии эритропоэтина) по сравнению с контрольной группой. Авторы работы пришли к выводу, что патологические эффекты повышенного уровня гематокрита у мышей трансгенной линии и, возможно, у пациентов с полицитемией, могут относиться к закономерным биологическим следствиям истончения ЭГ и нарушения взаимодействия эндотелия и кровотока, обусловленные повреждением ЭГ [81].

Получены данные и о влиянии нарушений мозгового кровообращения, в частности субарахноидального кровотечения, на гликокаликс. Так, в лабораторных экспериментах на мышах была выявлена полная деградация ЭГ в течение 1 часа после индуцированного субарахноидального кровотечения [84].

По мнению ряда авторов, дальнейшее изучение ЭГ будет существенно способствовать пониманию патофизиологии нарушений мозгового кровообращения и нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, сосудистая деменция, рассеянный склероз и эпилепсия [44].

#### **1.3.4 Состояние гликокаликса при патологиях, ассоциированных с развитием сердечно-сосудистых заболеваний**

Сердечно-сосудистая патология у пациентов с нарушениями углеводного обмена является основной причиной смертности, определяя 55% смертельных исходов от инфаркта миокарда и 29% от инсульта у пациентов с сахарным диабетом [111].

К настоящему времени установлено, что гипергликемия вызывает значительные нарушения функции и структуры ЭГ [57, 25], способствуя развитию патологических изменений сосудистого русла.

Известно, что у пациентов с сахарным диабетом атеросклеротические изменения артериальных сосудов распределяются более равномерно, не следуя типичным ассоциациям с бифуркациями и извитыми участками артерий, а также с регионами низкого напряжения сдвига [33]. Кроме того, больные сахарным диабетом характеризуются нарушением эндотелий-зависимой вазодилатации [80]. Эти наблюдения предполагают фундаментальные различия в механотрансдукции эндотелиальных клеток у лиц с сахарным диабетом, что может быть частично объяснено повреждением ЭГ.

Другой патологией, увеличивающей риск смерти от ССЗ (вследствие ускоренного развития атеросклероза, повышенной жесткости артерий, дисфункции эндотелия), является хроническая болезнь почек. Vlahu и соавторы в своем исследовании продемонстрировали, что у пациентов, находящихся на диализе, отмечается нарушение барьерных свойств ЭГ с ростом величины параметра ПОП ЭГ, повышение в сыворотке крови уровня структурных компонентов ЭГ (гиалуроновая кислота, синдекан-1) и активности гиалуронидазы [104]. Radberg и соавторы также подтвердили, что хроническая болезнь почек связана с повреждением ЭГ, выражающимся в уменьшении толщины ЭГ и в повышении в крови уровня продуктов распада ЭГ [74]. В другом исследовании было выявлено, что повреждение ЭГ почечных клубочков вызывает развитие альбуминурии и системное увеличение проницаемости микрососудов [83]. Интересные данные были получены Neves и др., изучавшими гликокаликс по плазменному уровню синдекана-1 у пациентов с острой декомпенсацией сердечной деятельности. Было выявлено, что у пациентов с повышенной концентрацией синдекана-1 отмечалось достоверно более частое развитие острой почечной недостаточности и госпитальной летальности. В проспективной части данного исследования отмечалось сохранение сильной связи между концентрацией синдекана-1 и уровнем смертности в послегоспитальном периоде [67].

### **1.3.5 Способы протекции гликокаликса при лечении сердечно-сосудистых заболеваний и других патологий**

Перспективным направлением, с клинической точки зрения, является использование терапевтических воздействий, направленных на восстановление и сохранение ЭГ. К настоящему времени выполнено несколько клинических исследований, в которых изучалась тактика защиты и восстановления ЭГ.

Так, терапия сулодексидом в дозировке 200 мг/сут (80% гепарансульфата и 20% дерматансульфата) в течение 2 месяцев у пациентов с сахарным диабетом 2 типа способствовала восстановлению толщины ЭГ и нормализации сосудистой проницаемости [24]. Masola V и соавторы в своей работе подчеркивают, что использование сулодексида способствует восстановлению нормальной функции эндотелия, определяя данный эффект именно воздействием на ЭГ [60].

В исследовании Meuwese MC и соавторов краткосрочная гиполипидемическая терапия розувастатином у пациентов с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией способствовала частичному восстановлению системного объема ЭГ [63].

В настоящее время получены результаты работ отечественных ученых, свидетельствующие, что превентивное воздействие гиалуронидазы на ЭГ перед развитием ишемии, способствует достоверно ускоренному восстановлению уровня исходной микроциркуляции [9].

### **1.4 Изучение гликокаликса методом темнопольной микроскопии в медицине**

К настоящему времени существует небольшое количество работ клинического характера, в которых изучали ЭГ с использованием темнопольной микроскопии и расчетом величины ПОП ЭГ. Все исследования имели дизайн «случай-контроль», а количество обследуемых не превышало 150 человек. Тем не менее, результаты данных работ имеют ряд интересных заключений с научной и клинической точек зрения и свидетельствуют о перспективах дальнейшего изучения ЭГ.



Так было выявлено, что пациенты с ранним развитием ИБС и их родственники первой линии родства имеют достоверно большие значения ПОП ЭГ, по сравнению со здоровыми добровольцами. При этом значение индекса коронарного кальция прямо коррелирует с величиной ПОП ЭГ [65].

Ранее было указано, что пациенты с лакунарным инсультом (с повреждением белого вещества) характеризуются нарушением барьерных свойств ЭГ – ростом величины ПОП ЭГ [59].

Часть работ с оценкой ЭГ по параметру ПОП ЭГ посвящена патологии почек. По результатам работ было выявлено: значение ПОП ЭГ больше у пациентов с терминальной почечной недостаточностью [32] и находящихся на диализе, по сравнению со здоровыми [104]. Величина ПОП ЭГ связана с уровнем циркулирующего синдекана-1, тромбомодулина, ангиопоэтина-1, скоростью клубочковой фильтрации [32] и не ассоциирована с уровнем АД, уровнем высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ) и параметрами липидного профиля, длительностью диализа [104].

Изучение ПОП ЭГ у пациентов с сахарным диабетом выявило его закономерное увеличение у лиц с данной патологией по сравнению с контрольной группой, а также прямую взаимосвязь с уровнем гликированного гемоглобина [43].

Также метод темнопольной микроскопии с расчетом величины ПОП для изучения ЭГ был успешно использован в работах с лабораторными животными. В одной из работ, было выявлено, что высокожировая диета у мышей в течение 6 недель способствует потере барьерных свойств ЭГ (повышению величины ПОП), которая предшествовала развитию нарушения толерантности к глюкозе. Исследователями был сделан важный вывод, что повреждение ЭГ является ранним событием при диет-индуцированном ожирении, а также выдвинуто предположение об иницирующем действии поврежденного ЭГ в развитии инсулинорезистентности при ожирении [38].

### **Заключение**

ЭГ играет определяющую роль в поддержании сосудистого гомеостаза. Результаты исследований, посвященных изучению ЭГ, демонстрируют, что повреждение ЭГ является одним из первых патогенетических механизмов развития различных патологий и, в первую очередь, ССЗ.

На основе темнопольной микроскопии разработан неинвазивный метод изучения ЭГ, определяющий глубину проникновения эритроцитов в его толщу – ПОП ЭГ. Исследовательских работ, посвященных одномоментному изучению взаимосвязи ЭГ (по параметру ПОП ЭГ) с морфофункциональным состоянием сосудов микро- и макроциркуляции, в настоящее время нет.

Таким образом, с позиции возможной клинико-диагностической перспективы использования ПОП ЭГ, необходимо продолжить ее изучение как потенциального маркера для стратификации ССР и верификации патологических изменений сосудистого русла на ранних стадиях.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Дизайн исследования

Работа выполнена на базе отдела клинической кардиологии и молекулярной генетики Федерального государственного бюджетного учреждения "Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины" Минздрава России.

Все участники дали письменное информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных.

Исследование выполнено в два этапа.

**На первом этапе** выполнена валидация метода измерения параметра ПОП ЭГ. Для этого в исследование было включено 40 здоровых добровольцев в возрасте от 28 до 65 лет (мужчин  $n=22$ , женщин  $n=18$ ), обратившихся в ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России для профилактического консультирования.

**На втором этапе** изучено состояние ЭГ сублингвальной локализации и его взаимосвязь с состоянием артериальных сосудов, сосудов микроциркуляции и с биохимическими параметрами у лиц различного ССР. Объектом исследования на данном этапе стали лица обоего пола в возрасте от 40 до 65 лет с различной величиной ССР по шкале SCORE (низкого, умеренного, высокого, очень высокого), обратившиеся в ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России для профилактического консультирования, а также пациенты с ИБС, находившиеся на стационарном лечении в ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России. 34 здоровых добровольца (из первого этапа исследования), после стратификации ССР по шкале SCORE, приняли участие во втором этапе исследования. Группа пациентов с ИБС формировалась по результатам КАГ, выполненной в ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России.

Всего по шкале SCORE были стратифицированы 177 пациентов, группу пациентов с ИБС составил 31 пациент.

**Критериями исключения** для всех участников являлись: клинические проявления атеросклероза (ИБС (для пациентов, стратифицированных по SCORE), цереброваскулярная болезнь, перемежающаяся хромота и др.); любое острое

воспалительное заболевание, включая воспалительные процессы ротовой полости; болезни крови и кроветворных органов; фракция выброса левого желудочка <40%; сахарный диабет любого генеза; хроническая почечная и печеночная недостаточность; онкологические, психические, аутоиммунные заболевания; прием сахароснижающей и/или гиполипидемической (кроме пациентов с ИБС) терапии; беременность и период лактации. В исследование также не включались больные ИБС, перенесшие менее 6 месяцев назад острое осложнение болезней системы кровообращения.

Пациенты, соответствующие критериям включения и исключения, включались в исследование.

Всем исследуемым проводили оценку факторов ССР [6]:

**Модифицируемые факторы ССР:**

- курение (с учетом количества выкуриваемых сигарет в сутки и стажа);
- ожирение (согласно классификации ВОЗ 1998г, при ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>);
- абдоминальное ожирение (окружность талии (ОТ)  $\geq 94$  см для мужчин и  $\geq 80$  см для женщин) [7];
- артериальная гипертония [4];
- дислипидемия (общий холестерин (ОХС)  $> 5,0$  ммоль/л и/или ХС ЛНП  $> 3,0$  ммоль/л и/или ХС ЛВП  $< 1,0$  ммоль/л для мужчин и  $< 1,2$  ммоль/л для женщин и/или триглицериды (ТГ)  $> 1,7$  ммоль/л) [7];
- гипергликемия натощак (глюкоза в плазме венозной крови натощак  $\geq 6,1$  и  $< 7,0$  ммоль/л) [1];
- употребление алкоголя с риском вредных последствий ( $> 8$  баллов по тесту AUDIT) [20] – опросник в приложении;

**Немодифицируемые факторы ССР:**

- пол (мужской);
- возраст (старше 45 лет у мужчин и старше 55 лет у женщин);

- отягощенный наследственный анамнез (раннее начало ИБС у ближайших родственников: инфаркт миокарда или внезапная смерть у мужчин <55 лет, у женщин <65 лет).

Стратификация ССР проводилась с использованием Европейской шкалы SCORE [42], предназначенной для стран очень высокого риска, к которым относится и Российская Федерация. Оценивались стандартные для шкалы факторы ССР: возраст, пол, статус курения, уровень систолического артериального давления (САД), концентрация ОХС. Проводилось уточнение ССР с поправкой на ХСЛВП [30].

Всем обследуемым проводились следующие инструментально-лабораторные методы исследования.

## **2.2 Методы исследования**

### **2.2.1 Инструментальные методы исследования**

#### **Антропометрические методы**

Измерение роста проводили с использованием ростомера. Массу тела определяли с помощью медицинских весов с точностью до 0,1 кг. ИМТ рассчитывали по формуле:  $ИМТ = \text{масса тела (кг)} / \text{рост (м)}^2$ .

#### **Измерение офисного артериального давления**

Измерение АД производилось после 5 минут отдыха в спокойной обстановке, в положении сидя, на обеих руках, не менее двух раз с интервалом не менее 1-2 мин; с помощью калиброванного сфигмоманометра и плечевой манжеты, НЕМ-7200 МЗ, Omron Healthcare (Киото, Япония). При разнице более 5 мм рт.ст. производилось одно дополнительное измерение. За конечное значение принималось среднее из двух последних измерений.

#### **Оценка состояния эндотелиального гликокаликса**

С использованием прибора Glucocheck® VHM в автоматическом режиме измеряли ПОП ЭГ в микрососудах сублингвальной локализации. ПОП ЭГ

определяется амплитудой отклонения эритроцитов от прямолинейного движения вдоль микрососуда и характеризует протективные свойства ЭГ.

Условия проведения капилляроскопического исследования были одинаковы для всех пациентов. Исследование проводили натощак, в утренние часы, в полутемном кабинете при постоянной температуре в помещении  $+21\pm 1^\circ\text{C}$ . За 4-6 часов до исследования участнику было рекомендовано воздержаться от физической нагрузки, курения, приема кофеина. После 10 минутного отдыха в положении сидя осуществляли две последовательные (с интервалом в 5 минут) видеозаписи сублингвального капиллярного кровотока. Во время записи исследуемый, установив локти на поверхность стола, держал своими руками неподвижно капилляроскоп в ротовой полости. Контролировался легкий (касательный) контакт одноразовой насадки оптического зонда и слизистой дна полости рта сублингвальной локализации (рисунок 2). Измерение величины ПОП ЭГ проводили дважды с интервалом в 5 минут: слева от уздечки языка во время первой записи и справа во время второй. В протоколе отражали среднее значение.



Рисунок 2 - Положение пациента во время исследования

Примечание: установив локти на поверхность стола, исследуемый держит своими руками неподвижно капилляроскоп в ротовой полости. Контролируется легкий (касательный) контакт одноразовой насадки оптического зонда и слизистой сублингвальной локализации. Четкость изображения корректируется фокусирующим кольцом.

Видеозапись проводили с использованием темнопольного капилляроскопа со светодиодным освещением в зеленой области спектра (длина волны 525 нм) фирмы KK Research Technology Ltd (Хонитон, Великобритания) (рисунок 3).



Рисунок 3 - Темнопольный капилляроскоп

Примечание: составными элементами капилляроскопа являются: корпус, оптический зонд, фокусирующее кольцо, сменные одноразовые насадки для оптического зонда.

Являясь портативным ручным устройством, капилляроскоп состоит из следующих частей: корпус, оптический зонд, фокусирующее кольцо, сменные одноразовые насадки для оптического зонда (рисунок 3). Данное устройство обеспечивает цифровую запись капиллярного кровотока с 325-кратным увеличением и разрешением 752x480 пиксель при скорости записи 25 кадров в секунду. Далее, используя программное обеспечение GlycoCheck™ (Glycocheck BV, Маастрихт, Нидерланды), в автоматическом режиме осуществляли анализ полученных записей капиллярного кровотока с расчетом значения ПОП ЭГ.

Видеозапись кровотока начиналась автоматически и проводилась при условии достижения оптимального качества изображения, определяемого интенсивностью отраженного света, оптимальной фокусировкой, амплитудой движения оптического зонда в пределах допустимых норм (рисунок 4 А). Во время видеозаписи автоматически идентифицируются микрососуды диаметром от 5 до 25 мкм, в которых через каждые 10 мкм вдоль направления хода сосуда определяются сосудистые сегменты. При достижении суммарного количества сегментов более 3000 запись прекращалась. Средняя продолжительность

видеозаписи составляла 2-3 минуты и состояла из нескольких видеофрагментов по 40 кадров каждый. По завершении видеозаписи, автоматически в каждом записанном сосудистом сегменте с шагом в 0,5 мкм вдоль направления сосуда размещается 21 маркерная линия.

Дальнейшему анализу программным обеспечением GlycoCheck™ подвергались сосудистые сегменты, имеющие в первом кадре каждого видеофрагмента сигнал от проходящих эритроцитов минимум в 11 (из 21) маркерных линиях (отмечены зеленым); сегменты, не удовлетворяющие данному условию, исключались из дальнейшего анализа (отмечены желтым) (рисунок 4 В).

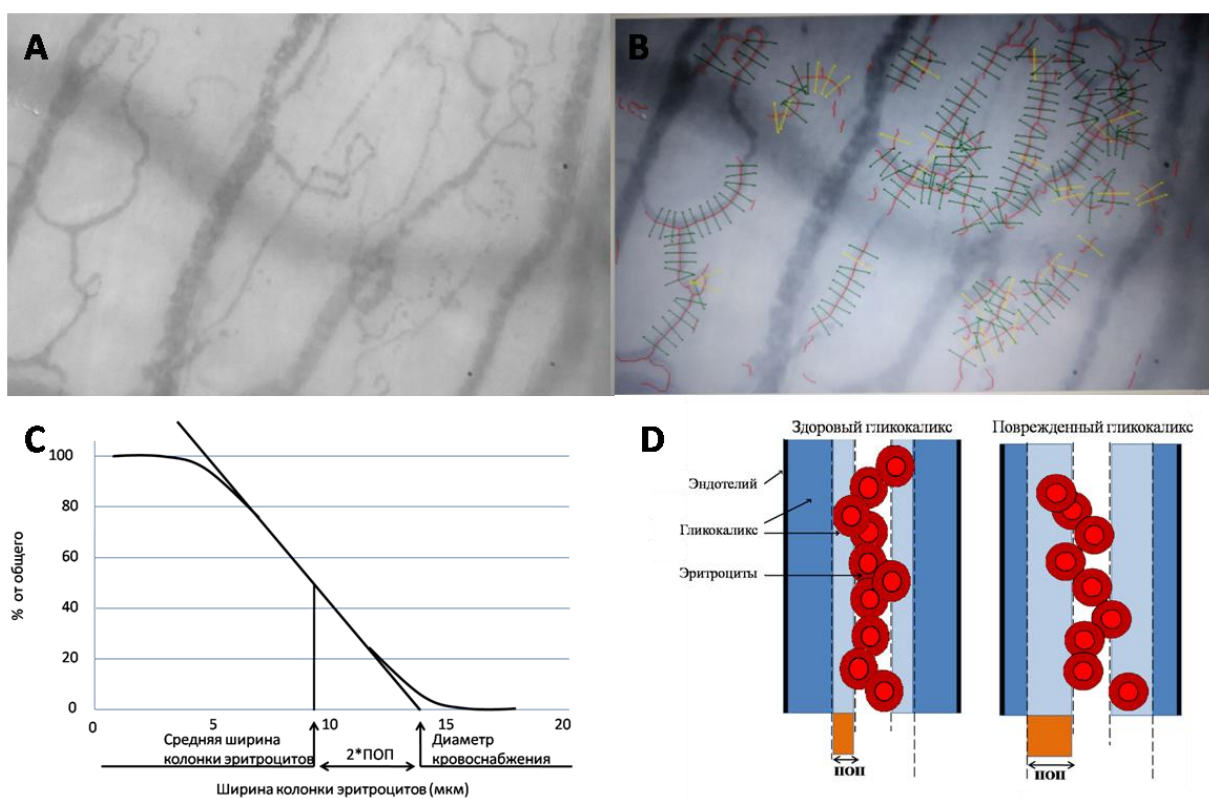


Рисунок 4 - Алгоритм расчета пограничной области перфузии

Примечание: А) Видеозапись потока эритроцитов. Эритроциты определяются путем отражения светодиодного освещения в зеленой области спектра от гемоглобина. В) Через каждые 10 мкм вдоль направления хода сосуда автоматически определяются сосудистые сегменты. Сегменты, имеющие в первом кадре каждого видеофрагмента сигнал от проходящих эритроцитов как минимум в 11 (из 21) маркерных линиях (отмечены зеленым); сегменты, не удовлетворяющие данному условию, исключались из дальнейшего анализа (отмечены желтым). С) Все измерения ширины колонки проходящих эритроцитов объединяются в виде графика. Методом линейной регрессии анализируют участок кривой между 25-ым и 75-ым перцентилем с расчетом средней ширины колонки эритроцитов, диаметра перфузии, пограничной области перфузии (ПОП ЭГ). D) ПОП ЭГ представляет собой амплитуду бокового отклонения эритроцитов от средней ширины колонки проходящих эритроцитов. Поврежденный ЭГ допускает более глубокое проникновение эритроцитов к эндотелиальной поверхности, что отражается в росте значения ПОП ЭГ.



После контроля качества полученных изображений в каждом сосудистом сегменте видеофрагмента автоматически выполняется 840 измерений (21 поперечное сечение x 40 кадров) ширины колонки проходящих эритроцитов. Затем, для каждого сегмента, все измерения ширины колонки проходящих эритроцитов объединяются в виде графика, где число наблюдаемых позиций эритроцитов (процент от общего) откладывают по шкале Y, а значения ширины колонки эритроцитов (в микрометрах(мкм)) по оси X. На данном графике определяют медиану ширины колонки эритроцитов, которая соответствует 50-ому перцентилю кривой. Далее, методом линейной регрессии, анализируют участок кривой между 25-ым и 75-ым перцентилем. Точка пересечения регрессионной прямой с осью X представляет собой амплитуду наибольшего отклонения эритроцитов от их прямолинейного движения. Данный расчетный параметр характеризует диаметр перфузии (рисунок 4 С).

Далее, используя уравнение (диаметр перфузии - средняя ширина колонки эритроцитов)/2, рассчитывается значение ПОП ЭГ для каждого сосудистого сегмента и выражается в мкм. Таким образом, ПОП ЭГ представляет собой амплитуду бокового отклонения эритроцитов от средней ширины колонки проходящих эритроцитов (рисунок 4D). На заключительном этапе все расчетные значения ПОП, соответствующие для столбцов эритроцитов шириной от 5 до 25 мкм, усредняются, для обеспечения единого значения ПОП ЭГ для каждого обследуемого пациента.

В рамках исследования выполнена валидация данного метода исследования ЭГ, основанного на измерении ширины ПОП ЭГ. Валидация метода базировалась на оценке его реализуемости, переносимости и воспроизводимости измерений в зависимости от: а) области сублингвальной локализации, в которой проводили измерение; б) временных интервалов между измерениями. Изучены возможные гендерные различия величины ПОП ЭГ.

Всего в валидации метода измерения ПОП ЭГ приняли участие 40 здоровых добровольцев.

Оценка воспроизводимости измерения ПОП ЭГ в зависимости от области сублингвальной локализации выполнена с участием 34 здоровых добровольцев (18 женщин и 16 мужчин) в возрасте от 40 до 65 лет. При соблюдении одинаковых условий с интервалом в 5 минут определяли значения ПОП ЭГ в сосудах микроциркуляторного русла сублингвальной локализации слева от уздечки языка во время первой записи и справа во время второй. С участием данной группы здоровых добровольцев также выполнен анализ возможных гендерных влияний на величину ПОП ЭГ.

Оценка воспроизводимости метода измерения ПОП ЭГ в зависимости от длительности временного интервала между измерениями выполнена с участием 4 здоровых добровольцев мужского пола (2 добровольца в возрасте 28 лет и 2 добровольца в возрасте 29 лет). Значения ПОП ЭГ определяли дважды для каждого цикла измерения с временными интервалами по следующей схеме: первый цикл измерений – отдых 15 минут → второй цикл измерений – отдых 30 минут → третий цикл измерений – отдых 60 минут → четвертый цикл измерений. Спустя сутки исследование повторяли по указанной схеме.

### **Оценка эластических свойств стенки артерий**

Исследование эластических свойств артериальной стенки проводили методом объемной сфигмографии на приборе VaSera-1500N (Fukuda Denshi, Япония). Прибор автоматически осциллометрическим методом измеряет АД на плечах и лодыжках, регистрирует пульсовые волны (на сонной, бедренной артериях и на артериях 4-х конечностей), электрокардиограмму (ЭКГ), фонокардиограмму, осуществляет расчет показателей, характеризующие жесткость артериальных сосудов [2]. Результаты тестирования прибора соответствуют стандартам АСС/АНА 2005 года.

Оценивали следующие параметры:

- СЛСИ на правых и левых конечностях. СЛСИ - показатель жесткости сосудистой стенки магистральных артерий, рассчитывается на основании параметра жесткости  $\beta$  с учетом модифицированного уравнения Bramwell-Hill's.

Индекс не зависит от уровня АД у пациента в момент проведения исследования и отражает истинную жесткость сосудистой стенки [85, 86]. СЛСИ прямо пропорционален жесткости артериальной стенки: чем выше СЛСИ, тем больше жесткость артериальной стенки. Значения СЛСИ на правых и левых конечностях не различались, в протоколе отражали средние значения СЛСИ для каждого пациента. Жесткость по параметру СЛСИ оценивали относительно пороговых значений, полученных в исследовании ЭССЭ-РФ, с поправкой на пол и возраст [15].

- СРПВ<sub>кф</sub> - отражает эластические свойства аорты. Измерение СРПВ<sub>кф</sub> проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными в консенсусе экспертов по артериальной жесткости 2012 г. [94]. Регистрация пульсовой волны проводилась в двух точках: левой общей сонной и левой бедренной артериях.

Расчет СРПВ<sub>кф</sub> проводили по формуле:

$$\text{СРПВ}_{\text{кф}} = D \times 0,8 / \Delta t,$$

где D – это расстояние, которое проходит пульсовая волна (расстояние между двумя точками регистрации на сонной и бедренной артериях), а  $\Delta t$  – интервал времени между началом подъема пульсовой волны на сонной и бедренной артериях.

Согласно консенсусу экспертов Европейского общества кардиологов, значение СРПВ<sub>кф</sub> >10 м/с свидетельствует о существенном повышении жесткости стенки аорты, является независимым предиктором развития ССЗ и ССО [94]. Для оценки рассчитанной СРПВ<sub>кф</sub> использовали нормы, полученные для европейской популяции, с поправкой на возраст и уровень АД [61].

### **Определение ультразвуковых параметров атеросклеротической бляшки, толщины комплекса интима-медиа сонных артерий**

Дуплексное сканирование СА с определением ТИМ и АСБ проводилось всем пациентам в В-режиме линейным датчиком ультравысокого разрешения 9-11 МГц на аппаратах Philips iU22 и Philips iU33, оснащенных программным обеспечением

«Qlab». Измерения проводились в диастолу при синхронизации с ЭКГ; одним оператором.

Проводилось исследование СА с обеих сторон в двух взаимно перпендикулярных плоскостях (в продольном и поперечном сечении) на протяжении всей общей сонной артерии (ОСА), бифуркации ОСА и внутренней сонной артерии (ВСА) передним и латеральным доступами в области максимального сужения просвета сосуда АСБ. Критериями наличия АСБ в СА являлись: 1) утолщение участка артерии более, чем на 50 % по сравнению с окружающими участками; 2) превышение ТИМ более 1,5 мм с протрузией в просвет сосуда [90]. При сканировании СА в поперечном сечении и выявлении АСБ рассчитывали процент стеноза. В протоколе отражали значение максимального стенозирования СА (макс % стеноза) [5].

Измерение ТИМ проводили в дистальной трети обеих СА в продольном сечении. ТИМ правой ( $ТИМ_{пр}$ ) и ТИМ левой ( $ТИМ_{лев}$ ) считали максимальное значение, полученное при 9 измерениях (по 3 измерения из переднего, латерального и заднего доступов) ТИМ для каждой СА. В протоколе отражали два значения ТИМ:  $ТИМ_{ср}$  (полусумма  $ТИМ_{пр}$  и  $ТИМ_{лев}$ ) и  $ТИМ_{макс}$  (наибольшее значение из  $ТИМ_{пр}$  и  $ТИМ_{лев}$ ) [5].

### **Определение поток-зависимой вазодилатации плечевой артерии**

Вазомоторная функция эндотелия (ВФЭ) оценивалась по ультразвуковой методике D.S. Celermajer с расчетом параметра ПЗВД ПА. Выполнение методики основано на способности эндотелия высвобождать NO в условиях реактивной гиперемии при сохраненной функции эндотелия [27].

Оценка ВФЭ выполнялась в положении пациента лежа на спине, после 15-минутного отдыха. Использовалась ультразвуковая система Philips IU22 (со встроенным монитором ЭКГ) и линейный датчик с частотой 9-11 МГц.

Правая ПА сканировалась непрерывно в ходе всего исследования. Визуализация ПА проводилась выше локтевого сгиба на 2-3 см в продольном сечении.

В проксимальной трети правого предплечья накладывалась манжета, далее производилась артериальная окклюзия с помощью нагнетания в манжету воздуха с давлением, превышающим САД не менее чем на 50 мм рт.ст. Через 5 мин проводилась декомпрессия манжеты и продолжалась непрерывная регистрация продольных изображений ПА.

Диаметр ПА оценивался дважды:  $D_{исх}$  - исходный диаметр ПА (после адаптации пациента в положении лежа) и  $D_{макс}$  - значение диаметра ПА через 60 сек после декомпрессии манжеты. Измерения диаметра производили в конце диастолы, синхронизировано с зубцом R на ЭКГ.

Для расчета ПЗВД ПА использовали формулу:

$$\text{ПЗВД ПА} = (D_{макс} - D_{исх}) / D_{исх} \times 100\%.$$

Нормальной ВФЭ считали при значениях ПЗВД ПА  $\geq 6\%$ . Нарушение ВФЭ регистрировалось при значении ПЗВД ПА  $< 6\%$  [14].

### **Лазерная доплеровская флоуметрия**

Регистрация параметров микроциркуляторного кровотока кожи проводилась методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с использованием лазерного анализатора ЛАКК-02 (“ЛАЗМА”, Россия) в ближнем инфракрасном диапазоне спектра ( $\lambda = 800$  нм) и блока ЛАКК-ТЕСТ (“ЛАЗМА”, Россия). Последние позволяют оценивать характер микрогемодинамических процессов на уровне терминального отдела сосудистого русла на глубине не более 1,0–1,2 мм (в объеме кожи  $\approx 1,0\text{--}1,5$  мм<sup>3</sup>) при контролируемой температуре в данном объеме исследования на уровне  $+32 \pm 0,2$  °С [17].

Перед оценкой базального уровня микроциркуляторного кровотока в коже все испытуемые проходили этап адаптации в положении лежа на спине в помещении с постоянной температурой  $+23 \pm 1$  °С и влажностью воздуха 40-60%. Базальную перфузию оценивали на протяжении шести минут по срединной линии наружной поверхности предплечья в непосредственной близости от лучезапястного сустава (зона Захарьина-Геда для сердца) [8].

Из показателей базального кровотока в покое рассчитывали следующие переменные: уровень перфузии (ПМ), среднее колебание перфузии ( $\sigma$ ) и коэффициент вариации ( $K_v$ ).

Параметр ПМ - это величина среднего потока крови, измеряется в перфузионных единицах (пф.ед.).

Параметр  $\sigma$  характеризует изменчивость кровотока в  $1\text{мм}^3$  кожи в результате модуляций различными регуляторными механизмами; рассчитывается по формуле для среднеквадратического отклонения.

Параметр  $K_v = \sigma/\text{ПМ} \times 100\%$ .

Расчетные параметры ПМ,  $\sigma$  и  $K_v$  характеризуют общее состояние микроциркуляторного русла.

С целью выявления адаптационных резервов и скрытых нарушений микроциркуляторного кровотока выполняли пробу с артериальной окклюзией [6]. Для этого окклюзионная манжета тонометра фиксировалась на правом плече. После регистрации исходной ЛДФ в течение 6 минут, не прерывая записи, проводили 5-минутную окклюзию. По истечении 5 минут проводили быструю декомпрессию и регистрировали характер восстановления кровотока в течение последующих 6 минут.

Оценивались следующие показатели, полученные при окклюзионной пробе и характеризующие реактивную гиперемия:

$\text{ПМ}_{\text{исх}}$  - средний уровень перфузии до окклюзии (в пф.ед.).

$\text{ПМ}_{\text{окл}}$  - показатель уровня перфузии (в пф.ед.) в процессе окклюзии.

$\text{ПМ}_{\text{макс}}$  – максимальное значение уровня перфузии (в пф.ед.) в процессе реактивной гиперемии.

Уровень прироста перфузии ( $\Delta\text{ПМ}$ ) – рассчитывали по формуле:

$$\Delta\text{ПМ} = \text{ПМ}_{\text{макс}} / \text{ПМ}_{\text{исх}} \times 100\%.$$

Также оценивались временные параметры (в секундах) окклюзионной пробы:

$T_{\text{макс}}$  - время от декомпрессии до достижения  $\text{ПМ}_{\text{макс}}$ . Параметр характеризует реактивность микроциркуляторного русла.

$T_{1/2}$  - время полувосстановления, интервал времени от момента достижения  $PM_{\text{макс}}$  до момента полувосстановления (половины разности  $PM_{\text{макс}} - PM_{\text{исх}}$ ).  $T_{1/2}$  характеризует реактивность микрососудов прекапиллярного звена.

### **Коронарная ангиография**

Рентгеноконтрастная коронарная ангиография проводилась по стандартной методике на ангиографических установках Innova 4100 (General Electric, Германия) и Coroscor (Siemens, Германия). В соответствии с Национальными клиническими рекомендациями по стабильной стенокардии 2008 г., поражение КА >50% считали существенным, а <50% гемодинамически незначимым [12].

### **2.2.2 Лабораторные методы исследования**

Забор крови осуществляли утром натощак (через 12 ч после последнего приема пищи в виде низко-нитратного ужина) из кубитальной вены. Сыворотку крови получали центрифугированием при 1000g, 20 мин, при 4°C, аликвотировали и хранили при -26°C не более 1 мес.

### **Определение биохимических параметров**

Уровень в крови ОХС, ХС ЛВП, ХС ЛНП, ТГ, глюкозы, инсулина, вчСРБ, липопротеина (а) (ЛП<sub>а</sub>), аполипопротеина А1 (апоА1), аполипопротеина В (апоВ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), креатинина определяли с помощью автоматического анализатора Architect С 8000 (Abbott, США).

### **Определение показателей общего анализа крови**

Исследовалась венозная кровь, взятая в пробирки Vacutainer<sup>®</sup> объемом 3 мл (Becton Dickinson, Кроули, Великобритания) с антикоагулянтом  $K_2$ ЭДТА. Исследования проводились на гематологическом анализаторе МЕК-8222К (Nihon Kohden Corporation, Япония); прибор подвергался надлежащему контролю со стороны внутреннего отдела контроля качества. В каждом образце крови

определяли количество лейкоцитов ( $10^9/\text{л}$ ), эритроцитов ( $10^{12}/\text{л}$ ), концентрацию гемоглобина (г/л), гематокрит (%).

### **Определение уровня метаболитов NO (суммарная концентрация нитратов и нитритов, NO<sub>x</sub>)**

Исследование проводили в 96-луночных плашках с плоским дном (Costar). К 100 мкл супернатанта, полученного после депротеинизации сыворотки, добавляли 100 мкл раствора хлорида ванадия (III) и 100 мкл реактива Грисса. Смесь инкубировали в течение 30 мин. при 37°C. Оптическую плотность раствора измеряли при длине волны 540 нм. Количество нитрит-иона рассчитывали в мкМ по калибровочной кривой, построенной со стандартным раствором NaNO<sub>2</sub>, линейность кривой сохранялась в диапазоне концентраций нитрит-иона от 5 до 320 мкМ. Таким образом, определяли содержание суммарных метаболитов NO.

### **Определение уровня интерлейкина-6**

Исследование уровня интерлейкина-6 (фмоль/мл) выполнено методом твердофазного иммуноферментного анализа с применением набора «Platinum ELISA» компании Affymetrix Bioscience (США) на спектрофотометре Multiscan MCC/340 (Labsystems, Финляндия) при длине волны 450 нм.

### **Определение уровня эндотелина (1-21)**

Исследование уровня эндотелина (фмоль/мл) выполнено методом твердофазного иммуноферментного анализа с применением набора «Biomedica» (Австрия) на спектрофотометре Multiscan MCC/340 (Labsystems, Финляндия) при длине волны 450 нм.

### **2.2.3 Методы статистического анализа**

Данные обрабатывали и анализировали с помощью программы «Statistica v10.0» (StatSoftInc., США). Для количественных переменных проводился анализ соответствия распределения нормальному закону. Полученные данные



представлены в виде среднего и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ), а также в виде медианы ( $Me$ ), 25% и 75% квартилей. Для оценки относительной меры разброса данных использовался коэффициент вариации. Для определения различий между двумя группами использовался критерий Манна-Уитни, между тремя группами - критерий Крускала-Уоллиса. Частота распространения признаков по группам сравнивалась при помощи точного двустороннего критерия Фишера. Проводились корреляционный анализ (корреляции Пирсона, Спирмена), линейный и логистический регрессионный анализ. Различие считалось статистически значимым при  $p < 0,05$ .

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1 Валидация метода измерения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса

Валидация метода измерения ПОП ЭГ выполнена с участием 40 здоровых добровольцев в возрасте от 28 до 65 лет (мужчин n=21, женщин n=19). Все здоровые добровольцы не являлись курильщиками и не принимали регулярной медикаментозной терапии. Клиническая характеристика группы обследованных добровольцев представлена в таблице 2.

Таблица 2 - Характеристика участников исследования

Показатель	Добровольцы (n=40)
Возраст (лет)	48,3±10,1
Мужской пол, % (n)	53 (21)
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> )	25,5 [24,1-27,7]
ОТ (см)	90 [82-94]
САД (мм рт. ст.)	123 [118-132]
ДАД (мм рт.ст.)	80 [76-80]
ПАД (мм рт.ст.)	45 [41-52]
ЧСС (уд в мин)	64 [60-70]

#### 3.1.1 Реализуемость и переносимость исследования

Продолжительность обследования на аппарате Glucocheck® VHM с подготовкой больного, вводом паспортных данных и получением заключения не превышала 15 минут. Ограничением для проведения исследования у двух добровольцев послужили тремор рук и нижней челюсти, лимитировавшие качественную запись микрокровотока. Таким образом, реализуемость (отношение количества правильно выполненных исследований к общему количеству исследований) данного метода исследования составила 95%.

### **3.1.2 Воспроизводимость измерения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в зависимости от области сублингвальной локализации**

Оценка воспроизводимости измерения ПОП ЭГ в зависимости от области сублингвальной локализации выполнена с участием 34 здоровых добровольцев в возрасте от 40 до 65 лет.

В таблице 3 указаны абсолютные значения ПОП ЭГ, полученные слева и справа от уздечки языка, их коэффициенты вариации (CV), дельта ( $\Delta$ ), средние значения (M) и стандартные отклонения (SD) для пары последовательно выполненных измерений.

Таблица 3 - Показатель ПОП ЭГ и его коэффициент вариации у здоровых добровольцев в зависимости от области сублингвальной локализации

№ Добровольца	ПОП ЭГ слева от уздечки языка, мкм	ПОП ЭГ справа от уздечки языка, мкм	M±SD	Δ	CV,%	№ Добровольца	ПОП ЭГ слева от уздечки языка, мкм	ПОП ЭГ справа от уздечки языка, мкм	M±SD	Δ	CV,%
<b>1</b>	1,94	2,00	1,97±0,04	0,06	2,2	<b>19</b>	1,79	1,64	1,71±0,11	0,15	6,2
<b>2</b>	1,97	2,00	1,98±0,02	0,03	1,1	<b>20</b>	1,66	1,62	1,64±0,03	0,04	1,7
<b>3</b>	1,49	1,60	1,55±0,08	0,11	5,0	<b>21</b>	1,56	1,79	1,67±0,16	0,23	9,7
<b>4</b>	1,92	1,85	1,89±0,05	0,07	2,6	<b>22</b>	1,73	1,70	1,72±0,02	0,03	1,2
<b>5</b>	1,79	1,63	1,71±0,11	0,16	6,6	<b>23</b>	1,81	1,69	1,75±0,08	0,12	4,8
<b>6</b>	2,11	1,86	1,98±0,18	0,25	8,9	<b>24</b>	1,80	2,03	1,91±0,16	0,23	8,5
<b>7</b>	1,72	1,49	1,60±0,16	0,23	10,2	<b>25</b>	1,58	1,29	1,43±0,21	0,29	14,3
<b>8</b>	1,79	1,69	1,73±0,07	0,10	4,1	<b>26</b>	1,62	1,50	1,56±0,08	0,12	5,4
<b>9</b>	1,78	1,67	1,72±0,08	0,11	4,5	<b>27</b>	1,59	1,69	1,64±0,07	0,10	4,3
<b>10</b>	1,95	1,82	1,88±0,09	0,13	4,9	<b>28</b>	1,91	2,08	2,00±0,12	0,17	6,0
<b>11</b>	1,87	1,64	1,75±0,16	0,23	9,3	<b>29</b>	1,72	1,73	1,72±0,01	0,01	0,4
<b>12</b>	1,85	2,02	1,94±0,12	0,17	6,2	<b>30</b>	1,87	1,80	1,84±0,05	0,07	2,7
<b>13</b>	1,48	1,92	1,70±0,31	0,44	18,3	<b>31</b>	1,93	2,04	1,98±0,08	0,11	3,9
<b>14</b>	1,92	1,78	1,85±0,10	0,14	5,4	<b>32</b>	1,91	1,56	1,74±0,25	0,35	14,2
<b>15</b>	1,83	1,83	1,83±0,00	0,00	0,0	<b>33</b>	2,11	1,88	1,99±0,16	0,23	8,2
<b>16</b>	2,05	1,74	1,89±0,22	0,31	11,6	<b>34</b>	1,68	1,76	1,72±0,06	0,08	3,3
<b>17</b>	1,87	1,95	1,91±0,06	0,08	3,0						
<b>18</b>	1,91	1,77	1,84±0,10	0,14	5,4						

Величина ПОП ЭГ колебалась от минимальных 1,48 мкм слева от уздечки языка и от 1,29 мкм справа до максимальных 2,11 мкм и 2,00 мкм соответственно. Среднее значение ширины ПОП ЭГ составило слева 1,81 мкм, справа 1,77 мкм и значимо не различалось ( $p=0,30$ ). Наибольшая разница между двумя значениями ПОП ЭГ, последовательно полученными в различных сублингвальных областях у добровольца, составила 0,44 мкм, определившая наибольший коэффициент вариации между значениями ПОП ЭГ в различных сублингвальных областях в 18,3%. Средний коэффициент вариации между величинами ПОП ЭГ микроциркуляторного русла различных областей сублингвальной локализации составил 6,0%.

Рассчитанные коэффициенты вариации свидетельствуют о незначительной вариабельности и высокой воспроизводимости последовательно полученных значений ПОП ЭГ в различных областях сублингвальной локализации. Основываясь на полученных данных, сделан вывод, что выбор области сублингвальной локализации для проведения исследования (справа или слева от уздечки языка) не имеет принципиального значения, а для расчета ПОП ЭГ достаточно одного исследования.

### **3.1.3 Воспроизводимость измерения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в зависимости от временных интервалов между измерениями**

Реализация данной задачи выполнена с участием 4-х здоровых добровольцев мужского пола (2 добровольца в возрасте 28 лет и 2 добровольца в возрасте 29 лет). Исходно были подтверждены результаты, полученные при исследовании воспроизводимости значений ПОП ЭГ в различных областях сублингвальной локализации у 34 добровольцев. Так средний внутрисерийный коэффициент вариации для всех выполненных пар измерений составил 6,2%.

Далее, для оценки воспроизводимости получаемых значений ПОП ЭГ через фиксированные промежутки времени внутри суток, для каждого дня были рассчитаны межсерийные коэффициенты вариации для каждого интервала

времени относительно исходного измерения (на основе 4-х измерений) (таблица 4).

Таблица 4 - Коэффициенты вариации ПОП ЭГ у здоровых добровольцев в зависимости от длительности временного интервала между измерениями

№ Добровольца	CV % через различные временные промежутки, относительно исходного измерения соответствующего дня					
	1 сутки Временной интервал			2 сутки Временной интервал		
	Δ 15 минут	Δ 30 минут	Δ 60 минут	Δ 15 минут	Δ 30 минут	Δ 60 минут
35	6,9	3,6	8,6	4,5	3,5	8,1
36	10,7	6,6	8,6	9,8	6,1	8,1
37	7,2	10,7	9,7	9,6	10,2	7,0
38	9,0	4,7	4,1	1,8	5,9	2,5
CV% средний межсерийный для каждого временного интервала	8,5	6,4	7,8	6,4	6,4	6,4

Из таблицы 4 видно, что межсерийный коэффициент вариации находился в диапазоне от 1,8 до 10,7%, а средние его значения для каждого временного интервала, относительно исходного измерения внутри суток, колебались от 6,4 до 8,5%.

Для всех полученных значений ПОП ЭГ внутри суток средний коэффициент вариации составил 9,1% в первые сутки, 7,3% во вторые сутки (таблица 5).

Таблица 5 – Значения ПОП ЭГ и коэффициенты вариации при измерении в пределах суток

№ Добровольца	Параметр	1 сутки	2 сутки
35	ПОП ЭГ (мкм)	1,97±0,17	1,94±0,14
	CV % внутри суток	8,4	7,4
36	ПОП ЭГ (мкм)	1,74±0,21	1,79±0,17
	CV % внутри суток	12,1	9,4
37	ПОП ЭГ (мкм)	1,97±0,18	1,71±0,14
	CV % внутри суток	8,9	8,1
38	ПОП ЭГ (мкм)	1,93±0,14	1,76±0,08
	CV % внутри суток	7,1	4,3
Средний CV % внутри суток		9,1	7,3

Также был выполнен анализ воспроизводимости значений ПОП ЭГ с интервалом в 24 часа между измерениями. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Значения ПОП ЭГ и коэффициенты вариации при измерении с временным интервалом в 24 часа

№ Добровольца	ПОП ЭГ (мкм)		CV % между измерениями в различные дни
	1 сутки	2 сутки	
35	1,97±0,17	1,94±0,14	7,7
36	1,74±0,21	1,79±0,17	10,5
37	1,97±0,18	1,71±0,14	11,1
38	1,93±0,14	1,76±0,08	7,5
Для всех добровольцев			9,2

Коэффициент вариации с временным интервалом в 24 часа составил 9,2%.

### 3.1.4 Анализ гендерных различий пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса

Оценку взаимосвязи пола обследуемого с величиной ПОП ЭГ выполнили с участием 34 здоровых добровольцев (18 женщин и 16 мужчин) в возрасте от 40 до 65 лет.

Рассчитаны средние значения ПОП ЭГ в зависимости от пола исследуемого (таблица 7).

Таблица 7 - Значения ПОП ЭГ у лиц различного пола

Женщины (n=18)		Мужчины (n=16)	
№ Добровольца	ПОП ЭГ (мкм)	№ Добровольца	ПОП ЭГ (мкм)
1	1,97	19	1,71
2	1,98	20	1,64
3	1,55	21	1,67
4	1,89	22	1,72
5	1,71	23	1,75
6	1,98	24	1,91
7	1,6	25	1,43
8	1,73	26	1,56
9	1,72	27	1,64
10	1,88	28	2
11	1,75	29	1,72
12	1,94	30	1,84
13	1,7	31	1,98
14	1,85	32	1,74
15	1,83	33	1,99
16	1,89	34	1,72
17	1,91		
18	1,84		
Для всех	1,82±0,13		1,75±0,16

Средние значения ПОП ЭГ у мужчин и женщин значимо не различались и составили 1,82±0,13 мкм у женщин и 1,75±0,16 мкм у мужчин (p=0,21).

В дальнейшем, при анализе взаимосвязи ПОП ЭГ с другими параметрами, не было необходимости при расчетах вводить поправку на пол.



## **3.2 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса у лиц в возрасте 40-65 лет с суммарным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE, выраженностью отдельных параметров шкалы SCORE и других традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний**

### **3.2.1 Характеристика участников исследования, стратифицированных по шкале SCORE**

Изучена взаимосвязь величин ПОП ЭГ с суммарным ССР с участием 177 пациентов, стратифицированных по шкале SCORE, в возрасте от 40 лет до 65 лет. Медиана возраста пациентов составила 54 года. Доля мужчин составила 55% (n=97). Медиана возраста у женщин составила 56 лет и 53 года у мужчин. У 55% была диагностирована АГ, при этом регулярную антигипертензивную терапию получали только 39% пациентов с АГ. В целом, цифры АД были в пределах нормальных значений и составили: САД – 130 [122-144] мм рт. ст., ДАД – 80 [80-90] мм рт. ст.

Избыточная масса тела отмечалась у 46% (n=81), ожирение – у 21% (n=37). Абдоминальное ожирение было выявлено у 72% (n=127) лиц, а медиана ОТ составила 96 см у мужчин и 87 см у женщин. Медианы параметров липидного профиля составили: ОХС 6,0 ммоль/л, ХС ЛНП 4,4 ммоль/л, ХС ЛВП 1,0 ммоль/л и ТГ 1,2 ммоль/л. По данным обследования 95% (n=169) лиц имели дислипидемию. Гипергликемию натощак выявили у 6% (n=10) пациентов. Отягощенный наследственный анамнез по ССЗ заболеваниям имели 23% (n=40) участников. Употребление алкоголя с риском вредных последствий выявлено у 14% (n=24) обследованных, тогда как курение отмечено у 42% (n=75).

Таким образом, в целом группа была уравновешена по половому составу, характеризовалась нормальными значениями «клинического» АД, избыточной массой тела, липидным профилем сдвинутым в сторону атерогенности.

Медианное значение параметра ПОП ЭГ среди всех лиц, стратифицированных по SCORE, составило 1,88 [1,74-2,03] мкм и не отличалось у мужчин и женщин (1,88 [1,74-2,01] мкм vs 1,89 [1,76-2,03] мкм,  $p=0,88$ ). Учитывая данный факт, в дальнейшем, при анализе взаимосвязи ПОП с изучаемыми параметрами, не было необходимости при расчетах вводить поправку на пол.

Среди всех участников исследования, стратифицированных по шкале SCORE, 11% лиц принимали регулярную терапии бета-блокаторами, 8% ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ), 6% блокаторами рецепторов ангиотензина II, одинаковое количество пациентов находилось на терапии антагонистами кальция и диуретиками (по 3%). В группе лиц, принимавших бета-блокаторы, величина ПОП ЭГ не отличалась от значений ПОП ЭГ в группе лиц, не принимавших данную группу препаратов ( $1,90 \pm 0,23$  мкм ( $n=19$ ) vs  $1,91 \pm 0,20$  мкм ( $n=158$ ), соответственно;  $p=0,82$ ). Аналогичный результат имел место и в отношении иАПФ ( $1,96 \pm 0,18$  мкм ( $n=14$ ) vs  $1,90 \pm 0,20$  мкм ( $n=163$ ), соответственно;  $p=0,16$ ). В группах, принимающих и не принимающих блокаторы рецепторов ангиотензина II, антагонисты кальция и диуретики, значения ПОП ЭГ не сравнивали из-за разницы в объеме выборки пациентов. В дальнейшем, при анализе взаимосвязи ПОП ЭГ с другими параметрами, поправку на прием терапии не вводили.

### **3.2.2 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса с суммарным сердечно-сосудистым риском по шкале SCORE**

По шкале SCORE были сформированы 2 группы пациентов: группа 1 (группа низкого ССР) – лица низкого и умеренного ССР по шкале SCORE (<5%), группа 2 (группа высокого ССР) – лица высокого и очень высокого ССР по шкале SCORE ( $\geq 5\%$ ).

В группу 1 вошли 104 пациента (49 мужчин и 55 женщин), медиана возраста составила – 49 лет. Группу 2 составили 73 пациента (48 мужчин и 25 женщин), медиана возраста составила – 59 лет. Характеристика групп представлена в таблице 8.

Таблица 8 - Характеристика групп низкого и высокого ССР

Показатель	Группа низкого ССР (n=104)	Группа высокого ССР (n=73)	p
Возраст (лет)	49 [43-55]	59 [56-62]	<0,001
Мужской пол, % (n)	47 (49)	66 (48)	<0,01
ЧСС (уд в мин)	64 [59-71]	62 [56-72]	0,63
САД (мм рт. ст.)	124 [120-132]	144 [136-150]	<0,001
ДАД (мм рт. ст.)	80 [76-82]	90 [80-90]	<0,001
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> )	25,8 [23,6-28,6]	27,7 [23,6-28,6]	<0,01
ОТ (см)	90 [82-97]	95 [89-105]	<0,001
ОХС (ммоль/л)	6,0 [5,4-6,9]	6,1 [5,5-7,0]	0,28
ХС ЛВП (ммоль/л)	1,1 [0,8-1,4]	0,9 [0,8-1,1]	<0,001
Глюкоза натощак (ммоль/л)	4,9 [4,6-5,2]	4,1 [4,8-5,7]	<0,001
Курение, % (n)	33 (34)	56 (41)	<0,001

Ввиду того, что стратификация ССР по шкале SCORE учитывает основные факторы ССР, в группе высокого ССР значения возраста, САД, ДАД, ИМТ, ОТ, ХС ЛВП, глюкозы натощак, а также частота курения и количество лиц мужского пола были выше по сравнению с группой низкого ССР. Между тем отличий между группами по ЧСС и уровню ОХС не выявлено.

В группе высокого ССР величина ПОП ЭГ была достоверно выше, по сравнению с группой низкого ССР (1,95 [1,80-2,10] мкм vs 1,85 [1,72-1,98] мкм,  $p < 0,01$ ) и не отличалась у мужчин и женщин внутри группы низкого ССР и группы высокого ССР (таблица 9).

Таблица 9 – Значения ПОП ЭГ у мужчин и женщин в группах низкого и высокого ССР

Группа	ПОП ЭГ (мкм)		p
	Мужчины	Женщины	
Группа низкого ССР (n=104)	1,83 [1,72-1,92]	1,85 [1,73-1,98]	0,47
Группа высокого ССР (n=73)	1,95 [1,80-2,05]	2,02 [1,81-2,17]	0,26

При анализе взаимосвязи ширины ПОП ЭГ с суммарным показателем риска сердечно-сосудистой смерти в течение 10 лет по шкале SCORE выявлена слабая прямая корреляционная зависимость ( $r=0,16$ ,  $p=0,03$ ).

### **3.2.3 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии с выраженностью отдельных параметров шкалы SCORE**

Для расчета суммарного риска по шкале SCORE, учитываются 2 немодифицируемых (пол, возраст) и 4 модифицируемых фактора риска (статус курения, САД, ОХС и ХС ЛВП) [42].

Ранее было показано, что между ПОП ЭГ и полом взаимосвязи нет.

При однофакторном анализе взаимосвязи курения с величиной ПОП ЭГ не выявлено.

Корреляционный анализ не выявил связи между ПОП ЭГ с другим немодифицируемым фактором – возрастом, а также с уровнем САД, ОХС и ХС ЛВП.

Таким образом, величина ПОП ЭГ связана с суммарным риском по шкале SCORE. Отдельные факторы риска, входящие в шкалу SCORE, не имеют достоверной связи с ПОП ЭГ.

### **3.2.4 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии с выраженностью традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, неучитываемых в шкале SCORE**

Проанализированы взаимосвязи между величиной ПОП ЭГ с традиционными факторами риска ССЗ, не входящими в шкалу SCORE, такими как: АГ, ожирение, абдоминальное ожирение, дислипидемия, гипергликемия натощак, повышение уровня вЧСРБ более 3 мг/дл, отягощенный наследственный анамнез, употребление алкоголя с риском вредных последствий, повышение СРПВ<sub>кф</sub> более 10 м/сек [7].

В отношении связи ПОП ЭГ с перечисленными факторами риска ССЗ, не входящими в шкалу SCORE, выявлена достоверная (положительная) связь только

с наличием АГ ( $\beta=0,088$ ,  $p<0,01$ ). Величина ПОП ЭГ у пациентов с АГ была достоверно выше, чем у пациентов без АГ (1,95 [1,8-2,1] мкм vs 1,84 [1,72-1,97] мкм,  $p=0,003$ ). При этом длительность течения АГ усугубляла состояние ЭГ, что отражалось в росте величины ПОП ЭГ ( $r= 0,20$ ,  $p<0,01$ ). Взаимосвязь длительности течения АГ и величины ПОП ЭГ сохранялась в группе низкого ССР по шкале SCORE ( $r= 0,20$ ,  $p=0,04$ ), тогда как в группе высокого ССР по шкале SCORE данной взаимосвязи не выявлено.

Других взаимосвязей ПОП ЭГ как с модифицируемыми (ожирение, абдоминальное ожирение, дислипидемия, гипергликемия натощак, употребление алкоголя с риском вредных последствий), так и с не модифицируемыми факторами риска ССЗ (отягощенный наследственный анамнез) не выявлено. Не было выявлено взаимосвязи суммарного количества факторов риска и величины ПОП ЭГ.

При анализе взаимосвязей между величиной ПОП ЭГ и уровнем АД, ЧСС, ОТ, ИМТ, показателями липидного и углеводного обменов выявлена обратная корреляция ПОП ЭГ с уровнем структурного белка липопротеинов высокой плотности апоА1 ( $r=-0,19$ ,  $p<0,001$ ).

Изучена взаимосвязь ПОП ЭГ с такими факторами риска развития нежелательных сердечно-сосудистых событий как повышение СРПВ<sub>кф</sub> более 10 м/сек и уровня вчСРБ более 3 мг/л.

Повышение значения СРПВ<sub>кф</sub> в аорте более 10 м/с выявлено у 18% ( $n=30$ ) пациентов. Корреляционный анализ взаимосвязи между СРПВ<sub>кф</sub> и ПОП ЭГ не выявил, а величина ПОП ЭГ не различалась у пациентов со СРПВ<sub>кф</sub> более 10 м/сек по сравнению с пациентами со СРПВ<sub>кф</sub> менее 10 м/сек.

Медианное значение вчСРБ для всех пациентов составило 2,8 [1,6-4,1] мг/дл, при этом у 44% ( $n=77$ ) обследуемых значение вчСРБ превышало 3 мг/дл. Взаимосвязи между уровнем вчСРБ и ПОП ЭГ не выявлено.

Таким образом, выявлена положительная связь между АГ, длительностью ее течения и величиной параметра ПОП ЭГ. Получена отрицательная связь параметра ПОП ЭГ с уровнем липопротеина высокой плотности апоА1.

Взаимосвязей между ожирением, абдоминальным ожирением, дислипидемией, гипергликемией натощак, отягощенным наследственным анамнезом, употреблением алкоголя с риском вредных последствий, уровнем вЧСРБ, СРПВ<sub>кф</sub> и величиной ПОП ЭГ не выявлено.

### **3.3 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса с параметрами морфофункционального состояния микроциркуляторного русла и стенок артерий у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза**

С целью изучения взаимосвязи ПОП ЭГ с морфофункциональными характеристиками микроциркуляторного русла и стенок артерий была обследована группа пациентов, описанная в главе 3.2.

#### **3.3.1 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса с параметрами, характеризующими толщину комплекса интима-медиа и выраженность атеросклероза сонных артерий у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза**

Дуплексное сканирование СА выполнено 176 пациентам (из 177 пациентов, исходно стратифицированных по шкале SCORE). Медианные значения ТИМ<sub>ср</sub> и ТИМ<sub>макс</sub> составили 0,9 мм. У 45% (n=79) участников исследования выявлены ультразвуковые признаки стенозирующего атеросклероза СА, при этом макс % стеноза был в пределах от 20 до 70 %, а медианное значение составило 25%.

Выявлена взаимосвязь величины ПОП ЭГ с ТИМ<sub>ср</sub> и ТИМ<sub>макс</sub> (таблица 10).

Таблица 10 - Корреляционная связь величины ПОП ЭГ с ТИМ<sub>ср</sub> и ТИМ<sub>макс</sub> у всех пациентов (n=176)

Показатель	ПОП ЭГ	
	Коэффициент корреляции	p
ТИМ <sub>ср</sub>	0,23	p=0,002
ТИМ <sub>макс</sub>	0,26	p<0,001

У пациентов с выявленным стенозирующим атеросклерозом СА также выявлена положительная корреляционная связь ПОП ЭГ с  $TIM_{cp}$ ,  $TIM_{max}$  и макс % стеноза (таблица 11).

Таблица 11 - Корреляционная связь величины ПОП ЭГ с  $TIM_{cp}$ ,  $TIM_{max}$  и макс % стеноза у пациентов с атеросклеротическим поражением СА (n=79)

Показатель	ПОП ЭГ	
	Коэффициент корреляции	p
$TIM_{cp}$	0,28	p=0,01
$TIM_{max}$	0,32	p=0,005
Макс % стеноза	0,25	p=0,02

Взаимосвязи между величиной ПОП ЭГ и  $TIM_{cp}$ ,  $TIM_{max}$  у пациентов без АСБ в СА не выявлено.

Пациенты с выявленным стенозирующим атеросклерозом СА при сравнении с пациентами без атеросклеротического поражения СА характеризовались достоверно большей величиной ПОП ЭГ (1,95 [1,80-2,06] мкм vs 1,85 [1,73-1,96] мкм, p=0,04).

### **3.3.2 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса с параметрами, характеризующими жесткость магистральных артерий и аорты у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза**

Жесткость магистральных артерий с расчетом СЛСИ была измерена у всех пациентов группы (n=177), а жесткость аорты с расчетом  $CRPW_{kf}$  измерена у 94% пациентов (n=167).

Значения СЛСИ были в пределах от 4,8 до 10,1, медианное значение составило 7,7 [7,0-8,3]. При анализе результатов измерения СЛСИ с учетом половозрастных норм [15], превышение 90%, свидетельствующее о повышенной жесткости магистральных артерий, отмечалось у 15,8% (n=28) пациентов.

Выявлена корреляционная зависимость между СЛСИ и ПОП ЭГ ( $r=0,27$ ;  $p<0,001$ ).

Пациенты с жесткими магистральными артериями имели достоверно большее значение ПОП ЭГ по сравнению с пациентами с нормальной жесткостью артерий (2,01 [1,94-2,18] мкм vs 1,85 [1,73-1,99] мкм,  $p<0,001$ ).

Значения СРПВ<sub>кф</sub> были в пределах от 5,7 до 13,5 м/с, медианное значение составило 8,4 [7,4-9,4] м/с. Корреляционный анализ не выявил взаимосвязи между ПОП ЭГ и СРПВ<sub>кф</sub>. Значения ПОП ЭГ не имели достоверных различий у пациентов с нормальной жесткостью аорты по сравнению с пациентами, имеющими повышенную жесткость (1,88 [1,76-2,01] мкм vs 1,85 [1,78-2,02] мкм,  $p>0,05$ ).

Таким образом, между величиной ПОП ЭГ и СЛСИ существует положительная связь. Взаимосвязи между СРПВ<sub>кф</sub> и ПОП ЭГ не выявлено.

### **3.3.3 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса с параметрами микроциркуляции кожи в состоянии покоя и в функциональной пробе с артериальной окклюзией у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза**

В таблице 12 приведены значения параметров, отражающие функциональное состояние микрососудистого русла кожи, полученные при «базальном» состоянии перфузии и в функциональной пробе с артериальной окклюзией.

Таблица 12 - Характеристика микроциркуляции кожи в покое и в функциональной пробе с артериальной окклюзией

Показатель	Все пациенты (n=177)
ПМ (пф.ед.)	3,7 [2,6-5,2]
$\sigma$ (пф.ед.)	0,5 [0,4-0,8]
Kv (%)	13,6 [10,2-18,8]
ПМ <sub>окл</sub> (пф.ед.)	0,4 [0,3-0,6]
ПМ <sub>макс</sub> (пф.ед.)	17,3 [13,4-22,9]
$\Delta$ ПМ (%)	441 [336-591]
T <sub>макс</sub> (сек)	28,1 [20,6-36,9]
T <sub>1/2</sub> (сек)	58,0 [41,3-70,6]



При корреляционном анализе выявлена отрицательная связь параметра ПОП ЭГ с коэффициентом вариации ( $K_v$ ) ( $r=-0,16$ ,  $p=0,03$ ) и уровнем прироста перфузии в пробе с артериальной окклюзией ( $\Delta ПМ$ ) ( $r=-0,15$ ,  $p=0,04$ ). Выявлена положительная связь параметра ПОП ЭГ со временем достижения максимального уровня перфузии после декомпрессии манжеты в пробе с артериальной окклюзией ( $T_{\text{макс}}$ ) ( $r=0,16$ ,  $p=0,04$ ) и временем полувосстановления ( $T_{1/2}$ ) ( $r=0,18$ ,  $p=0,01$ ) (таблица 13).

Таблица 13 - Корреляционная связь величины ПОП ЭГ с параметрами микроциркуляции кожи у всех пациентов ( $n=177$ )

Показатель	ПОП ЭГ	
	Коэффициент корреляции	p
$K_v$	-0,16	$p=0,03$
$\Delta ПМ$	-0,15	$p=0,04$
$T_{\text{макс}}$	0,16	$p=0,04$
$T_{1/2}$	0,18	$p=0,01$

Взаимосвязей ПОП ЭГ с другими параметрами, характеризующими микроциркуляцию кожи в покое и в функциональной пробе с артериальной окклюзией, не выявлено.

### **3.3.4 Изучение взаимосвязи величины пограничной область перфузии эндотелиального гликокаликса с поток-зависимой вазодилатацией плечевой артерии у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза**

Медианное значение ПЗВД ПА составило 9,5 [6-13,1] %, при этом у 24% ( $n=43$ ) пациентов было выявлено нарушение вазомоторной функции эндотелия. Корреляционный анализ не выявил взаимосвязей между ПЗВД ПА и ПОП ЭГ ( $r=-0,086$ ,  $p=0,25$ ).

Различий по значениям ПОП ЭГ у пациентов с сохранной вазодилатирующей функцией эндотелия плечевой артерии и у пациентов с ДЭ не выявлено (таблица 14).

Таблица 14 - Сравнение значений ПОП ЭГ у пациентов с дисфункцией эндотелия и у пациентов с сохранной функцией эндотелий

ПОП ЭГ (мкм)		р
Пациенты с дисфункцией эндотелия (n=43)	Пациенты с сохранной функцией эндотелия (n=134)	
1,92 [1,80-2,05]	1,87 [1,74-2,03]	0,44

**3.3.5 Изучение взаимосвязи величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса и уровнем биохимических маркеров липидного и углеводного обменов, маркеров эндотелиальной функции у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза**

При проведении корреляционного анализа взаимосвязи между параметром ПОП ЭГ и уровнем интерлейкина-6, эндотелина 1-21, NOx не выявлено (таблица 15).

Таблица 15 - Корреляционная связь величины ПОП ЭГ с биохимическими маркерами сосудистого эндотелия у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза (n=177)

Показатель	ПОП ЭГ	
	Коэффициент корреляции	р
Интерлейкин-6	0,004	р=0,96
Эндотелин 1-21	0,009	р=0,90
NOx	-0,015	р=0,13

При анализе взаимосвязей между параметром ПОП ЭГ и уровнем показателей липидного и углеводного обменов выявлена обратная корреляция ПОП ЭГ только с уровнем апоА1 ( $r=-0,19$ ,  $p<0,001$ ).

**3.4 Определение порогового значения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса, ассоциированного с наличием морфофункциональных отклонений микроциркуляторного русла кожи и в стенках артерий у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза, а также с ишемической болезнью сердца у всех обследованных пациентов в возрасте 40-65 лет**

Для данной задачи в исследование дополнительно был включен 31 пациент с ИБС и верифицированным по КАГ гемодинамически значимым атеросклерозом коронарных артерий.

Таким образом, группа была увеличена до 208 человек в возрасте от 40 до 65 лет (медиана 55 лет) различного ССР. Клиническая характеристика группы представлена в таблице 16.

Таблица 16 - Клиническая характеристика участников исследования (n=208)

Параметр	Значение
Демографические параметры	
Возраст (лет)	55 [48-60]
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> )	27 [24,5-29,7]
Мужской пол, % (n)	59,1% (123)
Артериальная гипертензия, % (n)	57,7% (120)
ИБС, % (n)	14,9% (31)
Курение, % (n)	32,7% (68)
Параметры инструментальных исследований	
ЧСС (уд в мин)	62,5 [58-71]
САД (мм рт. ст.)	130 [122-144]
ДАД (мм рт. ст.)	80 [80-90]
ПАД (мм рт. ст.)	50 [42-58]
ПОП ЭГ (мкм)	1,90 [1,75-2,04]
Биохимические параметры	
ОХС (ммоль/л)	6,0 [5,3-6,9]
ТГ (ммоль/л)	1,2 [0,9-1,7]
ХС ЛНП (ммоль/л)	4,3 [3,6-5,1]
ХС ЛВП (ммоль/л)	1,0 [0,8-1,2]
АпоА1 (мг/дл)	150 [135-170]

Продолжение таблицы 16

Глюкоза (ммоль/л)	5,1 [4,7-5,5]
Инсулин (мкЕд/мл)	8,1 [5,8-11,5]
НОМА-IR	1,8[1,2-2,6]
вчСРБ (мг/л)	2,9 [1,8;4,5]
Интерлейкин-6 (фмоль/мл)	1,0[0-2,1]
Креатинин (мкмоль/л)	86 [76-96]

Цифры «клинического» АД были в пределах нормальных значений и составили: САД – 130 [122-144] мм рт. ст., ДАД – 80 [80-90] мм рт.ст., ПАД – 50 [42-58] мм рт.ст., несмотря на то, что у 57,7% пациентов была диагностирована АГ. В целом, группа характеризовалась липидным профилем, сдвинутым в сторону атерогенности, с уровнем общего холестерина 6 ммоль/л и ХС ЛНП 4,3 ммоль/л и ХС ЛВП 1,0 ммоль/л. Уровень апоА1, структурного белка липопротеинов высокой плотности, составил 150 мг/дл. Маркеры углеводного обмена – глюкоза и инсулин - в группе составили 5,1 ммоль/м и 8,1 мкЕд/мл, соответственно. В результате, индекс инсулинорезистентности, рассчитанный по данным параметрам, не превысил норму НОМА-IR – 1.8. Уровень вчСРБ - маркера воспаления – составил 2,9 мг/дл. Уровень интерлейкин-6 составил 1 пг/мл. Скорость клубочковой фильтрации, рассчитанная по клиренсу креатинина, была 106 мл/мин.

Медианное значение параметра ПОП ЭГ в группе составило 1,90 мкм [1,75-2,04] и не различалось у мужчин и женщин.

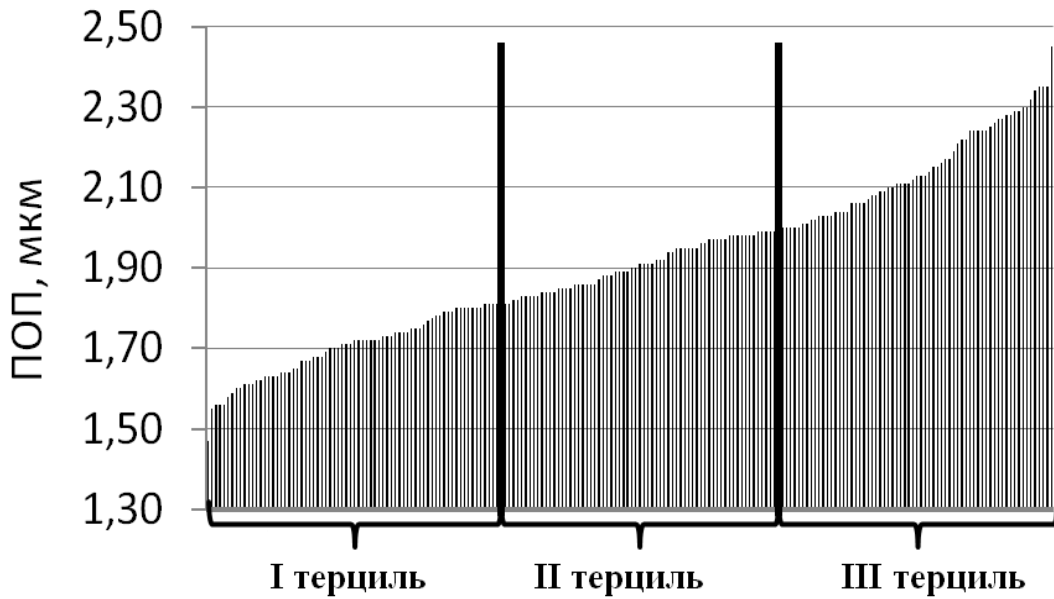
У 14,9% обследованных (n=31; 26 мужчин и 5 женщин) верифицирован диагноз ИБС. Из них 14 человек принимали статины не менее 1 месяца до момента взятия крови на анализ.

Выявлено, что прием статинов у пациентов с ИБС был сопряжен со снижением ПОП ЭГ ((1,86±0,20 (n=14) vs 2,05±0,22 (n=17)). При сопоставлении параметров ТИМ<sub>ср</sub>, ТИМ<sub>макс</sub>, СЛСИ в группах относительно терапии статинами различий не выявлено.

С целью поиска пограничных значений ПОП ЭГ, ассоциированных с ухудшением морфофункционального состояния сосудов микроциркуляторного и

магистрального кровотока, клиническими проявлениями сердечно-сосудистой патологии, а также биохимическими параметрами, группу ранжировали по возрастанию величины ПОП ЭГ и разделили на терцили, при этом границы терцилей пролегли по значениям ПОП ЭГ в 1,81 и 2 мкм (рисунок 5).

Рисунок 5 - Ранжирование пациентов по величине ПОП ЭГ и определение границ терцилей



Статистически анализ выявил, что терциль III (характеризующийся ПОП ЭГ >2 мкм) отличался от терциля II и I по ряду параметров (таблица 17) в сторону ухудшения, в связи с чем значение параметра ПОП ЭГ=2 мкм, было принято пороговым для изучения рисков наличия признаков сердечно-сосудистой патологии.

Таблица 17 - Сравнительная характеристика инструментальных и биохимических параметров в терцилях, ранжированных по величине пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса (критерий Крускала—Уоллиса)

Параметр	I терциль (n=69) ПОП $\leq$ 1,81мкм	II терциль (n=69) 1,81мкм $\leq$ ПОП $\leq$ 2,00мкм	III терциль (n=70) ПОП $>$ 2,00 мкм
Возраст (лет)	53 [48-58]	55 [45-60]	56 [51-62]
Биохимические параметры			
апоА1 (мг/дл)	157 [143-176] <sup>1-3</sup> <sub>3</sub>	152 [137-174] <sup>2-3</sup>	143 [130-154]
Клинико-инструментальные параметры			
САД (мм рт.ст.)	130 [122-140]	128 [120-142] <sup>2-3</sup>	140 [125-146]
ПАД (мм рт. ст.)	50 [42-56] <sup>1-3</sup>	50 [42-54] <sup>2-3</sup>	52 [46-62]
ТИМ <sub>макс</sub> (мм)	0,8 [0,7-1] <sup>1-3</sup>	0,9 [0,7-1,1] <sup>2-3</sup>	1,0 [0,8-1,2]
ТИМ <sub>ср</sub> (мм)	0,8 [0,7-0,95] <sup>1-3</sup>	0,8 [0,7-1] <sup>2-3</sup>	0,95 [0,79-1,1]
Макс % стеноза (%)	26,8 $\pm$ 6,3	32,7 $\pm$ 15,6	32 $\pm$ 10,3
СЛСИ	7,6 [7,0-8,2] <sup>1-3</sup>	7,6 [7,0-8,2] <sup>2-3</sup>	8,3 [7,5-8,9]
T <sub>макс</sub> (сек)	28 [20-34] <sup>1-3</sup>	27 [21-37] <sup>2-3</sup>	34 [26-46]
T <sub>1/2</sub> (сек)	56 [37-71] <sup>1-3</sup>	62 [38-85]	66 [51-85]

Примечания: <sup>1-3</sup> – статистически значимые различия (p<0,05) между I и III терцилем, <sup>1-2</sup> – между I и II терцилем.

По параметрам: ИМТ, ОТ, ЧСС, ДАД, СРПФ<sub>кф</sub>, ПЗВД ПА, ПМ<sub>исх</sub>, ПМ<sub>окл</sub>, ПМ<sub>макс</sub>,  $\Delta$ ПМ, ОХС, ТГ, ХС ЛВП, ХС ЛНП, глюкоза, инсулин, вчСРБ, ЛП (а), апоВ, креатинин, НОМА-IR, эндотелин, интерлейкин 6, NO<sub>x</sub> не было выявлено различий между терцилями, ранжированными по параметру ПОП ЭГ.

Выполнена оценка эффективности порогового значения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в отношении шансов наличия ишемической болезни сердца среди всех обследованных пациентов.

Выявлено, что при превышении ПОП ЭГ $>$ 2 мкм шанс наличия ИБС среди всех пациентов исследования повышается практически в 2,5 раза (ОШ=2,42; 95% ДИ=1,12–5,27; p=0,0001).

Таким образом, установлено, что для всех участников, вошедших в исследование, значение параметра ПОП ЭГ 2 мкм является критическим,

превышение которого ассоциировано с увеличением шансов наличия ИБС, а также с ухудшением морфофункционального состояния стенок артерий различных локализаций, сосудов микроциркуляторного русла.

### **3.5 Оценка эффективности порогового значения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в отношении шансов наличия высокого сердечно-сосудистого риска по шкале SCORE, структурно-функциональных изменений магистральных артерий и микроциркуляторного русла у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза**

Эффективность порогового значения ПОП ЭГ (2 мкм), установленного в главе 3.4. и являющегося границей 3 терциля, в отношении шансов наличия высокого ССР оценивали на группе лиц без клинических проявлений атеросклероза, исходно стратифицированных по шкале SCORE. Оценку эффективности порогового значения ПОП ЭГ проводили также по ряду параметров, являющихся маркерами высокого ССР. Среди них параметры структурно-функциональных изменений магистральных артерий (ТИМ<sub>ср</sub>, ТИМ<sub>макс</sub>, макс % стеноза, СЛСИ, СРПВ<sub>кф</sub>, ПЗВД ПА) и микроциркуляторного русла (ПМ,  $\sigma$ , Kv, ПМ<sub>исх</sub>, ПМ<sub>окл</sub>, ПМ<sub>макс</sub>,  $\Delta$ ПМ, T<sub>макс</sub>, T<sub>1/2</sub>).

#### **3.5.1 Оценка эффективности порогового значения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в отношении шансов наличия пациентов высокого сердечно-сосудистого риска по шкале SCORE**

Выявлено, что в группе лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза при превышении ПОП ЭГ >2 мкм шанс наличия пациентов высокого ССР по шкале SCORE ( $\geq 5\%$ ) в 2,5 раза выше, чем при значениях параметра ПОП ЭГ  $\leq 2$  мкм (ОШ=2,45; 95% ДИ=1,27-4,74; p=0,007).

Таким образом, величина ПОП ЭГ более 2 мкм связана с повышенным риском сердечно-сосудистой смерти в течение 10 лет по шкале SCORE.

### 3.5.2 Оценка эффективности порогового значения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в отношении атеросклеротических изменений стенок сонных артерий у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза

Атеросклеротические изменения стенок СА определяли по наличию или отсутствию АСБ, по параметрам  $TIM_{cp}$ ,  $TIM_{max}$  и макс % стеноза. При выявлении хотя бы одной АСБ по данным ДС СА верифицировали стенозирующий атеросклероз СА и рассчитывали макс % стеноза.

Выявлена взаимосвязь порогового значения ПОП ЭГ с наличием и степенью атеросклеротических изменений СА.

Так, превышение порогового значения параметра ПОП ЭГ, было связано с двукратным увеличением шансов наличия стенозирующего атеросклероза СА (ОШ=2,07; 95% ДИ=1,08-3,94;  $p=0,02$ ).

При значениях ПОП ЭГ  $>2$  мкм наблюдалось более выраженное атеросклеротическое ремоделирование сосудистой стенки СА. Так, значения  $TIM_{cp}$  и  $TIM_{max}$  были выше у пациентов с величиной ПОП ЭГ  $>2$  мкм (таблица 18).

Таблица 18 - Сравнение  $TIM_{cp}$  и  $TIM_{max}$  у пациентов с ПОП ЭГ  $\leq 2$  мкм и пациентов с ПОП ЭГ  $>2$  мкм

Показатель	ПОП ЭГ $\leq 2$ мкм (n=120)	ПОП ЭГ $>2$ мкм (n=56)	p
$TIM_{cp}$ (мм)	0,8 [0,7-1,0]	1,0 [0,8-1,1]	$<0,01$
$TIM_{max}$ (мм)	0,8 [0,7-1,0]	1,0 [0,8-1,2]	$<0,001$

У пациентов со стенозирующим атеросклерозом СА в отношении макс % стеноза пороговое значение ПОП ЭГ оказалось незначимым. Так, у пациентов с величиной ПОП ЭГ  $>2$  мкм (n=32) по сравнению с группой пациентов с ПОП ЭГ  $\leq 2$  мкм (n=47) значения макс % стеноза не различались ( $30\pm 10\%$  vs  $28\pm 10\%$ ,  $p=0,14$ ).



Таким образом, превышение порогового значения ПОП ЭГ связано с двукратным увеличением шансов наличия стенозирующего атеросклероза СА, а также с более выраженным атеросклеротическим ремоделированием стенок СА, выражающимся в увеличении ТИМ.

### 3.5.3 Оценка эффективности порогового значения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в отношении повышенной жесткости магистральных артерий и аорты у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза

Жесткость магистральных артерий оценивали по параметру СЛСИ. Жесткими считали артерии в случае превышения СЛСИ 90% половозрастной нормы. Жесткость аорты оценивали по параметру СРПВ<sub>кф</sub>. Повышенную жесткость аорты констатировали в случае превышения СРПВ<sub>кф</sub> 90% возрастной нормы с поправкой на уровень АД.

Пороговое значение параметра ПОП ЭГ (2 мкм) оказалось значимым в отношении истинной жесткости магистральных артерий, рассчитанной по параметру СЛСИ. Пациенты с величиной ПОП ЭГ >2 мкм имели достоверно большие значения СЛСИ, по сравнению с пациентами у которых значение ПОП ЭГ не превышало 2 мкм (рисунок 6).

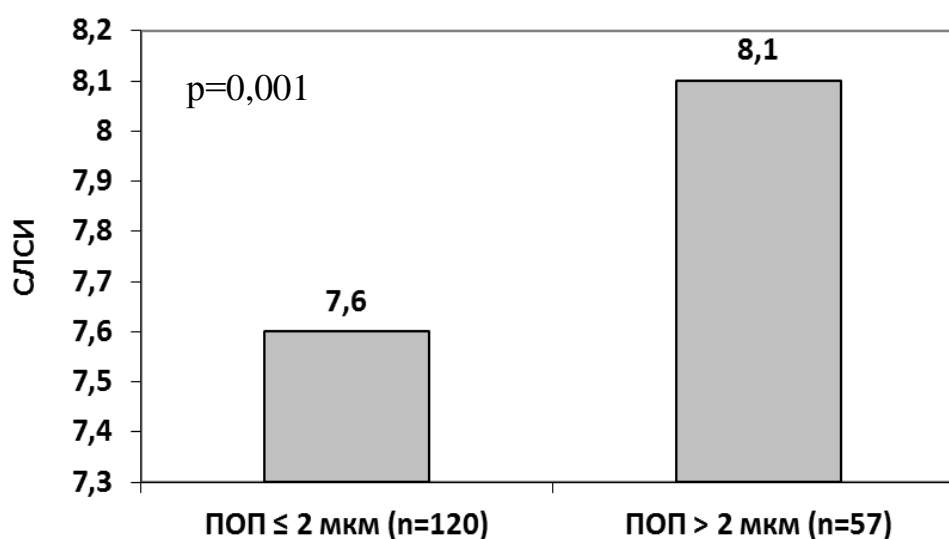


Рисунок 6 - Сравнение значений СЛСИ у пациентов с ПОП ЭГ ≤2 мкм и у пациентов с ПОП ЭГ >2 мкм

В логистической регрессионной модели пороговое значение ПОП ЭГ (2 мкм), было связано с увеличением в 3,5 раза шансов наличия повышенной жесткости магистральных артерий выше возрастной нормы (ОШ=3,51; 95% ДИ=1,53-8,05;  $p=0,003$ ).

При оценке эффективности порогового значения ПОП ЭГ в отношении нарушений эластических свойств аорты закономерностей, выявленных для СЛСИ, не обнаружено. Пациенты с величиной ПОП ЭГ  $>2$  мкм не отличались по СРПВ<sub>кф</sub> от пациентов с ПОП ЭГ  $\leq 2$  мкм. Одинаковые шансы наличия повышенной жесткости аорты имели как пациенты с ПОП ЭГ  $>2$  мкм, так и пациенты с ПОП ЭГ  $\leq 2$  мкм.

Таким образом, превышение порогового значения ПОП ЭГ ассоциировано со снижением эластичности магистральных артерий и увеличением в 3,5 раза шансов наличия жесткости магистральных артерий выше возрастной нормы. В отношении жесткости стенок аорты пороговое значение ПОП ЭГ не эффективно.

#### **3.5.4 Оценка эффективности порогового значения пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса в отношении нарушений микроциркуляторного кровотока кожи у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза**

Микроциркуляторный кровоток оценивали в покое и при выполнении дилататорной функциональной пробы с артериальной окклюзией, позволяющей выявить скрытые нарушения микрогемодинамики и определить адаптационные резервы системы микроциркуляции. Кровоток в покое анализировали по параметрам: уровень перфузии (ПМ), среднее колебание ПМ ( $\sigma$ ) и коэффициент вариации ( $K_v$ ). В пробе с артериальной окклюзией оценивали следующие параметры: ПМ<sub>исх</sub> - среднее значение ПМ до окклюзии; ПМ<sub>окл</sub> - значение ПМ в процессе окклюзии, ПМ<sub>макс</sub> - максимальное значение ПМ при реактивной гиперемии,  $\Delta$ ПМ - уровень прироста перфузии,  $T_{\text{макс}}$  - время от декомпрессии окклюзионной манжеты до достижения ПМ<sub>макс</sub>. и  $T_{1/2}$  - время полувосстановления.

При анализе параметров микроциркуляторного кровотока эффективность порогового значения ПОП ЭГ выявлена только в отношении параметров  $PM_{\max}$  и  $T_{\max}$ , характеризующих дилататорный резерв и реактивность микроциркуляторного русла (таблица 19).

Таблица 19 - Сравнение параметров микроциркуляции кожи в покое и при функциональной пробе с артериальной окклюзией у пациентов с ПОП ЭГ  $\leq 2$  мкм и пациентов с ПОП ЭГ  $> 2$  мкм

Показатель	ПОП ЭГ $\leq 2$ мкм (n=120)	ПОП ЭГ $> 2$ мкм (n=56)	p
PM (пф.ед.)	3,7 [2,6-5,3]	3,7 [2,9-5,0]	н/д
$\sigma$ (пф.ед.)	0,5 [0,4-0,8]	0,5 [0,3-0,7]	н/д
Kv (%)	14,0 [10,4-20,1]	12,1 [10,0-17,8]	н/д
$PM_{\text{окл}}$ (пф.ед.)	0,4 [0,3-0,6]	0,4 [0,2-0,6]	н/д
$PM_{\max}$ (пф.ед.)	18,5 [13,6-23,9]	15,7 [13,3-19,0]	0,04
$\Delta PM$ (%)	450,6 [339,6-637,3]	438,7 [295,7-536,1]	н/д
$T_{\max}$ (сек)	27,0 [20,2-33,9]	31,6 [22,0-43,1]	0,03
$T_{1/2}$ (сек)	56,8 [37,4-69,1]	58,7 [43,9-74,8]	н/д

Выявлено, что лица с ПОП ЭГ  $> 2$  мкм имели достоверно меньшее значение  $PM_{\max}$  (15,7 [13,3-19,0] пф.ед. vs 18,5 [13,6-23,9] пф.ед.,  $p=0,04$ ) и большее значение  $T_{\max}$  (31,6 [22,0-43,1] секунд vs 27,0 [20,2-33,9] секунд,  $p=0,03$ ).

Таким образом, выявлена эффективность порогового значения ПОП ЭГ=2 мкм для параметров, характеризующих адаптационные резервы микроциркуляторного русла. Повышенное значение ПОП ЭГ связано со снижением дилататорного резерва и реактивности микроциркуляторного русла.

### 3.5.5 Оценка эффективности порогового значения пограничной области перфузии в отношении вазодвигательной функции эндотелия плечевой артерии, биохимических маркеров сосудистого эндотелия, углеводного и липидного обменов у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза

В отношении вазомоторной функции эндотелия плечевой артерии пороговое значение ПОП ЭГ (2 мкм) эффективности не продемонстрировало. Так, значимых различий ПЗВД ПА у лиц с величиной ПОП ЭГ  $>2$  мкм по сравнению с лицами с ПОП ЭГ  $\leq 2$  мкм не выявлено (10,3 [6,0-13,9] % vs 9,1 [5,7-12,0] %,  $p=0,42$ ).

В логистической регрессионной модели превышение порогового значения ПОП ЭГ не было связано с увеличением шансов наличия ДЭ плечевой артерии (ОШ=1,34; 95% ДИ=0,65-2,75;  $p=0,80$ ).

Среди всего ряда биохимических параметров углеводного и липидного обменов, биохимических маркеров сосудистого эндотелия пороговое значение ПОП ЭГ оказалось значимым только в отношении апоА1. Выявлено закономерное снижение концентрации антиатерогенного апоА1 при значениях ПОП ЭГ  $>2$  мкм (рисунок 8).

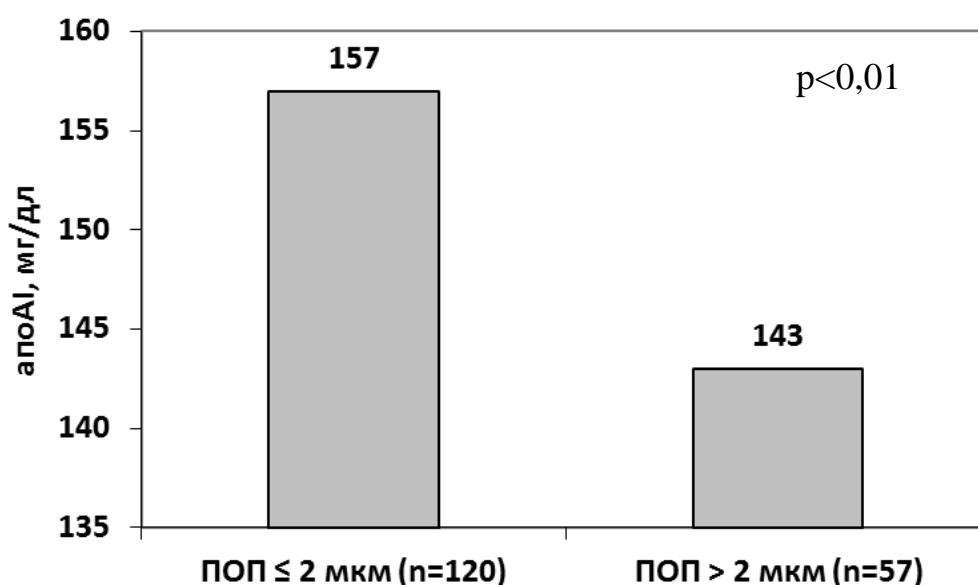


Рисунок 8 - Сравнение концентрации апоА1 у пациентов с ПОП ЭГ  $\leq 2$  мкм и у пациентов с ПОП ЭГ  $>2$  мкм

## **ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ**

БСК в Российской Федерации остаются основными причинами смертности, определяя 56,8% от общего количества смертей [13].

Разработанные шкалы стратификации ССР зачастую недооценивают истинного риска развития сердечно-сосудистых осложнений и ССЗ [31].

Поэтому, существующий разрыв между количеством предсказанных ССЗ (с использованием различных шкал стратификации риска, сосудистых маркеров) и реально произошедших случаев ССЗ и их осложнений определяет необходимость поиска новых биомаркеров – дополнительного инструмента для стратификации ССР пациента на индивидуальном уровне [103].

Рассматривая ЭГ с позиции потенциального нового инструмента стратификации ССР и используя современные инструментальные разработки, мы изучили состояние ЭГ по ПОП у пациентов различного ССР, его взаимосвязь со структурно-функциональными характеристиками сосудов различного калибра, биохимическими параметрами. Выполнение перечисленных задач обусловило понимание клинико-диагностической перспективы использования ПОП ЭГ как предиктора развития ССЗ.

### **Валидация метода измерения ПОП ЭГ**

На первом этапе исследовательской работы выполнена валидация нового метода изучения ЭГ. Измерение параметра ПОП ЭГ осуществлялось с использованием прибора Glucocheck®VHM, подробный алгоритм работы которого описан в главе 2.

Устройство обеспечивает визуализацию и обработку получаемых видеоизображений в автоматическом режиме, с расчетом ПОП ЭГ; формирует отчет о выполненном исследовании в виде текстовых и графических файлов. Продолжительность обследования на аппарате Glucocheck®VHM с подготовкой больного, вводом паспортных данных и получением заключения не превышала 15 минут. Результаты нашей работы свидетельствуют о хорошей переносимости пациентами исследования микроциркуляторного русла, никаких побочных

реакций не выявлено. Реализуемость данного метода исследования ЭГ составила 95 %. Ограничениями, лимитировавшими выполнение капилляроскопического исследования, послужили тремор рук и нижней челюсти, при этом никаких побочных реакций у испытуемых после исследований не выявлено.

Изучена воспроизводимость значений ПОП ЭГ в зависимости от области сублингвальной локализации, в которой проводили измерение, и временных интервалов между измерениями.

Средний коэффициент вариации между значениями ПОП ЭГ, зафиксированными слева и справа от уздечки языка, составил 6,0 %. Полученные нами данные согласуются с результатами работы Fouad Amraoui и соавторов, которые продемонстрировали, что при пяти последовательных измерениях ПОП ЭГ в 4-х различных квадрантах подъязычной области средний коэффициент вариации составляет 11,9% [19].

Рассчитанные коэффициенты вариации свидетельствуют о незначительной вариабельности и высокой воспроизводимости последовательно полученных значений ПОП ЭГ в различных областях сублингвальной локализации. Основываясь на полученных данных, сделан вывод, что выбор области сублингвальной локализации для проведения исследования (справа или слева от уздечки языка) не имеет принципиального значения, а для расчета ПОП ЭГ достаточно одного исследования. Однако, с целью повышения достоверности получаемых данных, принимая во внимание опыт других исследователей, мы рекомендуем проведение двух последовательных исследований, с расчетом среднего значения ПОП ЭГ для каждого обследуемого.

При изучении воспроизводимости значений ПОП ЭГ в зависимости от длительности временных интервалов между измерениями (через 15, 30, 60 минут и 24 часа) выявлено, что межсерийный коэффициент вариации не превышал 10%. Учитывая выявленную отличную межсерийную воспроизводимость как внутри суток, так и при временном интервале в 24 часа, мы пришли к выводу, что для расчета ПОП ЭГ нет необходимости в выполнении повторных циклов исследований через различные интервалы времени.

При сравнении значений ПОП ЭГ у здоровых добровольцев мужского и женского пола различий не выявлено.

Таким образом, результаты валидации свидетельствуют о высокой воспроизводимости измерений ПОП ЭГ, которые не зависят от а) области сублингвальной локализации и б) временных интервалов между измерениями. Также выявлено, что измеряемый параметр не связан с полом у здоровых добровольцев. Неинвазивность, оптимальная трудо- и времязатратность, удовлетворительная переносимость данного метода определяют возможность проведения исследований на больших когортах.

### **Взаимосвязь ПОП ЭГ с суммарным ССР по шкале SCORE и отдельными факторами ССР**

Необходимость учета функции эндотелия в стратификации ССР не вызывает сомнений. Известно, что факторы ССР, влияя на структуру и функцию сосудистого эндотелия (иначе говоря, вызывая дисфункцию эндотелия), способствуют развитию ССЗ [15]. ЭГ, являющийся неотъемлемым компонентом сосудистого русла, также подвержен влиянию факторов ССР. Однако результаты научных исследований о суммарном и индивидуальном влиянии факторов ССЗ на состояние ЭГ (оцениваемого по величине ПОП ЭГ) противоречивы.

Настоящее исследование является первым, в котором изучена взаимосвязь ПОП ЭГ с уровнем ССР по шкале SCORE и факторами риска данной шкалы. В работе Fouad Amraoui и соавторов, выполненной с использованием аналогичного метода оценки ЭГ, взаимосвязи между ЭГ и суммарным ССР по Фрамингемской шкале не выявлено [19]. Также авторам не удалось выявить взаимосвязей между величиной ПОП ЭГ и отдельными факторами риска (курение, артериальная гипертония, ожирение), уровнем САД, ОХС, ХСЛВП, ХСЛНП. Заявление авторов данной статьи о том, что определение величины ПОП ЭГ не может способствовать стратификации ССР, является поспешным, так как данное исследование имело ряд ограничений. Во-первых, до 33% участников отдельных групп находились на терапии статинами, а во-вторых, часть пациентов страдали

сахарным диабетом, что могло существенно повлиять на результаты исследования. В связи с этим, у всех пациентов настоящего исследования исключался сахарный диабет, а пациенты, стратифицированные по SCORE, никогда не принимали статины.

Выявлена взаимосвязь между величиной ПОП ЭГ и суммарным ССР по шкале SCORE. Пациенты высокого ССР по шкале SCORE характеризовались ЭГ, который в меньшей степени ограничивал контакт эритроцитов с люминальной поверхностью ЭК, в отличие от пациентов низкого ССР. В тоже время взаимосвязей между состоянием ЭГ и отдельными факторами, определяющими суммарный риск по шкале SCORE не выявлено (возраст, пол, САД, ОХС, ХСЛВП, курение). Вероятно, ПОП ЭГ, характеризуя протективные свойства ЭГ, отражает суммарный вклад факторов риска, общий ССР, а не результат действия одного определенного фактора риска.

В отношении связи ПОП ЭГ с другими традиционными факторами ССР, не входящими в шкалу SCORE, выявлена взаимосвязь только с АГ. Так у пациентов с АГ состояние ЭГ характеризовалось большим значением ПОП ЭГ по сравнению с пациентами без АГ. При этом длительность течения АГ усугубляла состояние ЭГ. Выявленная нами взаимосвязь ПОП ЭГ с АГ согласуется с результатами работ других исследователей [92; 93; 51]. Возможной причиной повреждения и деградации ЭГ при хронической гипертензии является дисбаланс между усиленным окислительным стрессом и сниженной продукцией веществ, нейтрализующих активные формы кислорода [88].

Взаимосвязей между величиной ПОП ЭГ и такими факторами ССР, как ожирение, абдоминальное ожирение, дислипидемия, гипергликемия натощак, повышение уровня вчСРБ более 3 мг/дл, отягощенный наследственный анамнез, употребление алкоголя с риском вредных последствий, повышение СРПВ<sub>кф</sub> более 10 м/сек не выявлено.

Таким образом, мы заключаем, что состояние ЭГ, оцениваемое по ПОП ЭГ, связано с суммарным ССР по шкале SCORE и может служить в качестве потенциального маркера ССР. Однако, для определения прогностической



значимости оценки величины ПОП ЭГ в стратификации ССР требуется проведение проспективных исследований. АГ и ее длительность ассоциированы с повреждением ЭГ.

### **Взаимосвязь ПОП ЭГ с морфофункциональными характеристиками стенок артерий и микроциркуляторного русла**

Накапливается все больше данных, свидетельствующих, что деграция и модификация ЭГ являются одними из самых ранних изменений в патогенезе сосудистых заболеваний [89]. Обсуждается гипотеза первостепенного значения дисфункции ЭГ в развитии атеротромбоза [70].

Однако работ посвященных изучению взаимосвязи ЭГ, характеризуемого ПОП ЭГ, с состоянием сосудов различных бассейнов нет, что возможно связано с новизной методики.

Нами впервые выполнено одномоментное исследование по оценке взаимосвязи маркера ЭГ с морфофункциональными характеристиками сосудов различного калибра. Важной особенностью нашего исследования стало изучение ЭГ у лиц, не имеющих клинических проявлений заболеваний, связанных с атеросклерозом. Данное обстоятельство делает возможным проведение проспективной части исследования, с целью оценки предикторных свойств ЭГ в развитии осложнений связанных с развитием и прогрессированием атеросклероза.

### **Взаимосвязь ПОП ЭГ с состоянием стенок сонных артерий**

В опытах на животных было продемонстрировано, что деграция ЭГ, вызванная стимулами различного генеза, способствует атеросклеротическому поражению СА [66]. Несмотря на то, что авторам в данных работах не удалось установить точного механизма участия ЭГ в развитии атеросклероза, было продемонстрировано, что ЭГ является важным регулятором атеросклеротического поражения артерий, а нарушение его барьерных свойств способствует прогрессированию атеросклероза.

Результаты настоящей работы также свидетельствуют, что между состоянием ЭГ и параметрами, характеризующими состояние СА, а также с фактом наличия

атеросклеротического поражения данного сосудистого бассейна существует взаимосвязь. Так, параметр ПОП ЭГ имел прямую корреляционную связь с  $\text{TИМ}_{\text{макс}}$  и  $\text{TИМ}_{\text{ср}}$ , а пациенты с выявленными АСБ в СА имели достоверно большую величину ПОП ЭГ.

В последние годы появился ряд работ, посвященных проблемам нарушений в системе микроциркуляторного русла при атеросклерозе. Клиническую значимость исследований в данном направлении переоценить сложно, потому что именно сосуды микроциркуляции первыми вовлекаются в патологические процессы и в большинстве случаев являются основной «мишенью» для различных фармакологических препаратов.

В качестве одной из возможных причин развития и прогрессирования атеросклеротического поражения магистральных сосудов (СА, коронарных артерий) рассматриваются нарушения в системе *vasa-vasorum* [53; 110], которая по своим морфофункциональным характеристикам является типичным представителем системы микроциркуляции. Проведенные А.С. Barger и соавторами исследования показали, что существует выраженная корреляция между нарушениями в системе *vasa-vasorum* и прогрессированием атеросклероза [21]. Возможным механизмом, обуславливающим развитие атеросклероза, является нарушение обменной функции эндотелия на уровне микроциркуляторного русла, в том числе и в системе *vasa-vasorum*.

Учитывая, что ЭГ представлен в каждом сегменте сосудистого русла (включая системы микроциркуляции и *vasa-vasorum*), его участие в развитии атеросклероза СА (как и других артериальных сосудов) может быть обусловлено следующими механизмами.

Во-первых, это нарушение протекторных свойств ЭГ интимы. Вероятно, что нарушение барьерных свойств ЭГ, выстилающего интиму артериального сосуда, способствует субэндотелиальному накоплению липопротеинов низкой плотности, адгезии и трансэндотелиальной миграции лейкоцитов в участках артерий с наиболее поврежденным ЭГ.

Во-вторых, это нарушение структуры и функции ЭГ в системе vasa-vasorum, что, возможно, обуславливает нарушение обменных процессов и трофику стенки магистрального сосуда.

Выявленная ассоциация атеросклеротического повреждения СА с изменением протекторных свойств ЭГ в сосудах сублингвальной локализации, вероятнее, свидетельствует о системном характере патологических изменений ЭГ. Принимая во внимание данное обстоятельство, мы предполагаем, что увеличение ПОП ЭГ сублингвальной локализации также ассоциировано с субклиническим атеросклеротическим поражением в сосудах других бассейнов и может служить маркером доклинических изменений сосудов в организме в целом.

### **Взаимосвязь ПОП ЭГ с эластическими свойствами стенок магистральных артерий и аорты**

В ходе нашей работы выявлена взаимосвязь между состоянием ЭГ и жесткостью магистральных артерий. У лиц с повышенной жесткостью магистральных артерий, определяемой по СЛСИ, отмечались достоверно большие значения ПОП ЭГ по сравнению с пациентами с нормальной жесткостью артерий.

Возможным объяснением данного наблюдения является повреждающее действие пульсовой волны на сосуды микроциркуляции, а, следовательно, и на ЭГ микроциркуляторного русла сублингвальной локализации. Считается, что, вследствие повышения жесткости стенок крупных артерий и снижения их демпфирующей функции, ускоренная пульсовая волна вызывает патологические изменения в микрососудах [11].

Поскольку СЛСИ отражает истинную жесткость сосудистой стенки, обусловленную ее морфологической перестройкой, и не зависит от уровня АД в момент измерения [85], можно предположить, что повышение истинной жесткости магистральных артерий, развивающееся в течение длительного времени, способствует повреждению ЭГ микроциркуляторного русла, вызывая его деградацию и/или потерю протекторных свойств, что отражается в росте величины ПОП ЭГ.

Вместе с тем мы не выявили взаимосвязи между жесткостью аорты и состоянием ЭГ микроциркуляторного русла. Несмотря на то, что СРПВ<sub>кф</sub> является хорошо изученным, независимым предиктором развития сердечно-сосудистых событий [72, 75], смертности от ССЗ в общей популяции [54] и является маркером субклинического поражения органов-мишеней, значение СРПВ<sub>кф</sub> не коррелировало с величиной ПОП ЭГ. Известно, что величина СРПВ<sub>кф</sub>, оценивающая ригидность аорты, определяется жесткостью сосудистой стенки и средним АД [3]. Таким образом, отсутствие ассоциации между величиной СРПВ<sub>кф</sub> и ПОП ЭГ, возможно, обусловлено отсутствием взаимосвязи между величиной ПОП ЭГ и уровнем АД в момент исследования, одного из компонентов, определяющего величину СРПВ<sub>кф</sub>.

### **Взаимосвязь ПОП ЭГ с состоянием микроциркуляторного кровотока кожи, дисфункцией эндотелия**

Факт, что нарушение функции эндотелия является начальным и обязательным этапом сердечно-сосудистого континуума не вызывает сомнений. Выявление ДЭ представляется особенно важным для верификации ранних (субклинических) изменений артериальных сосудов. Однако диагностика ДЭ до настоящего времени остается краеугольным камнем.

Предположив, что состояние ЭГ микроциркуляторного русла сублингвальной локализации (в силу своего расположения и функционального значения) ассоциируется с микрососудистой и эндотелиальной дисфункцией, мы сопоставили результаты темнопольной микроскопии с данными полученными при ЛДФ (в покое и функциональной пробе) и при ультразвуковом тесте с реактивной гиперемией плечевой артерии по Celermajer D. Данные методы (ЛДФ и тест Celermajer D) определены рабочей группой по периферическому кровообращению Европейского Общества Кардиологов в качестве методов исследования эндотелиальной функции.

Выявлены статистически значимые корреляции между состоянием ЭГ и вазореактивностью микроциркуляторного кровотока кожив пробе с артериальной

окклюзией. Увеличение ПОП ЭГ ассоциировалось с уменьшением уровня прироста перфузии и, напротив, увеличением временных интервалов достижения максимального уровня перфузии и полувосстановления после декомпрессии манжеты. Таким образом, в результате выполненной работы, выявлено, что ухудшение протективных свойств ЭГ сочетается с достоверным снижением реактивности и дилататорного резерва микроциркуляторного русла.

В тоже время, статистически значимых корреляций между состоянием ЭГ и вазомоторной функцией эндотелия по данным ПЗВД ПА не выявлено, а состояние ЭГ значимо не различалось у пациентов с сохранной функцией эндотелия плечевой артерии и у пациентов с ДЭ.

Полученные данные, свидетельствуют о том, что ПОП ЭГ, определяемая в сублингвальной локализации, отражает функцию эндотелия на уровне микроциркуляторного русла, и не связан с функцией эндотелия в крупных артериях.

Для определения точного механизма взаимосвязи ЭГ и функционального состояния эндотелия микроциркуляторного русла необходимо проведение отдельных высокотехнологичных исследований. Очевидно, что функционирование микроциркуляторного русла определяется не только эндотелиальным синтезом NO, но также функциональным состоянием ЭГ.

### **Взаимосвязь ПОП ЭГ с терапией статинами**

Результаты выполненного исследования демонстрируют, что терапия статинами у пациентов с ИБС сопряжена с более низким значением ПОП ЭГ. При этом морфофункциональные характеристики артериального русла не различались у пациентов, принимавших и не принимавших статины. В научной литературе нам не удалось найти информации о влиянии гиполипидемической терапии на ПОП ЭГ. Однако данное наблюдение согласуется с результатами исследования Meuwese MC и соавторов, в котором краткосрочная гиполипидемическая терапия розувастатином у пациентов с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией способствовала частичному восстановлению системного объема ЭГ [63]. В

качестве возможного механизма восстановления ЭГ на фоне приема статинов обсуждается снижение уровня продуктов окислительного стресса и медиаторов воспаления [63].

Таким образом, выявленная взаимосвязь нового маркера ЭГ с приемом лекарственной терапии потенцирует проведение исследований по изучению ПОП ЭГ в качестве нового, достаточно простого, способа тестирования медикаментозных препаратов, а также подбора оптимальной терапии и контроля ее эффективности.

### **Пороговое значение ПОП ЭГ и его ассоциации с сердечно-сосудистой патологией**

Важным практическим результатом выполненной работы, с клинической точки зрения, является установление порогового значения ПОП ЭГ (2 мкм), превышение которого ассоциировано с рядом морфофункциональных отклонений в сосудах микроциркуляторного русла и в артериях различных локализаций. Так было выявлено, что превышение ПОП ЭГ  $>2$  мкм среди всех обследованных пациентов ассоциировано с двукратным увеличением шанса наличия ИБС, а среди лиц без клинических проявлений атеросклероза ассоциировано с увеличением шансов наличия высокого ССР по шкале SCORE, стенозирующего атеросклероза СА, повышенной жесткости магистральных артерий, увеличением  $TIM_{cp}$  и  $TIM_{max}$ , ухудшением функционального состояния микроциркуляторного русла кожи и повышением концентрации апоА1.

Выявленные ассоциации позволяют рассматривать величину ПОП ЭГ, не зависящую от пола и возраста пациента, уровня АД в момент измерения ПОП ЭГ, в качестве нового потенциального маркера для уточнения ССР. Необходимо проведение дальнейших проспективных исследований, результаты которых позволили бы использовать данный показатель в сочетании с другими факторами для определения риска развития ИБС, выявления атеросклероза СА, патологической жесткости артерий и нарушения реактивности и дилататорного резерва микроциркуляторного русла кожи.

## ВЫВОДЫ

1. Пограничная область перфузии эндотелиального гликокаликса (ПОП ЭГ), оцениваемая методом темнопольной микроскопии, имеет высокую воспроизводимость измерений, не зависящих от области сублингвальной локализации, сканируемой оптическим зондом, временных интервалов между измерениями и пола пациента.

2. Величина ПОП ЭГ у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза имеет положительную ассоциацию с величиной суммарного сердечно-сосудистого риска по шкале SCORE ( $r=0,16$ ,  $p=0,03$ ), артериальной гипертонией ( $\beta=0,088$ ,  $p<0,01$ ) и длительностью ее течения ( $r=0,20$ ,  $p<0,01$ ), но не ассоциирована с отдельными факторами риска шкалы SCORE и другими традиционными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний.

3. Величина ПОП ЭГ у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза имеет положительную корреляцию со средней ( $r=0,23$ ,  $p<0,01$ ) и максимальной ( $r=0,26$ ,  $p<0,001$ ) толщиной комплекса интима-медиа, фактом наличия атеросклеротических бляшек в сонных артериях и максимальным процентом стенозирования сонных артерий ( $r=0,25$ ,  $p<0,01$ ).

4. Величина ПОП ЭГ у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза имеет положительную корреляцию с величиной сердечно-лодыжечного сосудистого индекса ( $r=0,27$ ,  $p<0,001$ ) и параметрами реактивности микроциркуляторного русла кожи (время достижения максимального уровня перфузии -  $r=0,16$ ,  $p=0,04$ ; время полувосстановления -  $r=0,18$ ,  $p=0,01$ ), отрицательную корреляцию с уровнем прироста перфузии кожи ( $r= -0,15$ ;  $p=0,04$ ) и не имеет взаимосвязи с величиной каротидно-фemorальной скорости распространения пульсовой волны и поток-зависимой вазодилатации плечевой артерии.

5. Величина ПОП ЭГ у лиц в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза не имеет ассоциации с уровнем биохимических маркеров

эндотелиальной функции (интерлейкин-6, эндотелин 1-21, NOx), углеводного и липидного обменов, за исключением концентрации аполипопротеина A1 ( $r = -0,19$ ,  $p < 0,01$ ).

**6.** Превышение ПОП ЭГ более 2 мкм среди всех обследованных пациентов в возрасте 40-65 лет ассоциировано с увеличением шанса наличия ишемической болезни сердца (ОШ=2,42; 95% ДИ=1,12–5,27;  $p=0,0001$ ), в группе пациентов без клинических проявлений атеросклероза ассоциировано с увеличением шансов наличия высокого сердечно-сосудистого риска по шкале SCORE (ОШ=2,45; 95% ДИ 1,27-4,74;  $p=0,007$ ) и стенозирующего атеросклероза сонных артерий (ОШ=2,07; 95% ДИ 1,08-3,94;  $p=0,02$ ), повышенной жесткости магистральных артерий по сердечно-лодыжечному сосудистому индексу (ОШ=3,51; 95% ДИ 1,53-8,05;  $p=0,003$ ). В группе пациентов в возрасте 40-65 лет без клинических проявлений атеросклероза при величине ПОП ЭГ более 2 мкм достоверно выше значения средней ( $p < 0,01$ ) и максимальной ( $p < 0,001$ ) толщины интима-медиа, уровень аполипопротеина A1 ( $p < 0,01$ ) и время достижения максимального уровня перфузии кожи ( $p=0,03$ ) в пробе с артериальной окклюзией, а также достоверно ниже максимальный уровень перфузии кожи ( $p=0,04$ ).



## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. ПОП ЭГ может рассматриваться как потенциальный инструмент для уточнения ССР.

2. Для пациентов в возрасте 40-65 лет величина ПОП ЭГ  $>2$  мкм может использоваться в качестве маркера наличия ИБС, а для пациентов без клинических проявлений атеросклероза в качестве маркера высокого ССР по шкале SCORE, стенозирующего атеросклероза СА, повышенной жесткости стенок магистральных артерий, нарушения морфофункционального состояния микроциркуляторного русла кожи.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ	- артериальная гипертония
АД	- артериальное давление
АЛТ	- аланинаминотрансфераза
АпоА1	- аполипопротеин А1
АпоВ	- аполипопротеин В
АпоЕ	- аполипопротеин Е
АСБ	- атеросклеротическая бляшка
АСТ	- аспартатаминотрансфераза
БСК	- болезни системы кровообращения
ВК-СОД	- внеклеточная супероксиддисмутаза
ВСА	- внутренняя сонная артерия
ВФЭ	- вазомоторная функция эндотелия
вчСРБ	- высокочувствительный С-реактивный белок
ДЭ	- дисфункция эндотелия
иАПФ.....	- ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента
ИБС	- ишемическая болезнь сердца
ИМТ	- индекс массы тела
кДа	- килоДальтон
ЛДФ	- лазерная доплеровская флоуметрия
Макс % стеноза	- максимальный процент стенозирования сонных артерий
мкм	- микрометр
ОСА	- общая сонная артерия
ОТ	- окружность талии
ОХС	- общий холестерин
ПА	- плечевая артерия
ПЗВД ПА	- поток-зависимая вазодилатация плечевой артерии
ПМ	- уровень перфузии
ПМ <sub>исх</sub>	- исходная величина ПМ
ПМ <sub>макс</sub>	- максимальное значение ПМ
ПМ <sub>окл</sub>	- ПМ в процессе окклюзии
ПОП ЭГ	- пограничная область перфузии эндотелиального гликокаликса
пф.ед.	- перфузионная единица
СА	- сонные артерии
САД	- систолическое артериальное давление
СЛСИ	- сердечно-лодыжечный сосудистый индекс
СРПВ <sub>кф</sub>	- каротидно-феморальная скорость распространения пульсовой волны

ССЗ	- сердечно-сосудистые заболевания
ССР	- сердечно-сосудистый риск
ССС	- сердечно-сосудистая смертность
$T_{1/2}$	- время полувосстановления
$T_{\text{макс}}$	- время от снятия окклюзии до достижения ПМ <sub>макс</sub>
ТГ	- триглицериды
ТИМ	- толщина комплекса интима-медиа
ТИМ <sub>макс</sub>	- максимальная толщина комплекса интима-медиа
ТИМ <sub>ср</sub>	- средняя толщина комплекса интима-медиа
ФНО $\alpha$	- фактор некроза опухолей $\alpha$
ХС ЛВП	- холестерин липопротеинов высокой плотности
ХС ЛНП	- холестерин липопротеинов низкой плотности
ЭГ	- эндотелиальный гликокаликс
ЭК	- эндотелиальные клетки
ЭКГ	- электрокардиограмма
AUDIT	- тест на выявление нарушений, связанных с употреблением алкоголя
CV	- коэффициент вариации
ICAM-2	- молекула клеточной адгезии-2
$K_v$	- коэффициент вариации (соотношение величин ПМ и $\sigma$ )
NO	- оксид азота
NO $x$	- суммарная концентрация нитрат- и нитрит-ионов
PECAM-1	- молекула адгезии тромбоцитов с эндотелием-1
SCORE	- Systemic Coronary Risk Evaluation
$\Delta$ ПМ	- уровень прироста перфузии
$\sigma$	- среднее колебание перфузии относительно среднего значения потока крови ПМ

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1

### Тест AUDIT [20]

**Тест для выявления расстройств, вызванных употреблением алкоголя: версия по методике самоотчета**

**УВАЖАЕМЫЙ ПАЦИЕНТ:** Поскольку употребление алкоголя может отрицательно сказаться на вашем здоровье и повлиять на эффективность определенных лекарств и форм лечения, нам необходимо получить ответы на некоторые вопросы, касающиеся употребления вами алкогольных напитков. Ваши ответы будут оставаться конфиденциальными, поэтому ответьте, пожалуйста, честно.

Поставьте значок "X" в графе, которая наиболее точно соответствует вашему ответу на каждый из вопросов.

<b>Вопросы</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	
1. Как часто вы употребляете напитки, содержащие алкоголь?	Никогда	Раз в месяц или реже	2-4 раза в месяц	2-3 раза в неделю	4 раза в неделю и чаще	
2. Когда вы употребляете алкогольные напитки, сколько стандартных порций алкоголя вы потребляете обычно за день?	1 или 2	3 или 4	5 или 6	от 7 до 9	10 и более	
3. Как часто вы за один раз употребляли шесть или более стандартных порций алкоголя?	Никогда	Раз в месяц или реже	Раз в месяц	Раз в неделю	Ежедневно или почти ежедневно	
4. Как часто в течение прошедшего года вы чувствовали, что не в состоянии остановиться после того, как начали потреблять алкогольные напитки?	Никогда	Раз в месяц или реже	Раз в месяц	Раз в неделю	Ежедневно или почти ежедневно	
5. Как часто в течение прошедшего года вы не выполнили то, что от вас ожидалось, по причине потребления вами алкогольных напитков?	Никогда	Раз в месяц или реже	Раз в месяц	Раз в неделю	Ежедневно или почти ежедневно	
6. Как часто в течение прошедшего года вам приходилось принять первую порцию алкоголя утром для нормализации самочувствия после употребления большого количества алкогольных напитков накануне?	Никогда	Раз в месяц или реже	Раз в месяц	Раз в неделю	Ежедневно или почти ежедневно	
7. Как часто в прошедшем году вы испытывали чувство вины или угрызения совести после потребления алкогольных напитков?	Никогда	Раз в месяц или реже	Раз в месяц	Раз в неделю	Ежедневно или почти ежедневно	
8. Как часто за прошедший год вы не могли вспомнить события предшествующего вечера, когда вы потребляли алкогольные напитки?	Никогда	Раз в месяц или реже	Раз в месяц	Раз в неделю	Ежедневно или почти ежедневно	
9. Получали ли вы или кто-либо другой травмы в результате потребления вами алкогольных напитков?	Нет		Да, но не в прошедшем году		Да, в течение прошедшего года	
10. Говорил ли вам родственник, друг, врач или другой медицинский работник о своей обеспокоенности потреблением вами алкоголя, и рекомендовалось ли вам уменьшить количество потребляемых алкогольных напитков?	Нет		Да, но не в прошедшем году		Да, в течение прошедшего года	
					<b>ИТОГО:</b>	

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. Издание шестое. Москва, 2013 г.
2. Бухтияров И.В., Измеров Н.Ф., Кузьмина Л.П. и др. Методические рекомендации «Метод объемной сфигмографии в медицине труда». -Москва 2015. -24 с.
3. Гончаров И.С., Ахметов Р.Е., Александрия Л.Г. и др. Современные представления о роли артериальной ригидности в патогенезе сердечной недостаточности. Клиническая фармакология и терапия. 2013; 22(3): 53-60.
4. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Рекомендации Российского медицинского общества по артериальной гипертонии и Всероссийского научного общества кардиологов. Системные гипертензии. 2010; 3:5-26.
5. Ершова А.И., Мешков А.Н., Шальнова С.А. и др. Ультразвуковые параметры атеросклероза сонных и бедренных артерий у больных ишемической болезнью сердца. Профилактическая медицина. 2014; 6:56-63.
6. Канищева Е.М., Федорович А.А. Возможность оценки состояния микроциркуляторного русла и стенок крупных сосудов//Сердце: журнал для практикующих врачей. -2010. -Т. 9, № 1(51). -С. 65-70.
7. Кардиоваскулярная профилактика. Всероссийское научное общество кардиологов. Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2011; 10 (6).
8. Крупаткин А.И., Сидоров В.В.. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. –Москва.: Медицина, 2005.-256 с.
9. Максименко А.В., Турашев А.Д., Федорович А.А., и др. Эндотелиальный гликокаликс крыс участвует в нарушениях микроциркуляторного русла. Атеросклероз и дислипидемии. 2011; 3:13-29.
10. Мелькумянц А.М., Балашов С.А. Механочувствительность артериального эндотелия. -Тверь.: Триада, 2005; -208 с.

11. Мордвинова Е. В., Ощепкова Е. В., Федорович А. А. и др. Жесткость сосудистой стенки и функциональное состояние сосудов микроциркуляторного русла кожи у лиц средней возрастной группы с артериальной гипертензией. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2014; 4:18-27.
12. Национальные рекомендации по диагностике и лечению стабильной стенокардии. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2008; 7(6): Приложение 4.
13. Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я. Демографические тенденции в Российской Федерации: вклад болезней системы кровообращения. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2012; 11(1): 5-10.
14. Рогоза А.Н., Балахонова Т.В., Чихладзе Н.М. и др. Современные методы оценки состояния сосудов у больных артериальной гипертензией. Пособие для практикующих врачей. -Москва.: АТМОСФЕРА, 2008.
15. Рогоза А.Н., Заирова А.Р., Жернакова Ю.В. и др. Состояние сосудистой стенки в популяции взрослого населения на примере жителей Томска по данным исследования ЭССЕ –РФ. Системные гипертензии. 2014; 4:42-48.
16. Соболева Г.Н., Федулов В.К., Карпов Ю.А.. Дисфункция артериального эндотелия и ее значение для оценки прогноза у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2010; 9(2): 69-73.
17. Федорович А.А., Родненков О.В., Агеева Н.В. и др. Параметры микроциркуляторного кровотока в коже человека в условиях длительного теплового стресса (модельный эксперимент). Кардиол вестн. 2013; 1:7-17.
18. Ajani UA, Ford ES. Has the risk for coronary heart disease changed among US adults. J Am Coll Cardiol. 2006; 48:1177—1182.
19. Amraoui F, Olde Engberink RH, van Gorp J. et al. Microvascular glycocalyx dimension estimated by automated SDF imaging is not related to cardiovascular disease. Microcirculation. 2014; 21(6):499-505.

20. Babor TF, Higgins-Biddle JC, Saunders JB, et al. AUDIT. The Alcohol Use Disorders Identification Test. Guidelines for Use in Primary Care. 2nd edn. World Health Organization Department of Mental Health and Substance Dependence. Geneva: WHO; 2001.
21. Barger AC, Beeuwkes R, Lainey LL, et al. Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *N Engl J Med.* 1984; 310(3):175-177.
22. Beresewicz A, Czarnowska E, Maczewski M. Ischemic preconditioning and superoxide dismutase protect against endothelial dysfunction and endothelium glycocalyx disruption in the postischemic guinea-pig heart. *Mol Cell Biochem.* 1998; 186:87-97.
23. Brindle PM, McConnachie A, Upton MN, et al. The accuracy of the Framingham risk-score in different socioeconomic groups: a prospective study. *Br J Gen Pract.* 2005; 55(520):838-845.
24. Broekhuizen LN, Lemkes BA, Mooij H, et al. Effect of sulodexide on endothelial glycocalyx and vascular permeability in patients with type II diabetes mellitus. *Diabetologia.* 2010; 53(12):2646-2655.
25. Brower JB, Targovnik JH, Caplan MR, et al. High glucose-mediated loss of cell surface heparan sulfate proteoglycan impairs the endothelial shear stress response. *Cytoskeleton (Hoboken).* 2010; 67(3):135–141.
26. Cancel LM, Ebong EE, Tarbell JM. Endothelial Glycocalyx and Apoptosis in Atherosclerosis. *FASEB J* 2015; 29: 631.3.
27. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM. Et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.* 1992; 340 (8828): 1111-1115.
28. Constantinescu AA, Vink H, Spaan JA. Elevated capillary tube hematocrit reflects degradation of endothelial cell glycocalyx by oxidized LDL. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001; 280(3): H1051-1057.
29. Constantinescu AA, Vink H, Spaan JA. Endothelial cell glycocalyx modulates

- immobilization of leukocytes at the endothelial surface. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23(9):1541-1547.
30. Cooney MT, Dudina AL, Bacquer DD, et al. How much does HDL cholesterol add to risk estimation? A report from the SCORE investigators. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2009;16(3):304–314.
  31. Cooney MT, Dudina AL, Graham IM, et al. Value and limitations of existing scores for the assessment of cardiovascular risk: a review for clinicians. *J Am Coll Cardiol.* 2009; 54(14):1209-27.
  32. Dane MJ, Khairoun M, Lee DH, et al. Association of Kidney Function with Changes in the Endothelial Surface Layer. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014; 9(4):698–704.
  33. Danese C, Vestri AR, D’Alfonso V, et al. Do hypertension and diabetes mellitus influence the site of atherosclerotic plaques? *Clin Ter.* 2006; 157(1):9–13.
  34. Danielli JF. Capillary permeability and edema in the perfused frog. *J Physiol.* 1940; 98(1):109–129.
  35. Donati A, Damiani E, Luchetti M. et al. Microcirculatory effects of the transfusion of leukodepleted or non-leukodepleted red blood cells in patients with sepsis: a pilot study. *Crit Care.* 2014;18 (1). R33.
  36. Egbrink MG, Van Gestel MA, Broeders MA, et al. Regulation of microvascular thromboembolism in vivo. *Microcirculation.* 2005; 12(3):287-300.
  37. Eriksson S, Nilsson J, Stureson C. Non-invasive imaging of microcirculation: a technology review. *Med Devices (Auckl).* 2014; 7:445–452.
  38. Eskens BJ, Leurgans TM, Vink H, et al. Early impairment of skeletal muscle endothelial glycocalyx barrier properties in diet-induced obesity in mice. *Physiol Rep.* 2014; 2(1): e00194.
  39. Florian JA, Kosky JR, Ainslie K, et al. Heparan sulfate proteoglycan is a mechanosensor on endothelial cells. *Circ Res.* 2003; 93(10):e136-42.
  40. Gandhi NS, Mancera RL. The structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins. *Chem Biol Drug Des.* 2008; 72(6):455-482.



41. Goedhart PT, Khalilzada M, Bezemer R, 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): 15101-15114.
42. Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and other societies. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2007;14(Suppl 2):S1–S113.
43. Groen BB, Hamer HM, Snijders T. Et al. Skeletal muscle capillary density and microvascular function are compromised with aging and type 2 diabetes. *J Appl Physiol*. 2014; 116(8):998-1005.
44. Haeren RH, van de Ven SE, van Zandvoort MA, et al. Assessment and Imaging of the Cerebrovascular Glycocalyx. *Curr Neurovasc Res*. 2016; 13(4):
45. Henry CB, Duling BR. Permeation of the luminal capillary glycocalyx is determined by hyaluronan. *Am J Physiol*. 1999; 277: H508-514.
46. Henry CB, Duling BR. TNF-alpha increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000; 279 (6): H2815-2823.
47. Jackson RL, Busch SJ, Cardin AD. Glycosaminoglycans: molecular properties, protein interactions, and role in physiological processes. *Physiol Rev*. 1991; 71(2):481-539.
48. Jacob M, Rehm M, Loetsch M, et al. The endothelial glycocalyx prefers albumin for evoking shear stress-induced, nitric oxide-mediated coronary dilatation. *J Vasc Res*. 2007; 44(6):435-443.
49. Jaffer FA, O'Donnell CJ, Larson MG, et al. Age and sex distribution of subclinical aortic atherosclerosis: a magnetic resonance imaging examination of the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002; 22(5):849-854.
50. Kumagai R, Lu X, Kassab GS. Role of glycocalyx in flow-induced production of nitric oxide and reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med*. 2009; 47(5):600-607.

51. Kumase F, Morizane Y, Mohri S, et al. Glycocalyx degradation in retinal and choroidal capillary endothelium in rats with diabetes and hypertension. *Acta Med Okayama*. 2010; 64(5):277–283.
52. Kusche-Vihrog K, Oberleithner H. An emerging concept of vascular salt sensitivity. *F1000 Biol Rep*. 2012; 4:20.
53. Kwon TG, Lerman LO, Lerman A, et al. The Vasa Vasorum in Atherosclerosis: The Vessel Within the Vascular Wall. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 65(23):2478-2480.
54. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. 2001; 37(5):1236-41.
55. Lekakis J, Abraham P, Balbarini A, et al. Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2011; 18(6):775-789.
56. Lewis JC, Taylor RG, Jones ND. Endothelial surface characteristics in pigeon coronary artery atherosclerosis. I. Cellular alterations during the initial stages of dietary cholesterol challenge. *Lab Invest*. 1982;46(2):123-138.
57. Lopez-Quintero SV, Cancel LM, Pierides A, et al. High glucose attenuates shear-induced changes in endothelial hydraulic conductivity by degrading the glycocalyx. *PLoS One*. 2013; 8:e78954.
58. Luft JH. Fine structures of capillary and endocapillary layer as revealed by ruthenium red. *Fed Proc*. 1966; 25(6): 1773-1783.
59. Martens RJ, Vink H, van Oostenbrugge R.J. et al. Sublingual microvascular glycocalyx dimensions in lacunar stroke patients. *Cerebrovasc Dis*. 2013; 35(5):451-454.
60. Masola V, Zaza G, Onisto M, et al. Glycosaminoglycans, proteoglycans and sulodexide and the endothelium: biological roles and pharmacological effects. *Int Angiol*. 2014; 33(3):243–254.
61. Mattace-Raso F, Hofman A, Verwoert GC, et al. Determinants of pulse wave

- velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values'. *Eur Heart J*. 2010; 31(19):2338-2350.
62. Megens RT, Reitsma S, Schiffrers PH, et al. Two-photon microscopy of vital murine elastic and muscular arteries. Combined structural and functional imaging with subcellular resolution. *J Vasc Res*. 2007; 44(2):87-98.
  63. Meuwese MC, Mooij HL, Nieuwdorp M, 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.
  64. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, et al. Heart disease and stroke statistics—2016 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2016;133:000-000.
  65. Mulders TA, Nieuwdorp M, Stroes ES. et al. Noninvasive assessment of microvascular dysfunction in families with premature coronary artery disease. *Int J Cardiol*. 2013; 168(5):5026-5028.
  66. Nagy N, Freudenberger T, Melchior-Becker A, et al. Inhibition of hyaluronan synthesis accelerates murine atherosclerosis: novel insights into the role of hyaluronan synthesis. *Circulation*. 2010; 122(22): 2313–2322.
  67. Neves FM, Meneses GC, Sousa NE, et al. Syndecan-1 in acute decompensated heart failure- association with renal function and mortality. *Circ J*. 2015; 79(7):1511–1519.
  68. Nieuwdorp M, Meuwese MC, Mooij HL, et al. Measuring endothelial glycocalyx dimensions in humans: a potential novel tool to monitor vascular vulnerability. *J Appl Physiol*. 2008; 104(3): 845-852.
  69. Nieuwdorp M, van Haeften TW, Gouverneur MC, et al. Loss of endothelial glycocalyx during acute hyperglycemia coincides with endothelial dysfunction and coagulation activation in vivo. *Diabetes*. 2006; 55(2):480–486.
  70. Noble MI, Drake-Holland AJ, Vink H. Hypothesis: arterial glycocalyx dysfunction is the first step in the atherothrombotic process. *QJM*. 2008; 101(7):513–518.
  71. Oberleithner H. Vascular endothelium: a vulnerable transit zone for merciless

- sodium. *Nephrol Dial Transplant*. 2014; 29(2): 240–246.
72. Oliver JJ, Webb DJ. Noninvasive assessment of arterial stiffness and risk of atherosclerotic events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23(4):554-566.
  73. Oohira A, Wight TN, Bornstein P. Sulfated proteoglycans synthesized by vascular endothelial cells in culture. *JBiolChem*. 1983; 258 (3): 2014-2021.
  74. Padberg JS, Wiesinger A, di Marco GS, et al. Damage of the endothelial glycocalyx in chronic kidney disease. *Atherosclerosis*. 2014; 234(2): 335–343.
  75. Palatini P, Casiglia E, Gasowski G, et al. Arterial stiffness, central hemodynamics, and cardiovascular risk in hypertension. *Vasc Health Risk Manag*. 2011; 7:725-39.
  76. Perrimon N, Bernfield M. Specificities of heparin sulphate proteoglycans in developmental processes. *Nature*. 2000; 404 (6779):725-728.
  77. Pries AR, Secomb TW, Jacobs H, et al. Microvascular blood flow resistance: role of endothelial surface layer. *Am J Physiol*. 1997; 273: H2272-2279.
  78. Rehm M, Zahler S, Lotsch M, et al. Endothelial glycocalyx as an additional barrier determining extravasation of 6% hydroxyethyl starch or 5% albumin solutions in the coronary vascular bed. *Anesthesiology*. 2004; 100(5):1211-1223.
  79. Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, et al. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflugers Arch*. 2007; 454(3):345-359.
  80. Reyes-Soffer G, Holleran S, Di Tullio MR, et al. Endothelial function in individuals with coronary artery disease with and without type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2010; 59(9):1365–1371.
  81. Richter V, Savery MD, Gassmann M, et al. Excessive erythrocytosis compromises the blood-endothelium interface in erythropoietin-overexpressing mice. *J Physiol*. 2011; 589: 5181–5192.
  82. Rostgaard J, Qvortrup K. Electron microscopic demonstrations of filamentous molecular sieve plugs in capillary fenestrae. *Microvasc Res*. 1997; 53(1): 1-13.
  83. Salmon AH, Ferguson JK, Burford JL, et al. Loss of the endothelial glycocalyx links albuminuria and vascular dysfunction. *J Am Soc Nephrol*. 2012; 23(8):1339–1350.

84. Sehba FA, Ding WH, Chereshev I, et al. Effects of S-nitrosoglutathione on acute vasoconstriction and glutamate release after subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 1999; 30(9):1955–1961.
85. Shirai K, Song M, Suzuki J, et al. Contradictory effects of  $\beta_1$ - and  $\alpha_1$ -adrenergic receptor blockers on cardio-ankle vascular stiffness index (CAVI) – the independency of CAVI from blood pressure. *J Atheroscler Thromb*. 2011; 18(1):49–55.
86. Shirai K, Utino J, Otsuka K, et al. A Novel Blood Pressure-independent Arterial Wall Stiffness Parameter; Cardio-Ankle Vascular Index (CAVI). *J Atheroscler Tromb*. 2006; 13(2): 101–107.
87. Squire JM, Chew M, Nneji G, et al. Quasi-periodic substructure in the microvessel endothelial glycocalyx: a possible explanation for molecular filtering? *J Struct Biol*. 2001; 136(3):239-255.
88. Suematsu M, Suzuki H, Delano FA, et al. The inflammatory aspect of the microcirculation in hypertension: oxidative stress, leukocytes/endothelial interaction, apoptosis. *Microcirculation*. 2002; 9(4):259-76.
89. Tarbell JM, Cancel LM. The glycocalyx and its significance in human medicine. *J Intern Med*. 2016; doi: 10.1111/joim.12465.
90. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis*. 2012; 34(4):290-296.
91. Ueda A, Shimomura M, Ikeda M, et al. Effect of glycocalyx on shear-dependent albumin uptake in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004; 287(5): H2287-2294.
92. Ueno M, Sakamoto H, Liao YJ, et al. Blood-brain barrier disruption in the hypothalamus of young adult spontaneously hypertensive rats. *Histochem Cell*

- Biol. 2004; 122(2):131–137.
93. Ueno M, Sakamoto H, Tomimoto H, et al. Blood-brain barrier is impaired in the hippocampus of young adult spontaneously hypertensive rats. *Acta Neuropathol.* 2004; 107(6):532–538.
  94. Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P, et al. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J Hypertens.* 2012; 30(3): 445–448.
  95. van den Berg BM, Spaan JA, Rolf TM, et al. Atherogenic region and diet diminish glycocalyx dimension and increase intima-to-media ratios at murine carotid artery bifurcation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006; 290(2):H915–920.
  96. van den Berg BM, Spaan JA, Vink H. Impaired glycocalyx barrier properties contribute to enhanced intimal low-density lipoprotein accumulation at the carotid artery bifurcation in mice. *Pflugers Arch.* 2009; 457(6): 1199–1206.
  97. van den Berg BM, Vink H, Spaan JA. The endothelial glycocalyx protects against myocardial edema. *Circ Res.* 2003; 92(6):592-594.
  98. van Dis I, Kromhout D, Geleijnse JM, et al. Evaluation of cardiovascular risk predicted by different SCORE equations: the Netherlands as an example. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2010; 17(2):244-9.
  99. van Haaren PM, VanBavel E, Vink H, et al. Charge modification of the endothelial surface layer modulates the permeability barrier of isolated rat mesenteric small arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005; 289(6): H2503-2507.
  100. van Haaren PM, VanBavel E, Vink H, et al. Localization of the permeability barrier to solutes in isolated arteries by confocal microscopy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003; 285(6): H2848-2856.
  101. Vink H, Constantinescu AA, Spaan JA. Oxidized lipoproteins degrade the endothelial surface layer. Implications for platelet-endothelial cell adhesion. *Circulation.* 2000; 101(13):1500-1502.
  102. Vink H, Duling BR. Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes, and leukocytes within mammalian capillaries. *Circ Res.* 1996;

- 79(3):581-589.
103. Vlachopoulos C, Xaplanteris P, Aboyans P, et al. The role of vascular biomarkers for primary and secondary prevention. A position paper from the European Society of Cardiology Working Group on peripheral circulation: Endorsed by the Association for Research into Arterial Structure and Physiology (ARTERY) Society. *Atherosclerosis*. 2015; 241(2): 507-532.
  104. Vlahu CA, Lemkes BA, Struijk DG, et al. Damage of the Endothelial Glycocalyx in Dialysis Patients. *J Am Soc Nephrol*. 2012; 23(11):1900-1908.
  105. Ward BJ, Donnelly JL. Hypoxia induced disruption of the cardiac endothelial glycocalyx: implications for capillary permeability. *Cardiovasc Res*. 1993; 27(3): 384-389.
  106. Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annu Rev Biomed Eng*. 2007; 9:121-167.
  107. Weinbaum S, Zhang X, Han Y, et al. Mechanotransduction and flow across the endothelial glycocalyx. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100(13):7988-7995.
  108. Weinbaum S. 1997 Whitaker Distinguished Lecture: Models to solve mysteries in biomechanics at the cellular level; a new view of fiber matrix layers. *Ann Biomed Eng*. 1998; 26(4):627-643.
  109. 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.
  110. Xu J, Lu X, Shi GP, et al. Vasa vasorum in atherosclerosis and clinical significance. *Int J Mol Sci*. 2015; 16(5):11574-11608.
  111. Zimmet P, Shaw J, Alberti G. Preventing type 2 diabetes and the dysmetabolic syndrome in the real world: a realistic view. *Diabet med*. 2003; 20(9):693-702.
  112. Zweier JL, Talukder MA. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 2006; 70(2):181-190.