

Методы диагностики эндотелиальной дисфункции

Шабров А.В.¹, Галенко А.С.², Успенский Ю.П.², Лосева К.А.²

¹ *Институт экспериментальной медицины (ИЭМ)*
Россия, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

² *Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет (СПбГПМУ)*
Россия, 194100, г. Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

РЕЗЮМЕ

Проблема эндотелиальной дисфункции как важного звена в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы предполагает внедрение эффективных и точных диагностических методов. В обзоре освещаются наиболее актуальные из применяемых в научной и клинической практике методов, которые условно подразделены на морфологические, инструментальные и лабораторные. Отдельно упомянута предложенная еще в 1936 г. профессором В.А. Вальдманом эндотелиальная баночная проба, которая может служить прообразом современных методов исследования эндотелия.

Данные диагностические методики могут способствовать выявлению функциональных нарушений эндотелия на самом раннем донозологическом уровне, что позволит существенно расширить возможности первичной профилактики сердечно-сосудистых и ряда других заболеваний путем немедикаментозной и фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции.

Ключевые слова: эндотелий, эндотелиальная дисфункция, методы оценки эндотелиальной функции.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Для цитирования: Шабров А.В., Галенко А.С., Успенский Ю.П., Лосева К.А. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 202–209. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-202-209>.

Methods for diagnosing endothelial dysfunction

Shabrov A.V.¹, Galenko A.S.², Uspensky Yu.P.², Loseva K.A.²

¹ *Institute of Experimental Medicine (IEM)*
12, Akademika Pavlova Str., Saint Petersburg, 197376, Russian Federation

² *Saint-Petersburg State Pediatric Medical University (SPSPMU)*
2, Litovskaya Str., Saint Petersburg, 194100, Russian Federation

ABSTRACT

Endothelial dysfunction as a crucial factor in the pathogenesis of cardiovascular diseases requires precise and effective diagnostic methods. The review highlights the currently used methods which can be divided into morphological, instrumental, and laboratory ones. Special attention is paid to the so called jar test, which was

introduced by Professor V.A. Valdman in 1936. The jar test may serve as a prototype of modern methods for endothelial function assessment.

These diagnostic methods can help to identify functional endothelial disorders at the earliest stage. It will significantly expand the possibilities of primary prevention of cardiovascular and a number of other diseases through non-pharmacological and pharmacological correction of endothelial dysfunction.

Key words: endothelium, endothelial dysfunction, methods of endothelial function assessment.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

For citation: Shabrov A.V., Galenko A.S., Uspensky Yu.P., Loseva K.A. Methods for diagnosing endothelial dysfunction. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 202–209. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-202-209>.

ВВЕДЕНИЕ

Эндотелий – клеточная выстилка поверхности кровеносных, лимфатических сосудов и эндокарда, осуществляющая координацию и оптимальное протекание различных метаболических и физиологических процессов [1]. Являясь важнейшим регуляторным и эндокринным органом, эндотелий выполняет такие ключевые функции, как контроль адгезии лейкоцитов, сосудистого тонуса, ангиогенеза, регуляция адгезии и агрегации тромбоцитов, участие в фибринолизе и воспалительных процессах [2].

Нарушения функций эндотелия являются одним из основных звеньев в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы. Важность данной проблемы предполагает внедрение эффективных и точных методов диагностики, которые могут способствовать выявлению функциональных нарушений эндотелия на самом раннем донозологическом уровне, что позволит существенно расширить возможности первичной профилактики сердечно-сосудистых и ряда других заболеваний путем немедикаментозной и фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции.

Применяемые в настоящее время методы оценки функционального состояния эндотелия условно можно разделить на морфологические, инструментальные и лабораторные.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Прообразом морфологического исследования состояния эндотелия может служить предложенная еще в 1930-х гг. эндотелиальная баночная проба. Виктор Александрович Вальдман, основатель и первый заведующий кафедрой факультетской терапии Ленинградского педиатрического медицинского института, одним из первых назвал эндотелий сосудов «ареной, где происходит первое столкновение макроорганизма с микробами». Изучая патологию

сосудов, в 1936 г. он предложил данную пробу как метод выявления гиперэргического набухания эндотелия сосудов (эндотелиоза) [3]. Фактически эндотелиальная баночная проба по праву может считаться одной из первых попыток оценить функциональное состояние сосудистого эндотелия.

В 1978 г. J. Hladovec внедрил способ оценки эндотелиальной дисфункции путем исследования уровня циркулирующих десквамированных эндотелиоцитов (ДЭ), представляющих собой клетки, отделяющиеся от стенки сосуда в процессе его повреждения [4]. В настоящее время проводится компьютерный анализ изображения ДЭ (метод компьютерной цитометрии). В среднем количество ДЭ у взрослого человека в норме варьирует от 2 до 4 кл./100 мкл плазмы [5]. У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями предложено выделять степени эндотелиальной дисфункции по концентрации ДЭ. Умеренная степень нарушения функции эндотелия расценивается при количестве ДЭ 6–10 клеток, средняя степень 11–25, выраженная степень – 26 и выше [6].

В последнее время повышенное внимание уделяется эндотелиальным апоптотическим микрочастицам (ЭАМ, endothelial microparticles – EMPs) как новым маркерам эндотелиальной дисфункции. ЭАМ представляют собой мембранные везикулы, высвобождающиеся во внеклеточное пространство при активации или апоптозе эндотелиальных клеток [7]. Известно, что эндотелиальные микрочастицы экспрессируют маркеры клеточного повреждения: межклеточной молекулы адгезии-1 (ICAM-1), сосудистой клеточной молекулы адгезии (VCAM-1), Е-селектина, фактора фон Виллебранда (vWF) [8]. Концентрацию EMPs определяют с помощью проточной цитофлуориметрии, а морфологию и размер – путем криотрансмиссионной электронной микроскопии с использованием рецептор-специфической метки [9].

ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ

В качестве одной из первых инструментальных методик для оценки вазорегулирующей функции эндотелия было предложено проведение коронарографии с введением ацетилхолина для оценки эндотелий-зависимой вазодилатации (ЭЗВД) и нитропруссид натрия для оценки эндотелий-независимой вазодилатации (ЭНВД) (S.W. Werns и соавт., 1989) [10]. Как правило в качестве фармпрепарата для интракоронарного введения во время коронарографии используют ацетилхолин, который, взаимодействуя с неповрежденным эндотелием, оказывает стимулирующее действие на выработку оксида азота (NO) и других релаксирующих факторов.

В дисфункциональном или поврежденном эндотелии ацетилхолин вызывает либо слабую вазодилатацию, либо даже вазоконстрикцию [11]. Для оценки эндотелий-независимой вазодилатации интракоронарно вводят экзогенные источники NO (нитроглицерин, нитропруссид натрия), которые непосредственно действуют на гладкие мышцы сосудов. Изменение диаметра артерий регистрируется с помощью систем цифровой количественной обработки изображений, а также с помощью внутрисосудистых ультразвуковых катетеров [12]. Данная методика, несмотря на непосредственную оценку сосудистой реактивности коронарных артерий, имеет ограничения в силу инвазивности процедуры и высокой стоимости, хотя и является наиболее точным методом оценки вазорегуляторной функции эндотелия.

D.S. Celermajer и соавт. (1992) разработали неинвазивный метод диагностики функционального состояния эндотелия путем оценки постокклюзионного изменения диаметра плечевых артерий с помощью ультразвука высокого разрешения [13]. Данный способ оценки функции эндотелия носит название «кровоток – опосредованное расширение» (Flow Mediated Dilatation – FMD). Во время проведения пробы происходит эндотелий-опосредованное выделение NO, что вызывает расширение сосудов, которое можно количественно определить как показатель вазомоторной функции [14]. Суть метода заключается в возрастании напряжения сдвига в результате увеличения кровотока по периферической артерии. Это достигается путем создания реактивной гиперемии, подразумевающей 5-минутную окклюзию плечевой артерии с помощью раздувания манжеты до давления, на 50 мм рт. ст. превышающего систолическое. Затем через 5 мин производят декомпрессию манжеты, что вызывает усиление кровотока и увеличение напряжения сдвига. С помощью ультразвукового датчика с высоким разрешением

измеряют скоростные показатели кровотока в течение 15–20 с, а диаметр артерии оценивают через 45–60 с после декомпрессии, когда отмечается его максимальный прирост [13]. Показатель ЭЗВД плечевой артерии рассчитывается по формуле

$$\text{ЭЗВД} = (D_2 - D_1) / D_1 \times 100\%,$$

где D_1 – исходный диаметр плечевой артерии, D_2 – диаметр плечевой артерии, измеренный после пробы с реактивной гиперемией [15]. Преимуществом данного метода является его неинвазивный характер, что позволяет проводить повторные измерения для оценки эффективности различных вмешательств, которые могут оказывать влияние на состояние сосудистого эндотелия [16].

T. Anderson и соавт. (1995) в своей работе продемонстрировали тесную связь показателей между ЭЗВД, полученной при коронарографическом исследовании с ацетилхолином и при ультразвуковом исследовании плечевой артерии, что позволило использовать плечевую артерию как универсальную модель для дальнейших оценок влияния различных факторов на функциональное состояние эндотелия [17].

T. Gori и соавт. (2008) описали новый неинвазивный метод – вазоконстрикция, вызываемая низкоскоростным потоком (low-flow-mediated constriction – L-FMC), позволяющий оценивать артериальный тонус в состоянии покоя. L-FMC заключается в сужении плечевой артерии, обусловленным снижением кровотока после окклюзии артерии с помощью дистально расположенной манжеты. L-FMC является простым и быстрым методом, дополняющим FMD и расширяющим диагностические возможности [18].

Наиболее простым и быстрым способом инструментальной диагностики эндотелиальной дисфункции является анализ формы объемной пульсовой волны, которую регистрируют с помощью фотоплетизмографического датчика, расположенного на ногтевой фаланге пальца руки обследуемого, с последующей обработкой полученного сигнала на компьютере. В процессе исследования регистрируется контур объемной пульсовой волны путем слияния двух волн: систолической (прямой) и отраженной. Рассчитывают индекс отражения как соотношение амплитуд прямой и отраженной волны, времени отражения (T), на которое отраженная волна отстает от систолической, и индекс жесткости (ИЖ) как соотношение роста пациента L (в метрах) на время отражения (в секундах). При различных патологиях сердечно-сосудистой системы наблюдается снижение эластичности сосудов, на что указывает повышение индекса отражения и индекса жесткости [19].

ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ

Лабораторные методы оценки эндотелиальной функции заключаются в определении концентрации определенных факторов, синтезируемых эндотелием и выполняющих различные функции.

Для оценки вазомоторной функции в первую очередь используют определение уровня NO и его метаболитов [20]. Известно, что NO синтезируется в результате окисления атомом кислорода L-аргинина при участии фермента NO-синтазы:

$$2\text{L-аргинин} + 3\text{НАДФН} + 4\text{O}_2 + 3\text{H}^+ \rightarrow 2\text{L-цитруллин} + 2\text{NO} + 3\text{НАДФ} + 4\text{H}_2\text{O}.$$

По структуре изоформы NO-синтаз (NOS) разделяются на эндотелиальные (eNOS), нейрональные (nNOS) и индуцибельные (iNOS), по механизму действия – на конституциональные (cNOS) и индуцибельные (iNOS) [21, 22]. cNOS участвуют в синтезе NO при гипоксических состояниях с вазоконстрикцией сосудов, iNOS – после индукции их бактериальными эндотоксинами, некоторыми медиаторами воспаления, активными формами кислорода [21]. Свое действие NO-синтазы могут оказывать только при наличии кофакторов: флавинов, НАДФН-оксидазы (NADPH-оксидаза, NOX), тетрагидробиоптерина [23].

Поскольку NO имеет период полураспада всего 0,1 с [24], обычно определяют уровень конечных продуктов окисления NO – нитритов и нитратов (NO_x). Материалом для исследования может служить плазма, сыворотка крови, культуральные жидкости [25]. Наиболее распространенным способом определения уровня NO_x является спектрофотометрический метод с применением реактива Грисса.

На первом этапе данного исследования определяют нитрит-ион с помощью реакции нитритов с реактивом Грисса, который содержит водный раствор 0,05%-го N-нафтилэтилендиамина и 1%-й раствор сульфаниламида в уксусной кислоте [26]. В ходе реакции образуется окрашенный диазопроduct с максимумом поглощения при длине волны 548 нм. Так как реактив Грисса выявляет только нитриты, проводят реакции восстановления нитратов в нитриты с помощью либо нитратредуктазы, либо металла ванадия (III) [27, 28].

При различных заболеваниях сердечно-сосудистой системы наблюдается снижение концентрации NO_x , что может быть следствием снижения экспрессии и активности eNOS, уменьшением уровня L-аргинина, кофакторов NO-синтазы, повышением эндогенных ингибиторов NO. У некоторых пациентов наблюдается повышение уровня NO_x при функциональных признаках снижения эндотелий-зависимой

вазодилатации, что свидетельствует о тяжелой дисфункции эндотелия. При этом увеличение концентрации конечных продуктов окисления NO может быть связано с активацией iNOS медиаторами воспаления (фактором некроза опухоли α (ФНО- α), интерлейкином (ИЛ) 6, ИЛ-1 β), липополисахаридами, активными формами кислорода. При избытке NO образуется токсический пероксинитрит, оказывающий цитостатическое и цитотоксическое действие [25].

Для оценки эндотелиальной дисфункции также определяют концентрацию асимметричного диметиларгинина (ADMA) – эндогенного ингибитора синтазы NO. ADMA представляет собой аминокислоту, синтезирующуюся из аргинина под действием белка аргинин-метилтрансферазы (PRMT). Существует две изоформы PRMT, одна из которых, PRMT-1, активирует образование ADMA, а вторая, PRMT-2, – образование симметричного диметиларгинина (SDMA). Именно ADMA оказывает ингибирующее воздействие на три изоформы NO-синтаз [29]. Концентрацию ADMA определяют с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с высокочувствительным лазерным флуоресцентным детектированием [30].

Для оценки вазоконстрикторной функции определяют уровень эндотелина-1 (ЕТ-1), который в высоких концентрациях способствует развитию эндотелиальной дисфункции. ЕТ-1 увеличивает выработку эндотелиального супероксида, что приводит к нарушению эндотелий-зависимой вазодилатации и запуску провоспалительных процессов [31]. Высокие концентрации ЕТ-1 в сыворотке крови обнаруживают у больных ишемической болезнью сердца, артериальной гипертензией, поражениями почек, акушерско-гинекологической патологией [32].

Оценка функции эндотелия также подразумевает определение концентрации и функциональной активности vWF, который опосредует агрегацию тромбоцитов и их адгезию к эндотелию сосудов. vWF – это мультимерный гликопротеин плазмы крови, который синтезируется в избыточном количестве эндотелиоцитами и мегакариоцитами в форме предшественника-пропептида vWFpp, подвергающегося затем посттрансляционным модификациям. Пропептид vWF (vWFpp) вместе с vWF хранится внутри эндотелиальных клеток в тельцах Вейбла – Палада и в α -гранулах мегакариоцитов [33–35]. Воспалительные цитокины способны стимулировать выработку из телец Вейбла – Палада и α -гранул vWF и vWFpp в высоких концентрациях (ИЛ-8 и ФНО- α) и ингибировать расщепление vWF (ИЛ-6), вследствие чего в крови и на поверхности эндотелиоцитов накапливается гиперреактивный фактор, что приводит

к усиленной активации агрегации и адгезии тромбоцитов к эндотелию сосудов [36]. Проведенные исследования указывают на значимость повышения концентрации vWF в качестве предиктора риска развития повторного инфаркта миокарда [37].

Существует несколько лабораторных тестов, оценивающих уровень и активность vWF. Количественное определение антигена vWF осуществляют методом иммуноферментного анализа (vWF:Ag) [34]. Также предложено оценивать уровень vWFpp в плазме крови как маркера эндотелиальной дисфункции, поскольку vWFpp не используется в процессе агрегации тромбоцитов в отличие от антигена vWF (vWF:Ag) [38]. Анализ соотношения vWFpp/vWF:Ag используют для оценки степени клиренса vWF. В нормальной плазме человека соотношение vWFpp/vWF:Ag составляет 1,0. У пациентов с болезнью Виллебранда типа 1С наблюдают снижение концентрации vWF из-за его быстрого выведения, что вызывает увеличение данного соотношения [33, 39].

Оценка активности (ристоцетин-кофакторная активность – RCoF) основывается на способности vWF активировать агрегацию и адгезию тромбоцитов путем взаимодействия домена A1 фактора с рецептором мембраны тромбоцитов – гликопротеином Ib (GPIb). Этот процесс имитируют путем добавления к суспензии отмытых эритроцитов в присутствии плазмы пациента ристоцетина, который способствует связыванию vWF с GPIb [40]. Скорость агрегации измеряют с помощью устройства – агрегатора. Нормальные значения метода варьируют от 50 до 200 МЕ/дл [41]. Проведение данного теста не исключает получения ложных результатов из-за возможного наличия дефектов в способности vWF связывать ристоцетин [42]. Разработан новый анализ, не подразумевающий использование ристоцетина. Он основан на применении рекомбинантного GPIb с усиленной функцией, который спонтанно связывает vWF *in vitro* [43].

vWF способен образовывать связи с коллагеном через домен A3 при повреждении эндотелиальной выстилки. Этот факт лежит в основе еще одного диагностического теста – количественного определения коллаген-связывающей активности vWF методом иммуноферментного анализа (vWF:CB) [44].

Через домены D и D3 vWF связывается с коагуляционным фактором VIII (FVIII) и переносит его по кровотоку в неактивном состоянии. В случае нарушения эндотелиальной выстилки, vWF доставляет FVIII к месту повреждения, где последний образует комплекс с коагуляционным фактором IX [34, 40, 41]. Оценивать сродство vWF к FVIII позволяет vWF/фактор VIII-связывающий тест (vWF:FVIII),

использующийся в основном для диагностики болезни Виллебранда типа 2N [45].

Для анализа антикоагулянтной функции эндотелия исследуют уровень тромбомодулина (ТМ), который представляет собой трансмембранный гликопротеин, экспрессируемый на поверхности эндотелиальных клеток кровеносных сосудов. В месте повреждения эндотелия тромбин связывается с ТМ, образуя комплекс тромбин-ТМ, способствующий активации протеина С, который осуществляет расщепление факторов Va и VIIIa, тем самым предотвращает чрезмерное образование фибринового сгустка. Концентрация ТМ в плазме здоровых людей относительно низкая. При повреждении эндотелия, сопровождающимся протеолизом, концентрация ТМ в плазме крови увеличивается в 1,5–2 раза. Уровень тромбомодулина в крови определяют методом иммуноферментного анализа [46].

Для оценки фибринолитической функции исследуют уровень тканевого активатора плазминогена (tPA), образующегося в эндотелиальных клетках. tPA обеспечивает внешний путь активации плазминогена путем образования тройного комплекса (фибрин + плазминоген + tPA), за счет чего образующийся плазмин обеспечивает протеолитическую деградацию фибрина [47]. Концентрация tPA также определяют с помощью иммуноферментного анализа [32].

Известно, что эндотелий играет важную роль в адгезии и миграции лейкоцитов посредством секреции адгезивных молекул: ICAM-1, VCAM-1, Р-селектина, Е-селектина и ve-кадгерина. Изменение концентрации данных веществ свидетельствует о повреждении эндотелия, указывает на тяжесть воспаления и может использоваться для определения прогноза течения заболевания [48].

Эндотелий принимает непосредственное участие в активации роста сосудов в условиях гипоксии и при повреждении тканей. Одним из важнейших регуляторов ангиогенеза является сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), который используют в качестве маркера эндотелиальной дисфункции. Наиболее значимо определение концентрации VEGF для диагностики онкологических процессов, поскольку рост кровеносных сосудов в опухоли способствует ее активизации, быстрому росту и метастазированию. VEGF, который взаимодействует с рецепторами эндотелия сосудов, является самым мощным медиатором этого процесса [49].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сегодня в распоряжении врача-исследователя имеется широкий спектр методов оценки функционального состояния эндотелия – лабораторных,

инструментальных и морфологических. Дальнейшее изучение функций эндотелия в норме и при патологии сможет прояснить остающиеся до сих пор непонятными элементы патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний, предложить меры первичной и вторичной профилактики. Показатели, характеризующие функции эндотелия, безусловно, являются лишь суррогатными промежуточными точками оценки эффективности тех или иных воздействий. Но оценка функций эндотелия может иметь огромное прогностическое значение, так как эндотелиальная дисфункция является одним из самых ранних доклинических маркеров повреждения сосудов. И, наоборот, – восстановление нарушенных показателей, вероятно, является одним из первых свидетельств эффективности проводимого профилактического или терапевтического вмешательства. Поэтому представляется необходимым и целесообразным продолжение изучения свойств и функций эндотелия, а также разработки и оптимизации диагностических методов оценки его состояния.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куприянов В.В. Эндотелий. Большая мед. энциклопедия. 3-е изд. М.: Сов. энцикл., 1986. Т. 28: 192–193.
2. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Физиология и патофизиология эндотелия. В кн.: Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2003: 4–38.
3. Вальдман В.А. Эндотелиит и «баночная проба». *Клиническая медицина*. 1938; 16 (3): 313–318.
4. Hladovec J., Prerovský I., Staněk V., Fabián J. Circulating endothelial cells in acute myocardial infarction and angina pectoris. *Klin. Wochenschr.* 1978; 56 (20): 1033–1036. DOI: 10.1007/bf01476669.
5. Миронов А.В., Торчинов А.М., Умаханова М.М., Галачев О.В., Османова С.Р., Филиппов А.В., Лебедев В.А. Оценка степени тяжести эндотелиальной дисфункции при осложнениях беременности. *Трудный пациент*. 2018; 16 (8–9): 30–36. DOI: 10.24411/2074-1995-2018-10006.
6. Асташев П.Е., Гудьмович В.Г. Маркеры эндотелиальной дисфункции как прогностический признак течения внутрисердечного инфекционного процесса. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова*. 2011; 6 (3): 3–8.
7. Chironi G.N., Boulanger C.M., Simon A., Dignat-George F., Freyssinet J.M., Tedgui A. Endothelial microparticles in diseases. *Cell Tissue Res.* 2009; 335 (1): 143–151. DOI: 10.1007/s00441-008-0710-9.
8. Leroyer A.S., Tedgui A., Boulanger C.M. Role of microparticles in atherothrombosis. *J. Intern. Med.* 2008; 263 (5): 528–537. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2008.01957.x.
9. Lacroix R., Judicone C., Mooberry M., Boucekine M., Key N.S., Dignat-George F. Standardization of pre-analytical variables in plasma microparticle determination: results of the International Society on Thrombosis and Haemostasis SSC Collaborative workshop. *J. Thromb. Haemost.* 2013; 10:12207. DOI: 10.1111/jth.12207.
10. Werns S.W., Walton J.A., Hsia H.H., Nabel E.G., Sanz M.L., Pitt B. Evidence of endothelial dysfunction in angiographically normal coronary arteries of patients with coronary artery disease. *Circulation*. 1989; 79 (2): 287–291. DOI: 10.1161/01.cir.79.2.287.
11. Ludmer P.L., Selwyn A.P., Shook T.L., Wayne R.R., Mudge G.H., Alexander R.W., Ganz P. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N. Engl. J. Med.* 1986; 315 (17): 1046–1051. DOI: 10.1056/NEJM198610233151702.
12. Полонецкий О.Л., Полонецкий Л.З. Дисфункция эндотелия и атеросклероз. *Медицинские новости*. 2012; (6): 6–11.
13. Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M., Spiegelhalter D.J., Miller O.I., Sullivan I.D., Lloyd J.K., Deanfield J.E. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992; 340 (8828): 1111–1115. DOI: 10.1016/0140-6736(92)93147-f.
14. Joannides R., Haefeli W.E., Linder L., Richard V., Thürlitz C., Lüscher T.F. Role of nitric oxide in flow-dependent vasodilation of human peripheral arteries in vivo. *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.* 1994; 87 (8): 983–985.
15. Ковалева И.Б., Мясоедова С.Е., Богатова И.К., Букина Е.А. Функция эндотелия у женщин с артериальной гипертензией в постменопаузе. *Кардиоваскуляр. терапия и профилактика*. 2004; 3 (6): 4–8.
16. Corretti M.C., Anderson T.J., Benjamin E.J., Celermajer D., Charbonneau F., Creager M.A., Deanfield J., Drexler H., Gerhard-Herman M., Herrington D., Vallance P., Vita J., Vogel R. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002; 39 (2): 257–265. DOI: 10.1016/s0735-1097(01)01746-6.
17. Anderson T.J., Uehata A., Gerhard M.D., Meredith I.T., Knab S., Delagrangé D., Lieberman E.H., Ganz P., Creager M.A., Yeung A.C. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995; 26 (5): 1235–1241. DOI: 10.1016/0735-1097(95)00327-4.
18. Gori T., Dragoni S., Lisi M., Di Stolfo G., Sonnati S., Fineschi M., Parker J.D. Conduit artery constriction mediated by low flow a novel noninvasive method for the assessment of vascular function. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 51 (20): 1953–1958. DOI: 10.1016/j.jacc.2008.01.049.
19. Калакутский Л.И., Лебедев П.А., Комарова М.В. Методика анализа контура пульсовой волны в диагностике функции сосудистого эндотелия. *Известия ЮФУ. Технические науки*. 2008; 82 (5): 43–47.
20. Tsikas D. Methods of quantitative analysis of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in human biological fluids. *Free Radic. Res.* 2005; 39 (8): 797–815. DOI: 10.1080/10715760500053651.
21. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; (4): 462.
22. Мельникова Ю.С., Макарова Т.П. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических

- болезней. *Казанский медицинский журнал*. 2015; 96 (4): 659–665.
23. Аверкин Н.С., Латынова И.В., Федорова М.Г., Чудаева Д.Г., Вишнякова Ж.С., Пивоваров Е.В., Самарцев А.Д. Значение окислительного стресса в механизмах старения артериальной стенки. *Современные проблемы науки и образования*. 2018; 6: 42.
24. Kelm M., Schrader J. Control of coronary vascular tone by nitric oxide. *Circ. Res.* 1990; 66 (6): 1561–1575. DOI: 10.1161/01.res.66.6.1561.
25. Лапшина Л.А., Кравчун П.Г., Титова А.Ю., Глебова О.В. Значение определения нитритов-нитратов как маркеров дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистой патологии. *Украинский медицинский журнал*. 2009; (6): 49–53.
26. Мажитова М.В. Спектрофотометрическое определение уровня метаболитов монооксида азота в плазме крови и ткани мозга белых крыс. *Современные проблемы науки и образования*. 2011; 3. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=4655>
27. Ramesh S.S., Prasanthi A., Bhat D.I., Devi B.I., Cristopher R., Philip M. Correlation between plasma total nitric oxide levels and cerebral vasospasm and clinical outcome in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage in Indian population. *J. Neurosci. Rural. Pract.* 2014; 5 (1): 22–27. DOI: 10.4103/0976-3147.145196.
28. Miranda K.M., Espey M.G., Wink D.A. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric. Oxide*. 2001; 5 (1): 62–71. DOI: 10.1006/niox.2000.0319.
29. Landim M.B., Casella Filho A., Chagas A.C. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction: implications for atherogenesis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2009; 64 (5): 471–478. DOI: 10.1590/s1807-59322009000500015.
30. Bassareo P.P., Puddu M., Flore G., Deidda M., Manconi E., Melis A., Fanos V., Mercurio G. Could ADMA levels in young adults born preterm predict an early endothelial dysfunction? *Int. J. Cardiol.* 2012; 159 (3): 217–219. DOI: 10.1016/j.ijcard.2011.02.069.
31. Cerrato R., Cunningham C., Crabtree M.J., Antoniadis C., Pernow J., Channon K.M., Böhm F. Endothelin-1 increases superoxide production in human coronary artery bypass grafts. *Life Sci.* 2012; 91 (13-14): 723–728. DOI: 10.1016/j.lfs.2012.03.024.
32. Иванов А.Н., Гречихин А.А., Норкин И.А., Пучиньян Д.М. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2014; 13 (4): 4–11.
33. Stufano F., Boscarino M., Bucciarelli P., Baronciani L., Maino A., Cozzi G., Peyvandi F. Evaluation of the utility of von Willebrand factor propeptide in the differential diagnosis of von Willebrand disease and acquired von Willebrand Syndrome. *Semin. Thromb. Hemost.* 2019; 45 (1): 36–42. DOI: 10.1055/s-0038-1660481.
34. Лихачева Е.А., Полянская Т.Ю., Зоренко В.Ю. Международный опыт диагностики и лечения болезни Виллебранда. *Гематология и трансфузиология*. 2013; 58 (4): 45–49.
35. Исаев Д.П., Касумова Р.Д. Определение концентрации фактора Виллебранда в сыворотке крови больных острым гепатитом В, осложненным узелковым полиартериитом. *Биомедицина*. 2019; 17 (2): 18–21. DOI: 10.24411/1815-3917-2019-10012.
36. Bernardo A., Ball C., Nolasco L., Moake J.F., Dong J.F. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. *Blood*. 2004; 104 (1): 100–106. DOI: 10.1182/blood-2004-01-0107.
37. Springer T.A. Von Willebrand factor, Jedi knight of the bloodstream. *Blood*. 2014; 124 (9): 1412–1425. DOI: 10.1182/blood-2014-05-378638.
38. Marianor M., Zaidah A.W., Maraina Ch.C. von Willebrand Factor Propeptide: A potential disease biomarker not affected by ABO blood groups. *Biomark. Insights*. 2015; 10: 75–79. DOI: 10.4137/BMI.S24353.
39. Jacobi P.M., Kanaji S., Jakab D., Gehrand A.L., Johnsen J.M., Habrichter S.L. Von Willebrand factor propeptide to antigen ratio identifies platelet activation and reduced von Willebrand factor survival phenotype in mice. *J. Thromb. Haemost.* 2018; 16 (3): 546–554. DOI: 10.1111/jth.13934.
40. Чернова Е.В. Фактор Виллебранда. *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. 2018; 10 (4): 73–80. DOI: 10.17816/mechnikov201810473-80.
41. Костерина А.В. Вопросы диагностики и лечения болезни Виллебранда. *Практическая медицина*. 2018; 16 (7-2): 51–54.
42. Sharma R., Flood V.H. Advances in the diagnosis and treatment of Von Willebrand disease. *Blood*. 2017; 130 (22): 2386–2391. DOI: 10.1182/blood-2017-05-782029.
43. Patzke J., Budde U., Huber A., Méndez A., Muth H., Obser T., Peerschke E., Wilkens M., Schneppenheim R. Performance evaluation and multicentre study of a von Willebrand factor activity assay based on GPIb binding in the absence of ristocetin. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 2014; 25 (8): 860–870. DOI: 10.1097/MBC.000000000000169.
44. Ni Y., Nesrallah J., Agnew M., Geske F.J., Favaloro E.J. Establishment and characterization of a new and stable collagen-binding assay for the assessment of von Willebrand factor activity. *Int. J. Lab. Hematol.* 2013; 35 (2): 170–176. DOI: 10.1111/ijlh.12019.
45. Federici A.B. Current and emerging approaches for assessing von Willebrand disease in 2016. *Int. J. Lab. Hematol.* 2016; 38 (Suppl. 1): 41–49. DOI: 10.1111/ijlh.12540.
46. Demeulenaere M., Devreese K., Vanbelleghem H., De Zaeytjij J., Walle J.V., Biesen W.V., Laecke S.V. Thrombomodulin and endothelial dysfunction: A disease-modifier shared between malignant hypertension and atypical hemolytic uremic syndrome. *Nephron*. 2018; 140 (1): 63–73. DOI: 10.1159/000490201.
47. Тульцева, С.Н. Использование рекомбинантного тканевого активатора плазминогена в лечении окклюзий вен сетчатки. *Офтальмологические ведомости*. 2010; 3 (1): 42–50.
48. Reinhart K., Bayer O., Brunkhorst F., Meisner M. Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis. *Crit. Care Med.* 2002; 30 (5): 302–312. DOI:10.1097/00003246-200205001-00021.

49. Глыбочко П.В., Захарова Н.Б., Понукалин А.Н., Дурнов Д.А., Шахпазян Н.К. Диагностическое значение пока-

зателей ангиогенеза при раке почки. *Онкоурология*. 2011; (3): 25–31.

Сведения об авторах

Шабров Александр Владимирович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, гл. науч. сотрудник, отдел экологической физиологии, ИЭМ, г. Санкт-Петербург.

Галенко Андрей Сергеевич, канд. мед. наук, доцент, кафедра факультетской терапии им. проф. В.А. Вальдмана, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург. ORCID 0000-0002-2931-8413.

Успенский Юрий Павлович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой факультетской терапии им. проф. В.А. Вальдмана, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург.

Лосева Кристина Александровна, ординатор, кафедра факультетской терапии им. проф. В.А. Вальдмана, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург.

(✉) **Галенко Андрей Сергеевич**, e-mail: asgalenko@mail.ru

Поступила в редакцию 25.04.2020

Подписана в печать 29.09.2020