

## ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ С ДЕГЕНЕРАТИВНЫМ СТЕНОЗОМ КЛАПАНА АОРТЫ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

Гуляев Н.И.

ФГБОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» Минобороны России, 194044, г. Санкт-Петербург

Для корреспонденции: Гуляев Николай Иванович — канд. мед. наук, доц. каф. госпитальной терапии; e-mail: nig27@mail.ru

*Рассмотрены патофизиологические и клинические аспекты дисфункции эндотелия у больных с дегенеративным стенозом клапана аорты. Представлены основные маркеры антикоагулянтной, фибринолитической, пролиферативной, противовоспалительной функций эндотелия, их патогенетическая роль в развитии сосудистого и клапанного ремоделирования. Проанализирован ряд клинических исследований, проведенных с целью использования детерминант эндотелиальной дисфункции для оценки клинического прогноза у больных с дегенеративным стенозом клапана аорты.*

*Ключевые слова:* дегенеративный стеноз клапана аорты; дисфункция эндотелия; оксид азота; фактор Виллебранда; липопротеины; гомоцистеин; молекулы адгезии.

*Для цитирования:* Клини. мед. 2015; 93 (5): 37—42.

### ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH DEGENERATIVE AORTIC VALVE STENOSIS: THE STATE-OF-THE-ART

Gulyaev N.I.

S.M. Kirov Military Medical Academy, Russian Ministry of Defense, Sankt-Peterburg, Russia

*Correspondence to:* Nikolai I. Gulyaev — MD, PhD; e-mail: nig27@mail.ru

*Pathophysiological and clinical aspects of endothelial dysfunction in patients with degenerative aortic valve stenosis are considered with special reference to the markers of anticoagulative, fibrinolytic, proliferative, anti-inflammatory functions of endothelium and their pathogenetic role in vascular and valvular remodeling. Results of analysis of certain clinical studies with the use of determinants of endothelial dysfunction are presented for the assessment of clinical prognosis in patients with degenerative aortic valve stenosis.*

*Key words:* degenerative aortic valve stenosis; endothelial dysfunction; nitric oxide; Willebrand factor; lipoproteins; homocysteine; adhesion molecules.

*Citation:* Klin. med. 2015; (93) 5: 37—42.

В настоящее время результатами многочисленных исследований доказано, что дегенеративный стеноз клапана аорты (ДСКА) характеризуется неблагоприятным прогнозом и увеличением количества случаев внезапной смерти с 1—3 до 15—20% в год при наличии клинических симптомов заболевания. В больших популяционных исследованиях показано, что наличие ДСКА негативно влияет на прогноз у этой категории пациентов, поскольку он ассоциируется с повышением риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и летальности на 50%. Прогрессирование ДСКА и развитие тяжелого стеноза могут быть стремительнее, чем предполагалось, однако это лишь частично объясняет высокую смертность — ведь более 50% летальных случаев не связано с поражением сердца [1, 2].

Проблема ДСКА нашла отражение в работах зарубежных и отечественных ученых [3—6]. Кроме того, в последнее время этот вопрос часто рассматривается через призму эндотелиальной дисфункции [7, 8], хотя многие вопросы патогенеза ДСКА, а также возможность использования маркеров дисфункции эндотелия для клинического прогноза заболевания остаются актуальной проблемой современной кардиологии.

Цель работы — проанализировать современное состояние проблемы эндотелиальной дисфункции у больных с ДСКА.

Патогенез ДСКА, по современным представлениям, имеет общие черты с процессами, которые лежат в основе развития атеросклероза. Факторами риска развития ДСКА являются пожилой возраст, мужской пол, дислипидемия, артериальная гипертензия, сахарный диабет и курение. Предполагается, что ДСКА, как и атеросклероз, является ответом на повреждение, в патогенезе которого лежит активный клеточно-гуморальный процесс, с накоплением липопротеинов, признаками дисфункции эндотелия, активным воспалительным процессом и нейрогормональной активацией [9].

Морфологически в субэндотелиальном и фиброзном слоях обнаруживают модифицированные липопротеины низкой плотности (ЛПНП), что в свою очередь активирует брадикинин и увеличивает пролиферацию клеток. ЛПНП играют также основную роль в возникновении и прогрессировании атеросклеротического поражения, снижении экспрессии эндотелиальной синтазы оксида азота (NO) в эндотелии артерий и клапана аорты, что приводит к возникновению оксидативного стресса и повышенной экспрессии супероксиддисмутазы. На следующем этапе (дистрофическая кальцификация) происходят отложение микрокристаллов гидроксиапатита в участках поврежденного эндотелия, появление тучных клеток и активация цитокинов [6].

При ДСКА происходит денудация (обнажение эндотелия артерий), нарушаются барьерные свойства сосудистой стенки, растёт её проницаемость и как следствие составные части плазмы крови (липопротеины, альбумин, фибриноген) инфильтрируют интиму сосудов, развивается липоидоз [4].

Гемодинамические факторы (скорость потока крови, давление на стенку клапана) также являются одной из предпосылок нормального функционирования эндотелия [10].

Для сосудистого эндотелия характерны следующие функции: синтез вазоактивных субстанций (NO, эндотелин, ангиотензин I и II, простагландин, тромбосан); предупреждение коагуляции крови (благодаря тромборезистентной поверхности, экспрессии тромбомодулина, влиянию на экспрессию генов, кодирующих синтез молекул клеточной адгезии — семейства sE-, sP-, sL-селектинов, sVCAM-1, sICAM-1, sPECAM-1; участие в процессах фибринолиза (синтез t-PA — тканевого активатора плазминогена); иммунные функции (экспрессия антигенов иммунокомпетентными клетками, секреция интерлейкина — ИЛ — 1); ферментативная функция (экспрессия на поверхности эндотелиальных клеток ангиотензинпревращающего фермента); участие в регуляции роста гладкомышечных клеток (секреция эндотелиального фактора релаксации, гепариноподобных ингибиторов роста); защита гладкомышечных клеток от вазоконстрикторных стимулов; предотвращение проникновения белков плазмы крови и ЛПНП [8, 11, 12].

На сегодня мнения о том, первична или вторична эндотелиальная дисфункция по отношению к атеросклерозу и ДСКА, являются достаточно противоречивыми. По данным некоторых авторов, дисфункция эндотелия при ДСКА является скорее следствием заболевания, чем его причиной. Другие исследователи утверждают, что нарушение функции эндотелия является первичным феноменом [3]. В то же время многие авторы сходятся во мнении, что инициатором атерогенеза и ДСКА является не столько денудация эндотелия, сколько его дисфункция [13].

В физиологических условиях эндотелий обеспечивает адекватную вазодилатацию, подавляет активацию и адгезию тромбоцитов, а также коагуляционную активность крови, предупреждает воспалительные процессы. При эндотелиальной дисфункции нарушаются естественные механизмы защиты, изменяется соотношение вазодилататоров и вазоконстрикторов, активируются тромбоцитарное звено гемостаза и система коагуляции, угнетается фибринолиз, происходят активация и адгезия лейкоцитов. Последний фактор стимулирует повышение сосудистой проницаемости, продукцию хемо- и цитокинов, пептидных ростовых и антиростовых факторов, экспрессию лейко- и тромбоцитарных молекул адгезии. Повышение проницаемости эндотелиального барьера под воздействием протеолитических ферментов лейкоцитов, нарушение процессов их миграции приводят к воспалительным изменениям в интима и медиальном слое, которые яв-

ляются дополнительным фактором апоптоза и пролиферации фибробластов клапана аорты, развития межклеточного фиброза [12].

По скорости образования в эндотелии различных факторов, а также по преимущественному направлению секреции этих веществ (внутриклеточная или внеклеточная) можно разделить вещества эндотелиального происхождения на следующие группы: факторы, постоянно образующиеся в эндотелии и выделяющиеся из клеток в базолатеральном направлении или в кровь (NO, простагландин); факторы, накапливающиеся в эндотелии и выделяющиеся из него при стимуляции (фактор Виллебранда, sP-селектин, тканевый активатор плазминогена) — эти факторы могут попадать в кровь не только при стимуляции эндотелия, но и при его активации и повреждении; факторы, синтез которых в нормальных условиях практически не происходит, однако резко увеличивается при активации эндотелия (эндотелин-1, sVCAM-1, sICAM-1, sPECAM-1, sE-селектин, ингибитор активации плазминогена 1-го типа — PAI-1); факторы, синтезируемые и накапливающиеся в эндотелии (t-PA) либо являющиеся мембранными белками (рецепторами) эндотелия (тромбомодулин, рецептор протеина C) [7, 8, 14, 15].

NO играет важную роль в регулировании физиологических процессов. Синтез NO из L-аргинина происходит под воздействием трех основных изоформ фермента NO-синтазы (NOS): нейрональной (nNOS), эндотелиальной (eNOS) и индуцибельной (iNOS). В сосудистом эндотелии NO представляет собой короткоживущий субстрат (период полураспада 2—30 с), который за счет активации цГМФ играет ключевую роль в релаксации [16]. Вазодилатация является доминирующим эффектом NO, хотя известны и другие важные свойства субстрата. В частности, NO тормозит пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток, предотвращает процесс окисления ЛПНП, тормозит агрегацию и адгезию тромбоцитов и лейкоцитов (моноцитов) на эндотелиальных клетках, уменьшает синтез эндотелина, ангиотензина II и промоторов роста (тромбоцитарного фактора роста, трансформирующего фактора роста β-1), что снижает окислительную пролиферацию ЛПНП, которая препятствует формированию пенных клеток и прогрессированию атеросклероза [11].

Нарушение функции эндотелия проявляется также в снижении его антикоагулянтной функции. В развитии патологии гемостаза, в частности внутрисосудистого микросвертывания крови, ведущим фактором является нарушение целостности эндотелия и равновесия в системе коагуляции и антикоагуляции. В эпидемиологических исследованиях выделен ряд показателей, которые могут быть предикторами артериального тромбоза: повышение уровня фибриногена, ингибитора плазминогена, эндотелина-1, молекул адгезии (sVCAM-1, sICAM-1, sPECAM-1) [17].

Фибринолитическая система рассматривается как система естественной противотромботической защиты, а также как система, которая принимает участие

в прогрессировании атеросклеротического процесса. Тканевый активатор плазминогена является маркером фибринолитической функции эндотелия. Высокий уровень ингибитора плазминогена-1 (PAI-1) является фактором риска повреждения миокарда, поэтому определяется в качестве предиктора прогрессирования кардиоваскулярных событий. В исследовании FINRISK'92 Hemostatic Study установлена высокая активность плазминогена и его ингибитора как фактор риска возникновения коронарных событий и смертности в финской популяции. В исследовании APSIS отмечено снижение фибринолитической активности у больных ишемической болезнью сердца, однако прогностическое значение факторов фибринолиза у пациентов этой группы не анализировалось [15].

Исследование кардиоваскулярных биомаркеров предопределяет развитие концепции для разработки новых факторов риска. Например, фактор фон Виллебранда признан биомаркером II категории (прогностический индикатор); в исследовании PRIME он указывается как независимый индикатор риска возникновения сердечно-сосудистых событий. Повышенный показатель активности фактора фон Виллебранда является индикатором повреждения эндотелия при сосудистых заболеваниях; предварительные исследования показали, что повреждение эндотелия указанным субстратом может быть прогностичным для сосудистых осложнений [14, 18].

Пролиферативную активность эндотелия можно охарактеризовать процессами неоваскуляризации, которая может быть представлена в трех формах: ангиогенез, васкулогенез и артериогенез. Артериогенез фактически является проявлением сосудистого ремоделирования и прогрессирования атеросклероза. Гипоксия или ишемия является естественным биологическим стимулом эндогенного ангиогенеза. В результате гипоксии стимулируется промоутер гена фактора роста сосудистого эндотелия (vascular endothelial growth factor — VEGF), который вызывает его экспрессию. Семейство VEGF представлено гликопротеинами, где VEGF-1 (известен также как VEGF-A) изучается наиболее интенсивно в экспериментальных и клинических исследованиях. В свою очередь VEGF-1 имеет 4 изоформы, каждая из которых является результатом альтернативного сплайсинга и содержит 121, 165, 189 и 206 аминокислот (VEGF-121, VEGF-165, VEGF-189 и VEGF-206) [19].

Несоответствие процесса ангиогенеза потребностям организма может привести к развитию ряда патологических состояний. Биологические эффекты VEGF опосредуются через два типа тирозинкиназных рецепторов (RTKs) — VEGFR-1 и VEGFR-2, которые являются антагонистичными по сигнальным эффектам (VEGFR-2 — стимулятор, VEGFR-1 — ингибитор). VEGF стимулирует синтез протеаз сосудистым эндотелием, включая активатор плазминогена и металлопротеиназы. У пациентов с ДСКА может нарушаться регуляция ангиогенеза [19, 20].

Интересна связь между уровнем VEGF и отношением eNOS/NO. В культуре эндотелиальных клеток VEGF увеличивает экспрессию мРНК гена eNOS в зависимости от времени экспрессии и дозы VEGF. Механизм, за счет которого VEGF усиливает экспрессию мРНК гена eNOS, до конца не изучен. В то же время доказано, что внутриклеточная секреция VEGF зависит от активности промежуточных кальцийзависимых — калийактивируемых каналов [19].

Среди факторов, повреждающих эндотелий, следует отметить такую субстанцию, как гомоцистеин, который является гомологом аминокислоты цистеина, отличаясь от последнего одной метиленовой группой (-CH<sub>2</sub>-). Указанная субстанция синтезируется в организме из метионина путем отделения терминальной метильной группы. Возможна обратная реакция конвертации в метионин, но в составе белков организма человека указанная аминокислота не встречается. Гомоцистеин быстро окисляется в плазме крови; в результате образуется большое количество радикалов, содержащих активный кислород. При этом происходит повреждение клеток эндотелия, приводящее к потере эластичности внутрисосудистой выстилки, а также окисление ЛПНП, что в свою очередь тоже способствует развитию сердечно-сосудистых заболеваний. Непосредственно повреждая внутреннюю артериальную выстилку, гомоцистеин также угнетает синтез NO и сульфатированных гликозаминогликанов. Вследствие этого усиливается агрегация тромбоцитов. При гипергомоцистеинемии уменьшается синтез простаглицлина, а также усиливается рост гладкомышечных клеток артерий (гомоцистеин усиливает синтез ИЛ-6, который стимулирует пролиферацию гладкомышечных клеток сосудистой стенки), что приводит к развитию тромбоvascularной патологии [7].

При гипергомоцистеинемии дисфункция эндотелия также связана и с нарушением метаболизма липидов. В нормальных условиях липиды не проникают через эндотелий сосудов. При нарушении барьерной функции эндотелия при гипергомоцистеинемии наблюдается повышение проницаемости его для ЛПНП, что способствует развитию атеросклеротического процесса, дальнейшему ремоделированию клапана аорты и прогрессированию ДСКА [7]. В дальнейшем окисленные ЛПНП повреждают эндотелий, стимулируют продукцию моноцитами ИЛ-1, фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ), которые играют большую роль в формировании атеросклеротической бляшки и ремоделировании поверхности эндотелия. При инфильтрации липидами интимы сосудов происходит нарушение синтеза NO эндотелиальными клетками, что приводит к спазму сосудов и потенцирует развитие атеросклероза. Ремнантные частицы, которые образуются при метаболизме липопротеинов, обогащенных триглицеридами, — хиломикроны и липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП) — усугубляют эндотелиальную дисфункцию и способствуют дальнейшему снижению продукции NO [21]. Таким образом, у больных с ДСКА развивается порочный круг.

Кроме гипергомоцистеинемии, причиной запрограммированной смерти эндотелиальных клеток может быть свободнорадикальное повреждение клеток в условиях гипероксигенации, вызванной повышенным гидростатическим давлением, а также в условиях ишемии и реперфузионных изменений на фоне вазоконстрикторных реакций, которые имеют место у пациентов с ДСКА. Большинство исследователей отмечают возрастание активности перекисного окисления липидов и снижение антиоксидантной системы защиты, что способствует непрерывной регенерации свободных радикалов, нарушающих структуру фосфолипидов и стабильность мембран клеток и сопровождается нарушением их функции [22]. Оксидативный стресс снижает активность NO и эндотелийзависимую дилатацию. Вместе с тем влияние активных форм кислорода может распространяться и на белки, в том числе на белковые компоненты ферментов, рецепторов, ионных каналов плазматических мембран, которые определяют возможность нормального функционирования разных клеток и тканей в целостном организме [5].

В результате более углубленных экспериментальных исследований установлено, что воздействие липопротеинов — это один из факторов нарушения функциональных свойств эндотелия, уменьшения его противовоспалительных и антиатерогенных свойств. Известно, что даже при интактном эндотелии в субэндотелиальное пространство могут проникать и накапливаться высокоатерогенные аномальные ЛПНП — так называемые маленькие плотные частицы [6]. Прирост их концентрации наблюдается в условиях повышенного оксидантного стресса — эффекторного механизма системного воспаления — на фоне активации провоспалительных клеток и высвобождения активных форм кислорода. Известно, что проатерогенный потенциал имеют не нативные, а модифицированные липопротеины, даже минимально окисленные, которые возникают при системном воспалении и активно участвуют в развитии эндотелиальной дисфункции на начальных этапах атерогенеза [23]. Накапливаясь в сосудистой стенке, окисленные ЛПНП стимулируют продукцию ИЛ, факторов роста, молекул адгезии, предопределяя таким образом развитие эндотелиальной дисфункции и ремоделирование сосудистого и клапанного эндотелия у больных с ДСКА.

Таким образом, в последние годы особое значение имеет воспалительная теория атерогенеза. Действительно, признаки локального и, что следует подчеркнуть, системного неспецифического воспаления при атеросклерозе отмечаются уже на ранних стадиях поражения сосудистой стенки до момента повреждения и при дестабилизации атеросклеротической бляшки. При атеросклерозе в воспалительный процесс вовлекается несколько типов иммунокомпетентных клеток (прежде всего моноциты, Т- и В-лимфоциты), а клеточное взаимодействие обеспечивается хемоаттрактантами, молекулами адгезии и цитокинами [12].

Воспалительный процесс при атеросклерозе является следствием универсальной реакции — ответа эн-

дотелия на повреждающее действие факторов риска и, возможно, некоторых инфекционных агентов. Такой взгляд объединяет две популярные гипотезы: «ответ на повреждение» и «воспаление». Сходство атеросклероза и воспалительного процесса заключается в общих гуморальных и клеточных реакциях, поскольку в них принимают участие те же соединительнотканые клетки: эндотелиоциты, гладкомышечные клетки, фибробласты, моноциты, макрофаги, нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, тромбоциты [24].

Адгезия нейтрофилов и моноцитов обеспечивается одинаковыми молекулами-посредниками: интегринами — на мембране нейтрофилов и моноцитов, Е-селектином — на мембране эндотелия, Р-селектином — на поверхности тромбоцитов. При обоих процессах происходит активная инфильтрация тканей циркулирующими в крови моноцитами и нейтрофилами. Они принимают участие в образовании активных форм кислорода, супероксид-радикалов, при этом опять же повышается уровень перекисного окисления липидов и белков [5].

В указанном процессе следует отметить особую роль молекул адгезии — семейств интегрина и селектина.

Движение лейкоцитов в очаг воспаления начинается с серии адгезионных событий. Вначале лейкоциты вступают лишь в быстротекущие контакты с эндотелиальными клетками и как бы скользят по поверхности сосудистого эндотелия. Эта фаза обеспечивается взаимодействием сначала Р-, а потом L- и Е-селектина с углеводными компонентами мембран клеток. L-селектин экспрессируется на большинстве лейкоцитов, Е-селектин синтезируется на активированных клетках эндотелия [23].

Интегрины — это большое семейство молекул клеточной поверхности, представители которых обнаружены на большинстве типов клеток. Интегрины опосредуют взаимодействие клеток с их микроокружением, обеспечивая адгезию клетка—клетка и клетка—матрикс. На поверхности эндотелиальных клеток лигандами интегринов служат молекулы, которые имеют структурную гомологию с иммуноглобулинами. К ним относятся межклеточные адгезионные молекулы: ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, а также сосудисто-клеточная молекула адгезии — vCAM1. Последняя экспрессируется преимущественно на активированных клетках эндотелия [17].

Все стадии адгезии и трансмиграции зависят от активации эндотелиальных клеток, которая проявляется усилением экспрессии на них адгезионных молекул [17].

Как при атеросклерозе, так и при воспалении разрушение фагоцитов приводит к активации синтеза клетками различных факторов (хемоаттрактанты, ИЛ), а также к пролиферации гладкомышечных клеток, отложению липидов, сосудистому и клапанному ремоделированию у больных с ДСКА. ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО $\alpha$  повышают адгезивность клеток крови к эндотелию сосудов, их прокоагулянтную активность, и подвижность

нейтрофилов, для ряда клеток являются хемоаттрактантами, способствуют активации клеток в очаге воспаления, усиливают продукцию ими других цитокинов и простагландинов, синтез коллагена и фибронектина, стимулируют фагоцитоз, генерацию супероксид-радикалов, вызывают дегрануляцию тучных клеток, обуславливают синтез белков острой фазы воспаления. Все это способствует развитию эксудативной и пролиферативной составляющих воспалительной реакции. Многими исследователями доказано повышение уровня ИЛ-1 и ИЛ-6 у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, в том числе с ДСКА, причем повышение ассоциировалось с начальными признаками развития атеросклеротического поражения сосудов у этой категории больных. В ряде клинических работ в сыворотке крови больных с ишемической болезнью сердца установлено повышение уровня ФНО $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-8 и доказана его связь со степенью поражения коронарного русла и дестабилизацией течения заболевания [25].

Таким образом, одной из ведущих патогенетических основ развития ДСКА является повреждение эндотелиального слоя, следствием которого являются гипертрофия и перераспределение клеток, что служит физиологической основой сердечно-сосудистого ремоделирования. Также в последнее время актуальным вопросом кардиологии остается роль дисфункции эндотелия как раннего маркера поражения сердечно-сосудистой системы. Эти исследования предопределяют значительный прогресс в понимании патогенеза атеросклероза и его последствий, в том числе ДСКА, хотя доказательств прогностического значения изолированной эндотелиальной дисфункции на сегодня недостаточно. В то же время проводимые в настоящее время исследования маркеров эндотелия (NO и его метаболитов, эндотелинов, молекул адгезии и др.) могут привести к появлению более простых тестов для оценки эндотелиальной дисфункции у больных с ДСКА, которые могли бы быть изучены в проспективных исследованиях и, возможно, использоваться в клинике.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Poplawska-Kita A., Siewko K., Telejko B., Modzelewska A., Myśliwiec J., Milewski R. et al. The changes in the endothelial function and haemostatic and inflammatory parameters in subclinical and overt hyperthyroidism. *Int. J. Endocrinol.* 2013; 98: 26—38.
2. Skerk V., Markotic A., Delic Brkljacic D., Manola S., Krčmar T., Gabrić I. D. et al. The association of ventricular tachycardia and endothelial dysfunction in the setting of acute myocardial infarction with ST elevation. *Med. Sci. Monit.* 2013; 19: 1027—36.
3. Козырева В.С., Субботовская А.И., Шилова А.Н., Карпенко А.А. Иммунологические аспекты формирования рестенозов после повреждения эндотелия. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2014; 20 (1): 21—6.
4. Acharya G., Armstrong M., McFall C., Quinn R.W., Hilbert S.L., Converse G.L. et al. Calcium and phosphorus concentrations in native and decellularized semilunar valve tissues. *J. Heart Valve Dis.* 2014; 23 (3): 259—70.
5. Arcucci A., Ruocco M.R., Albano F., Granato G., Romano V., Corso G. et al. Analysis of extracellular superoxide dismutase and Akt in ascending aortic aneurysm with tricuspid or bicuspid aortic valve. *Eur. J. Histochem.* 2014; 58 (3): 2383. doi: 10.4081/ejh.2014.2383.
6. Buendia P., Montes de Oca A., Madueno J.A., Merino A., Martín-Malo A., Aljama P. et al. Endothelial microparticles mediate inflammation-induced vascular calcification. *FASEB J.* 2014; Oct 23. pii: fj. 14-249706.

7. Codoner-Franch P., Tavarez-Alonso S., Porcar-Almela M., Navarro-Solera M., Arilla-Codoñer A., Alonso-Iglesias E. Plasma resistin levels are associated with homocysteine, endothelial activation, and nitrosative stress in obese youths. *Clin. Biochem.* 2014; 47 (1—2): 44—8.
8. Heiss C., Rodriguez-Mateos A., Kelm M. Central role of eNOS in the maintenance of endothelial homeostasis. *Antioxid. Redox Signal.* 2014; 20: 39—41.
9. Rocchi E., Bursi F., Ventura P., Ronzoni A., Gozzi C., Casalgrandi G. et al. Anti- and pro-oxidant factors and endothelial dysfunction in chronic cigarette smokers with coronary heart disease. *Eur. J. Intern. Med.* 2007; 18 (4): 314—20.
10. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С. Коррекция эндотелиальной дисфункции как компонент в лечении облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2014; 20 (3): 17—22.
11. Kang K.T. Endothelium-derived relaxing factors of small resistance arteries in hypertension. *Toxicol. Res.* 2014; 30 (3): 141—8.
12. Leopold J.A. Neoatherosclerosis: another consequence of endothelial dysfunction? *Circ. Cardiovasc. Interv.* 2014; 7 (5): 635—7.
13. Miller L.J., Lincoln J. Isolation of murine valve endothelial cells. *J. Vis. Exp.* 2014; 90: 86—91.
14. Kleber M.E., Koller L., Goliash G., Sulzgruber P., Scharnagl H., Silbermangel G. et al. Von Willebrand factor improves risk prediction in addition to N-terminal Pro B-type natriuretic peptide in patients referred to coronary angiography and signs and symptoms of heart failure and preserved ejection fraction. *Circ. Heart Fail.* 2014; 23: 74—8.
15. Montorfano I., Becerra A., Cerro R., Echeverría C., Sáez E., Morales M.G. et al. Oxidative stress mediates the conversion of endothelial cells into myofibroblasts via a TGF- $\beta$ 1 and TGF- $\beta$ 2-dependent pathway. *Lab. Invest.* 2014; 94 (10): 1068—82.
16. Pechanova O., Varga Z., Cebova M., Giricz Z., Pacher P., Ferdinandy P. Cardiac nitric oxide signalling in metabolic syndrome. *Br. J. Pharmacol.* 2014; 8: 54—60.
17. van Eupen M.G., Schram M.T., Colhoun H.M., Hanssen N.M., Niessen H.W., Tarnow L. et al. The methylglyoxal-derived AGE tetrahydropyrimidine is increased in plasma of individuals with type 1 diabetes mellitus and in atherosclerotic lesions and is associated with sVCAM-1. *Diabetologia.* 2013; 56 (8): 1845—55.
18. Vaverkova H., Karasek D., Novotny D., Kovarova D., Halenka M., Slavik L. et al. Positive association of adiponectin with soluble thrombomodulin, von Willebrand factor and soluble VCAM-1 in dyslipidemic subjects. *Clin. Biochem.* 2013; 46 (9): 766—71.
19. Wu M., Zhou J., Cheng M., Boriboun C., Biyashev D., Wang H. et al. E2F1 suppresses cardiac neovascularization by downregulating VEGF and PlGF expression. *Cardiovasc. Res.* 2014; 23: 22—4.
20. Montorfano I., Becerra A., Cerro R., Echeverría C., Sáez E., Morales M.G. et al. Oxidative stress mediates the conversion of endothelial cells into myofibroblasts via a TGF- $\beta$ 1 and TGF- $\beta$ 2-dependent pathway. *Lab. Invest.* 2014; 94 (10): 1068—82.
21. Klawitter J., Reed-Gitomer B.Y., McFann K., Pennington A.T., Klawitter J., Abebe K.Z. et al. Endothelial dysfunction and oxidative stress in polycystic kidney disease. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2014; 18: 14—20.
22. Mochin M.T., Underwood K.F., Cooper B., McLenithan J.C., Pierce A.D., Nalvarte C. et al. Hyperglycemia and redox status regulate RUNX2 DNA-binding and an angiogenic phenotype in endothelial cells. *Microvasc. Res.* 2014; 97: 55—64.
23. Marcos-Ramiro B., Oliva Nacarino P., Serrano-Pertierra E., Blanco-Gelaz M.A., Weksler B.B., Romero I.A. et al. Microparticles in multiple sclerosis and clinically isolated syndrome: effect on endothelial barrier function. *BMC Neurosci.* 2014; 15: 110.
24. Wheway J., Latham S.L., Combes V., Grau G.E. Endothelial microparticles interact with and support the proliferation of T-cells. *J. Immunol.* 2014; 193 (7): 3378—87.
25. Shim B.J., Lee D.H., Youn H.J. Increased soluble vascular adhesion molecule-1 concentration is associated with impaired coronary flow reserve in cardiac syndrome X. *Heart and Vessels.* 2013; 31: 42—8.

#### REFERENCES

1. Poplawska-Kita A., Siewko K., Telejko B., Modzelewska A., Myśliwiec J., Milewski R. et al. The changes in the endothelial function and haemostatic and inflammatory parameters in subclinical and overt hyperthyroidism. *Int. J. Endocrinol.* 2013; 98: 26—38.
2. Skerk V., Markotic A., Delic Brkljacic D., Manola S., Krčmar T., Gabrić I. D. et al. The association of ventricular tachycardia and endothelial dysfunction in the setting of acute myocardial infarction with ST elevation. *Med. Sci. Monit.* 2013; 19: 1027—36.

3. Kozyreva V.S., Subbotovskaya A.I., Shilova A.N., Karpenko A.A. Immunological aspects of the formation of restenosis after endothelium damage. *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya*. 2014; 20 (1): 21—6. (in Russian)
4. Acharya G., Armstrong M., McFall C., Quinn R.W., Hilbert S.L., Converse G.L. et al. Calcium and phosphorus concentrations in native and decellularized semilunar valve tissues. *J. Heart Valve Dis.* 2014; 23 (3): 259—70.
5. Arcucci A., Ruocco M.R., Albano F., Granato G., Romano V., Corso G. et al. Analysis of extracellular superoxide dismutase and Akt in ascending aortic aneurysm with tricuspid or bicuspid aortic valve. *Eur. J. Histochem.* 2014; 58 (3): 2383. doi: 10.4081/ejh.2014.2383.
6. Buendia P., Montes de Oca A., Madueno J.A., Merino A., Martín-Malo A., Aljama P. et al. Endothelial microparticles mediate inflammation-induced vascular calcification. *FASEB J.* 2014; Oct 23. pii: fj.14-249706.
7. Codoner-Franch P., Tavarez-Alonso S., Porcar-Almela M., Navarro-Solera M., Arilla-Codoñer Á., Alonso-Iglesias E. Plasma resistin levels are associated with homocysteine, endothelial activation, and nitrosative stress in obese youths. *Clin. Biochem.* 2014; 47 (1—2): 44—8.
8. Heiss C., Rodriguez-Mateos A., Kelm M. Central role of eNOS in the maintenance of endothelial homeostasis. *Antioxid. Redox Signal.* 2014; 20: 39—41.
9. Rocchi E., Bursi F., Ventura P., Ronzoni A., Gozzi C., Casalgrandi G. et al. Anti- and pro-oxidant factors and endothelial dysfunction in chronic cigarette smokers with coronary heart disease. *Eur. J. Intern. Med.* 2007; 18 (4): 314—20.
10. Kalinin R.E., Suchkov I.A., Pshennikov A.S. Correction of endothelial dysfunction as a component in the treatment of obliterating atherosclerosis of lower limb arteries. *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya*. 2014; 20 (3): 17—22. (in Russian)
11. Kang K.T. Endothelium-derived relaxing factors of small resistance arteries in hypertension. *Toxicol. Res.* 2014; 30 (3): 141—8.
12. Leopold J.A. Neoatherosclerosis: another consequence of endothelial dysfunction? *Circ. Cardiovasc. Interv.* 2014; 7 (5): 635-7.
13. Miller L.J., Lincoln J. Isolation of murine valve endothelial cells. *J. Vis. Exp.* 2014; 90: 86—91.
14. Kleber M.E., Koller L., Goliash G., Sulzgruber P., Scharnagl H., Silbernagel G. et al. Von Willebrand factor improves risk prediction in addition to N-terminal Pro B-type natriuretic peptide in patients referred to coronary angiography and signs and symptoms of heart failure and preserved ejection fraction. *Circ. Heart Fail.* 2014; 23: 74—8.
15. Montorfano I., Becerra A., Cerro R., Echeverría C., Sáez E., Morales M.G. et al. Oxidative stress mediates the conversion of endothelial cells into myofibroblasts via a TGF- $\beta$ 1 and TGF- $\beta$ 2-dependent pathway. *Lab. Invest.* 2014; 94 (10): 1068—82.
16. Pechanova O., Varga Z., Cebova M., Giricz Z., Pacher P., Ferdinandy P. Cardiac nitric oxide signalling in metabolic syndrome. *Br. J. Pharmacol.* 2014; 8: 54—60.
17. van Eupen M.G., Schram M.T., Colhoun H.M., Hanssen N.M., Niesen H.W., Tarnow L. et al. The methylglyoxal-derived AGE tetrahydropyrimidine is increased in plasma of individuals with type 1 diabetes mellitus and in atherosclerotic lesions and is associated with sVCAM-1. *Diabetologia.* 2013; 56 (8): 1845—55.
18. Vaverkova H., Karasek D., Novotny D., Kovarova D., Halenka M., Slavik L. et al. Positive association of adiponectin with soluble thrombomodulin, von Willebrand factor and soluble VCAM-1 in dyslipidemic subjects. *Clin. Biochem.* 2013; 46 (9): 766—71.
19. Wu M., Zhou J., Cheng M., Boriboun C., Biyashev D., Wang H. et al. E2F1 suppresses cardiac neovascularization by downregulating VEGF and PlGF expression. *Cardiovasc. Res.* 2014; 23: 22—4.
20. Montorfano I., Becerra A., Cerro R., Echeverría C., Sáez E., Morales M.G. et al. Oxidative stress mediates the conversion of endothelial cells into myofibroblasts via a TGF- $\beta$ 1 and TGF- $\beta$ 2-dependent pathway. *Lab. Invest.* 2014; 94 (10): 1068—82.
21. Klawitter J., Reed-Gitomer B.Y., McFann K., Pennington A.T., Klawitter J., Abebe K.Z. et al. Endothelial dysfunction and oxidative stress in polycystic kidney disease. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2014; 18: 14—20.
22. Mochin M.T., Underwood K.F., Cooper B., McLenithan J.C., Pierce A.D., Nalvarte C. et al. Hyperglycemia and redox status regulate RUNX2 DNA-binding and an angiogenic phenotype in endothelial cells. *Microvasc. Res.* 2014; 97: 55—64.
23. Marcos-Ramiro B., Oliva Nacarino P., Serrano-Pertierra E., Blanco-Gelaz M.A., Weksler B.B., Romero I.A. et al. Microparticles in multiple sclerosis and clinically isolated syndrome: effect on endothelial barrier function. *BMC Neurosci.* 2014; 15: 110.
24. Wheway J., Latham S.L., Combes V., Grau G.E. Endothelial microparticles interact with and support the proliferation of T-cells. *J. Immunol.* 2014; 193 (7): 3378—87.
25. Shim B.J., Lee D.H., Youn H.J. Increased soluble vascular adhesion molecule-1 concentration is associated with impaired coronary flow reserve in cardiac syndrome X. *Heart and Vessels.* 2013; 31: 42—8.

Поступила (received) 30.11.14