

Метод определения циркулирующих эндотелиоцитов крови: история, клиническая значимость, собственные исследования

Н.А.Золотарёва, М.И.Романченко

Одесский национальный медицинский университет
Одесса, Украина

В статье обсуждается чувствительность и специфичность наиболее часто используемых методов определения дисфункции эндотелия. Обследовав 37 больных кардиологической патологией, 10 больных ревматологическими заболеваниями и сравнив их с контрольной группой здоровых лиц было выявлено, что подсчёт циркулирующих эндотелиоцитов обладает большей чувствительностью при ревматологической патологии, а определение эндотелий-зависимой и независимой вазодилатации – при кардиологической патологии.

Ключевые слова: дисфункция эндотелия, циркулирующие эндотелиоциты, манжеточная проба, чувствительность, специфичность.

ВВЕДЕНИЕ

Эндотелий сосудистой стенки уже давно не трактуется просто как барьер между кровью и другими тканями организма – исследования последних десятилетий закрепили за ним ряд намного более сложных регуляторных функций. Значительным количеством исследований показано, что он активно участвует в регуляции сосудистого тонуса, служит посредником во многих транспортных процессах, контролирует пролиферацию гладкомышечных клеток, активно влияет на процессы тромбообразования и фибринолиза, участвует в иммунном ответе и развитии воспалительного процесса любой локализации. [1]. Нарушение любой из нормальных функций эндотелия принято называть дисфункцией эндотелия (ДЭ).

Определение понятия ДЭ различными авторами расходятся. Так, одни считают основной именно вазодилатирующую способность эндотелия, соответственно, с их точки зрения эндотелиальная дисфункция – нарушение вазорелаксации в ответ на соответствующие стимулы [8]. Другие, как, например, J.E.Deanfield, считают дисфункцией эндотелия нарушение любой из его функций [7].

Кроме способности к регуляции сосудистого тонуса, которая большинством вышеперечисленных авторов признаётся как основная, эндотелиоциты проявляют про- и антипролиферативную (эндотелиальный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, фактора роста фибробластов, ангиотензин-II; гепариноподобный ингибитор роста) и про- и противовоспалительную функции (NO, ФНО- α), способны регулировать фибринолиз (тканевой активатор пламиногена, тромбомодулин) и тромбообразование (фактор Виллебранда, тканевой фактор, тромбин).

Известно, что десквамация эндотелия является нормальным физиологическим процессом его обновления [7]. Взрослые, функционально полноценные клетки, могут терять связь с базальной мембраной в ответ на ряд повреждающих факторов и либо фагоцитируются на месте, либо попадают в магистральный кровоток и фагоцитируются там. При этом восстановление повреждённого участка эндотелия происходит двумя путями: делением соседних эндотелиоцитов и путем заселения предшественниками эндотелиальных клеток, циркулирующими в системном кровотоке [12].

Предшественники эндотелиоцитов (Endothelial progenitor cells – EPC) – это клетки гематопоетического ряда, попадающие в системный кровоток из костного мозга в ответ на

повреждение сосудов (стентирование, травма), ишемию, повышение уровней колониестимулирующих цитокинов и, что особенно важно для практической медицины, – в ответ на применение статинов [15]. Количество этих клеток обратно пропорционально числу и интенсивности кардиологических факторов риска, а также обратно пропорционально проценту смертности от коронарной патологии. Снижение количества ЕРС при длительном течении ИБС и сахарного диабета считается фактором неблагоприятного прогноза и может быть объяснено двумя теориями: с одной стороны – истощением пула стволовых клеток костного мозга из-за длительной гиперактивации, с другой – ингибирующим влиянием большинства сердечно-сосудистых факторов риска на стволовую нишу. Таким образом, ЕРС могут считаться показателем регенераторной активности эндотелия.

Актуальный протокол численного определения этих клеток требует использования проточного цитометра либо сепарации с помощью магнитных частичек с выделением клеток по нескольким кластерам дифференцировки: CD133+CD34+KDR(VEGFR-2)+ [14]. Альтернативный протокол предлагает использовать несколько другой фенотип – CD34+CD14+KDR(VEGFR-2)+Tie-2+ [11]. Также G. Padfield и соавт. ставят под сомнение дальнейшее использование дефиниции CD133+CD34+KDR+ как малоспецифичной и неинформативной, указывая, что именно положительные по CD14 и Tie-2 клетки участвуют в реэндотелизации сосудистой стенки.

Стареющие эндотелиальные клетки – СЭК (senescent endothelial cells – SEC) являются другой разновидностью живых эндотелиоцитов, проявляющие особый фенотип – повышение экспрессии SA- β -galactosidase (ассоциированная со старением β -галактозидаза), eNOS, увеличение секреции VEGF, TGF- β , цитокинов IL-6, IL-8, MCP-1, молекулы адгезии sICAM-1 и фибронектина. Они выявляются над атеросклеротическими бляшками, а также в участках микроскопически здоровой интимы крупных сосудов, подвергающихся турбулентному кровотоку. Появление SEC индуцируется при механическом воздействии турбулентного кровотока, при повышении уровня глюкозы крови, и ингибируется оксидом азота (NO), увеличением экспрессии eNOS и при воздействии ресвератрола [16].

Лабораторно стареющие эндотелиоциты выявляются путём определения повышенной активности SA- β -galactosidase, избирательно накапливающейся в лизосомах стареющих клеток.

Таким образом, циркулирующие эндотелиоциты (ЦЭ) – это дифференцированные клетки интимы кровеносных сосудов и эндокарда, которые десквамировались, попали в системный кровоток, могут проявлять признаки апоптоза и в

незначительном количестве обнаруживаются у людей всех возрастов.

Впервые попытка выделить свободно циркулирующие в крови эндотелиоциты была предпринята и описана в работе E.Gaynor, C.A.Bouvier в 1968 г., когда авторы обнаружили их после внутривенного введения кролику эндотоксина E. coli. Электронная микроскопия аорты выявила участки без эндотелия, – так учёные предположили сосудистый генез обнаруженных ими клеток [9]. Далее в 1970-х годах работу по изучению ЦЭ продолжил J.Hladovec с соавторами. Перейдя от животных моделей к пациентам, базовый уровень ЦЭ был выявлен практически у всех здоровых лиц контрольной группы. Далее в работе по выявлению причин повышения количества ЦЭ в крови авторы обнаружили, что их количество достоверно возрастает в первые дни после острого коронарного синдрома, у больных ИБС после интенсивной физической нагрузки, а также существует положительная корреляционная связь между классом стенокардии и количеством ЦЭ [10].

Позже процесс десквамации эндотелиоцитов был изучен более точно: учёные обнаружили участки без эндотелиоцитов, с обнажённой базальной мембраной, покрытой адгезированными тромбоцитами на электронных микрофотографиях поверхности атеросклеротических бляшек. Обнаружено, что эндотелий над бляшками постоянно регенерирует, и скорость его десквамации выше, чем на «здоровых» участках сосуда.

Первые методики выделения ЦЭ из крови были основаны на центрифугировании с различными ускорениями для осаждения форменных элементов крови с последующим их подсчётом в счётной камере (Розенталя, Горяева) посредством фазово-контрастной микроскопии [10]. В дальнейших модификациях методики использовались другие агенты для осаждения тромбоцитов на одном из этапов без изменения методики по сути [4].

Позже изучение ЦЭ стало опираться на выявлении на поверхности клеток специфических маркеров, таких, как фактора Виллебранда, тканевой активатор плазминогена (t-PA), VEGF методом флуоресцентной. Однако эти маркеры оказались недостаточно универсальными.

В настоящее время наиболее широко используется подсчёт клеток со специфическим фенотипом по системе кластеров дифференциации (CD), краткое описание которых представлено в табл. 1. По-прежнему множество дебатов происходит вокруг различных вариантов выделяемых клеток, так как в процессе изучения были обнаружены несколько фенотипов десквамированных клеток. Наиболее полным описанием десквамированной клетки, по мнению исследователей, является фенотип CD45-CD31+CD133-CD146+VE-cadherin+KDR+[11].

Таблиця 1

Кластеры дифференцировки и рецепторы клеток эндотелиального ряда

CD146 (sEndo-1) – специфичный для зрелого эндотелия поверхностный антиген
CD45 – лейкоцитарный поверхностный антиген
CD36⁺ – эндотелиоцит происходит из микроциркуляторного русла
CD36⁻ – эндотелиоцит происходит из крупных артерий
CD31⁺ – маркер характерный для молодого эндотелия
CD133⁺ – маркер гемопоэтических стволовых клеток
CD34⁺ – маркер клетки-предшественника эндотелиоцита, встречается также на эндотелиоцитах молодых капилляров
Annexin V – маркер апоптического фенотипа эндотелиоцита

Поскольку одновременное использование стольких маркеров делает метод неточным (потери при каждом типировании) и громоздким, на данный момент используются следующие варианты фенотипов ЦЭ:

CD146+ UEA-1+ Woywodt A., Goldberg C.J., 2004;

CD146+ CD45- CD34- Chong Yeong A., 2005;

CD45- CD31+KDR+ - циркулирующий эндотелиоцит, Duda D.G., 2007;

CD45- CD31+KDR+AnnV+ -циркулирующий эндотелиоцит, проявляющий признаки апоптоза, Schmidt-Lucke C., 2010;

CD45- CD31+KDR+AnnV- -циркулирующий эндотелиоцит, жизнеспособный Schmidt-Lucke C., 2010.

Наиболее часто используются три методики: подсчёт методом проточной цитометрии (flow cytometry), изоляция специфической популяции клеток с помощью иммунологически нагруженных магнитных частичек (magnetic beads isolation) и выделение клеток центрифугированием в растворах различной плотности (density centrifugation).

Однако, как показал анализ, данные, полученные различными методами оказались несопоставимы между собой. Например, количество ЦЭ в ед/мл в контрольных группах практически здоровых лиц по данным различных авторов (табл. 2) колеблется от 2 – 7 клеток/мл до 500-1000 клеток/мл. Похожая ситуация наблюдается и при сравнении данных различных методик для анализа сходных патологий. В общем, однако, можно отметить, что проточная цитометрия даёт более высокие количества ЦЭ (иногда в тысячи раз), чем метод центрифугирования или изоляции на магнитных частичках.

В настоящее время стандартизованными методиками после методики J. Hladovec, являются протоколы A.Woywodt [17] (выделение

ЦЭ с помощью магнитных частиц) и последний протокол от G.J.Padfield и соавт. [11] (подсчёт на проточном цитометре).

Методика A.Woywodt предполагает использование магнитных частичек (Invitrogen Dynal, Норвегия), «нагруженных» анти-CD146 мышинными антителами с последующим отделением комплексов «ЦЭ+магнитная частичка» с помощью магнитного поля. Клетки, связанные с частичками, подсчитываются в счётной камере под микроскопом после окраски их Ulex europaeus lectin-1. Протокол Padfield G.J. требует добавление к крови пациента CD45- и CD34+ - связанных флуоресцентных меток с последующим подсчётом соответствующего пула клеток на проточном цитометре.

Оба протокола имеют ряд недостатков. Так, Woywodt A. указывает на ошибку воспроизводимости от 13% до 28%, к тому же фенотип клеток, используемый в данных методиках, может давать ошибку около 10% с учётом ложноположительного окрашивания иммунных клеток, что требует использование дополнительных рецепторов для дифференцировки.

Несмотря на различия показателей по отдельным методикам, метод определения ЦЭ имеет собственную клиническую значимость, т.к. множеством работ было показано достоверное повышение ЦЭ в крови при патологии, в патогенезе которой наблюдается повреждение сосудистой стенки, а также при воздействии различных, например, кардиоваскулярных факторов риска. Так, количество ЦЭ удваивается в течение 20 минут после курения табака, недостоверно повышается при пассивном вдыхании табачного дыма, незначительно (в 1,2 раза) увеличивается при курении сигарет без табака. В существующих работах показано также повреждающее эндотелий действие повышенного артериального давления, гипергликемии, гипер- и дислипидемии, гипергомоцистеинемии. Особое внимание учёные обращают на окисленную форму холестерина липопротеидов низкой плотности, которая наиболее активно связывается с эндотелиоцитами, повреждая их. Наиболее высокие уровни ЦЭ были выявлены у больных после трансплантации им донорской почки или костного мозга, при обострении системной склеродермии, системной красной волчанки, ревматоидного артрита, или при активном течении васкулитов. Менее выраженное повышение ЦЭ происходило при остром инфаркте миокарда и нестабильной стенокардии [10], при критической ишемии конечностей, острой и хронической сердечной недостаточности, и, наконец, наименее значительные изменения ЦЭ наблюдались у больных со стабильным течением ГБ, ИБС, с ревматологическими заболеваниями в стадии ремиссии [3].

Данные исследований ЦЭ при сердечнососудистой и ревматологической патологии и сравнение данных с контрольной группой

Автор, год	Заболевания	Метод	Количество ЦЭ, Ед. / мл	Кратность повышения ЦЭ относительно М контрольной группы
Контроль (практически здоровые)				
Поддубный Д.А., 2008	контроль	Hladovec	400 (350 - 750)	1
Boos C.J. et al., 2007	контроль	МЧ	4 (3,0 – 6,5)	1
Boos C.J et al., 2007 ^b	контроль	МЧ	5,2 (2,3 – 7,9)	1
Freestone B., 2005	контроль	МЧ	4,5 (1,6 – 7,2)	1
Hladovec J., 1978	контроль	Hladovec	400	1
Rajagopalan S., 2004	контроль	ПЦ	10 (7 - 13)	1
Woywodt A., 2002	контроль	МЧ	5 (3 - 11)	1
Yeong Chong A., 2004	контроль	МЧ	3,7 (1,3 – 7,2)	1
Сердечнососудистая патология				
Суворова И.А., 2008	ПИКС	Hladovec	870 (560 - 1280)	
Boos C.J. et al., 2007	ОКС	МЧ	9,0 (6,0 – 15,6)	2,25
Boos C.J et al., 2007 ^b	ГБ риск 1-3	МЧ	7,2 (3,4 - 11)	1,4
	ГБ риск 4		10,2 (3,2 – 17,2)	2,0
Freestone B., Gregory Y.H., 2005	ФП	МЧ	5,25 (3,25 – 9,75)	1,2
	ФП + ОКС		11,3 (7,6 – 22,3)	2,5
Hladovec J., 1978	ОКС	Hladovec	900	2,25
Rajagopalan S, 2004	ИБС	ПЦ	18 (13 - 23)	1,8
Singh N., 2012	ИБС: ТС	ПЦ	268 (2 - 534)	1,6
	ИБС: ВТС		429 (178 - 680)	
Yeong Chong A., - 2004	ХСН	МЧ	11,8 (4,6 - 18,4)	3,2
Ревматические заболевания				
Поддубный Д.А., 2008	б. Бехтерева	Hladovec	500 (300 – 800)	1,25
Rajagopalan S., 2004	СКВ	ПЦ	89 (57 - 121)	8,9
Woywodt A., Streiber F., 2002	АНСА- ассоц. васкулит	МЧ	23,3 (3,3 – 43,3) – ремисс. 871 (136 - 1632) – активн.	4,6 174

*Данные представлены как среднее (+/- сигма), либо как медиана +/- квартильный интервал;

*Методы: МЧ – изоляция магнитными частичками, ПЦ – проточная цитометрия.

*Заболевания: ПИКС – постинфарктный кардиосклероз; ОКС – острый коронарный синдром; ГБ – гипертоническая болезнь, ФП – фибрилляция предсердий, ТС – трансплантация сердца, ВТС – васкулопатия трансплантированного сердца СКВ – системная красная волчанка.

Вышеизложенное демонстрирует клиническую значимость метода определения ЦЭ крови, однако мы не нашли в литературе данных сравнения его информативности с другими, более простыми методами оценки ДЭ (например, эндотелий-зависимой (ЭЗВД) и эндотелий-независимой вазодилатации (ЭНВД)). Также существуют лишь единичные публикации, по корреляционным связям между количеством ЦЭ и биохимическими показателями крови.

Цель работы – изучение сравнительной информативности метода определения ЦЭ с ультразвуковыми методами определения дисфункции эндотелия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование вошли 62 человека, которые были разделены на три группы:

Контрольная группа – 15 человек, состояла из здоровых лиц (доноров) и использовалась для определения нормативных показателей ЦЭ, ЭЗВД и ЭНВД;

I группа – 37 больных кардиологического профиля (стабильные и нестабильные формы ИБС, гипертоническая болезнь, сердечная недостаточность различных стадий);

II группа – 10 больных ревматологического профиля (васкулит, ревматоидный артрит, хроническая ревматическая болезнь сердца, антифосфолипидный синдром).

Большим всех исследуемых групп проводились определение ЭЗВД и ЭНВД и подсчёт ЦЭ крови. Неинвазивные исследования производили по методике, предложенной D.S.Celermajer и соавт. [5] и стандартизованной учёными во главе с M.C.Corretti [6] (Aloka SSD 1100, линейный датчик 7,5 MHz), а определение ЦЭ – по методике J. Hladovec в собственной модификации [2].

Суть метода состоит в том, что цитратная кровь больного центрифугированием разделяется на плазму и эритроцитарную массу, затем тромбоциты плазмы осаждаются центрифугированием после агрегации адреналина гидротартратом. Бестромбоцитарная плазма центрифугируется с высоким ускорением (2000 g) для осаждения взвешенных десквамированных эндотелиоцитов, затем осадок ресуспендируется и производится подсчёт клеток в камере Горяева.

Расчет чувствительности и специфичности методов оценки ДЭ производился по стандартным формулам: чувствительность выражалась как отношение количества положительных результатов у лиц с данной патологией к общему количеству пациентов с данной патологией, специфичность – как отношение количества отрицательных результатов у лиц контрольной группы к общему количеству лиц контрольной группы.

Статистическая обработка данных производилась с помощью программ Excel 2003 и STA-

TISTICA v8.0. Данные описательной статистики для переменных с нормальным распределением указаны как $\bar{X} \pm \sigma$, для остальных данных – как медиана (25 – 75 квартили). Данные статистического анализа считались достоверными при уровне значимости $\alpha \leq 0,05$. Для определения достоверности различия между нормально распределёнными группами данных с подобными дисперсиями использовался парный t-тест для независимых выборок, в качестве непараметрических применялись тесты Манна-Уитни и Колмогорова-Смирнова.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая, что в настоящее время ЭЗВД и ЭНВД считаются «золотым стандартом» определения дисфункции эндотелия, и к тому же являются простыми в использовании, представлялось интересным выяснить, является ли более громоздкий метод определения ЦЭ при этом более точным. Для выполнения поставленных задач предварительно требовалось определить показатели дисфункции эндотелия вышеперечисленными методами у больных исследуемых групп, а также в группе практически здоровых лиц, учитывая данные литературы о значительном разбросе количества ЦЭ в зависимости от используемой методики определения. Полученные данные представлены в табл. 3.

Таблица 3

Показатели дисфункции эндотелия у больных исследуемых групп

Показатель	Контрольная группа (n=15)	Группа I (n=37)	Группа II (n=10)
Базовый Ø артерии, мм:	4,2 (3,8 – 4,8)	5,05 (4,5 – 5,3)	4,3 (3,95 – 4,7)
ЭЗВД, %	14,6 (14,2 – 31,6)	11 (8 – 17)	13 (10 – 25)
ЭНВД, %	19 (6 – 34)	12 (5,7 – 20,4)	24,5 (16 – 27,5)
ЦЭ, $\times 10^5/\text{л}$	$3,65 \pm 1,41$	$4,25 \pm 1,75$	$6,03 \pm 3,11^{*\dagger}$
Данные представлены, как $M \pm \sigma$ либо как медиана (25-75 перцентиль). * $p \leq 0,05$ при сравнении группы I и II, $\dagger p \leq 0,05$ при сравнении с группой контроля			

Из табл. 3 видно, что среднее количество ЦЭ у здоровых доноров составило $3,65 \pm 1,41 \times 10^5/\text{л}$ и практически совпадало с результатами методик по методу J. Hladovec, показавшими в среднем $4,0 \times 10^5/\text{л}$. У больных с сердечно-сосудистой патологией количество ЦЭ было недостоверно выше, чем у больных контрольной группы ($p > 0,1$), в то время, как у больных с ревматической патологией этот показатель был достоверно ($p \leq 0,05$) повышен, что совпадает с мнениями других авторов [3]. Полученные данные позволили оценить и сопоставить чувствительность и специфичность неинвазивных методов определения дисфункции эндотелия и подсчёт ЦЭ крови, а также сравнить их среди

больных кардиологической и ревматологической патологией (табл. 4).

Таблица 4

Чувствительность и специфичность маркеров дисфункции эндотелия

Маркер ДЭ	Чувствительность		Специфичность (n=15)
	Группа I (n=37)	Группа II (n=10)	
ЦЭ	32,4%	60,0%	100,0%
ЭЗВД	51,3%	25,0%	100,0%
ЭНВД	62,1%	25,0%	66,6%

Видно, что у больных кардиологической группы наиболее чувствительными оказались определение ЭНВД и ЭЗВД (62,1% и 51,3% соответственно), в то время как в группе ревматологической патологии наиболее чувствительным методом выявления ДЭ оказался подсчёт циркулирующих эндотелиоцитов (60,0%). Подобные результаты косвенно перекликаются с данными существующих исследований, в которых показано значительное повышение ЦЭ при болезни Бехтерева [3], аутоиммунных, системной красной волчанке [13], что в подтверждает более высокую чувствительность метода при ревматологической патологии в общем.

При совместном использовании обсуждаемых методик определения ДЭ чувствительность для I группы составила 89,1%, а для второй группы – 75,0%.

Интересно отметить, что более углублённый анализ данных больных I группы показал, что распределение ЦЭ у больных отличается от нормального и имеет характер двугорбой кривой. Для анализа причины подобного распределения все больные первой группы были разделены на две подгруппы в зависимости от количества ЦЭ. Критерием разделения стало значение $4,76 \times 10^5$ клеток/л, как точка наибольшего углубления кривой.

Анализ I подгруппы ($n=20$, ЦЭ $\leq 4,76 \times 10^5$ клеток/л) по нозологиям показал преимущественно наличие стабильных форм кардиальной патологии. Так, 80,0% данной подгруппы составляли больные гипертонической болезнью I – II ст., стабильными формами ИБС (стенокардия напряжения I-II ФК и постинфарктный кардиосклероз, осложнённый постоянной формой фибрилляции предсердий) и сердечной недостаточностью I-IIА стадии.

Вторая подгруппа ($n=17$, ЦЭ $\geq 4,76 \times 10^5$ клеток/л) на 58,8% была представлена больными с острейшей и острой стадией инфаркта миокарда с эпизодами острой левожелудочковой недостаточности, нестабильной стенокардией и больными гипертонической болезнью с нестабильным, кризовым течением ($n=10$). Среднее количество ЦЭ у больных этой группы составило $5,95 \pm 0,96 \times 10^5$ /л и достоверно отличалось от такого же показателя у здоровых лиц.

Полученные данные свидетельствуют о том, что стабильное течение ИБС, ГБ и постинфарктного кардиосклероза не приводит к достоверному повышению количества ЦЭ, в то время как нестабильные формы ИБС достоверно повышают их количество, а ревматологическая патология делает эту ещё более выраженной ($5,95 \pm 0,96 \times 10^5$ /л и $6,03 \pm 3,11 \times 10^5$ /л соответственно).

ВЫВОДЫ

Данные существующих исследований по ЦЭ крови достаточно противоречивы: нормальные и патологические значения маркеров дисфункции эндотелия колеблются в зависимости от клинического центра методики проведения, что указывает на определённую субъективность получаемых результатов. Авторы многих работ отмечают, что однозначно трактоваться и влиять на принятие клинических решений могут лишь выраженные отклонения показателей от нормы – попадание в первый и последний квартили.

Проведённые нами исследования показали также что каждый из методов определения дисфункции эндотелия (ЭЗВД, ЭНВД, ЦЭ) зависит от нозологической формы изучаемой патологии. Так, ультразвуковые методы, оценивающие «вазомоторную» составляющую дисфункции эндотелия, обладают большей чувствительностью при ИБС и ГБ, а подсчёт ЦЭ, наиболее точно отражающий степень физического повреждения эндотелиальной выстилки, более чувствителен при заболеваниях ревматологической группы, а также может являться дополнительным маркером наличия острой коронарной патологии. Одновременное использование ультразвуковых методов и подсчёта ЦЭ значительно повышает информативность исследования ДЭ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лупинская З.А. Эндотелий. Функция и дисфункция: монография / З.А.Лупинская, А.Г.Зарифьян, Т.Ц.Гурович, С.Г.Шлейфер. – Бишкек. – 2008. – 373 с. – ISBN 978-9967-05-448-6
2. Патент № 5532, Україна, МПК (2009) А61В 10 / 00. Спосіб визначення ступеню ендотеліальної дисфункції / П.М.Пісковацький, М.І.Романченко; заявник Одеський Національний медичний університет. – № u201010144 10.12.2010, бюл. № 23.
3. Поддубный Д.А. Проблема адекватной оценки кардиоваскулярного риска у больных анкилозирующим спондилитом (болезнью Бехтерева) / Д.А.Поддубный, А.П.Ребров // Український ревматологічний журнал. – 2008. – Т. 1. – № 31. – С. 4-10.
4. Пат. 25012 Україна, МПК (2006) G01N 33 / 55 (2007. 07) G 01N. Спосіб визначення вільноциркулюючих ендотеліальних клітин в крові / Сівак В.В., Тимофієва Н.В., Динник О.Б. [та ін.]. – № U200702080. заявл. 27.02.2007. – опубл. 25.07.2007. – Бюл. № 11. – 2 с.
5. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis / D.S.Celermajer, K.E.Sorensen, V.M.Gooch [et al.] // Lancet. – 1992. – vol. 340. – p. 1111-1115.

6. 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 / M.C.Corretti, T.J.Anderson, E.J.Benjamin, D.S.Celermajer [et al.] // Journal of American College of Cardiology. – 2002. – vol. 39. – P. 257-265.
7. Deanfield J.E. Endothelial function and dysfunction / J.E.Deanfield, J.P.Halcox, T.J.Rabelink // Circulation. – 2007. – Vol. 115. – P. 1285-1295.
8. Endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients with normal coronary arteries / P.Gargiulo, C.Marciano, G.Savarese [et al.] // International Journal of Cardiology. – 2013. – Vol. 165. – Issue 1. – P. 67-71.
9. Gaynor E. Circulating endothelial cells in endotoxin-treated rabbits / E.Gaynor, C.A.Bouvier, T.H.Spaet // Clinical Research. – 1968. – vol. 16. – P. 535.
10. Hladovec J. Circulating endothelial cells in acute myocardial infarction and angina pectoris / J.Hladovec, I.Prerovsky, V.Stanek, J.Fabian // Klinische Wochenschrift. – Praha, 1978. – P. 1033-1036.
11. Endothelial progenitor cells, atheroma burden and clinical outcome in patients with coronary artery disease [Електронний ресурс] / G.J.Padfield, O.Tura-Ceide, E.Freyer [et al.] // Heart. – 2013. – Режим доступу до журн.: <http://heart.bmj.com/content/early/2013/02/05/heartjnl-2012-302949.full.pdf>
12. Padfield G.J. Understanding the role of endothelial progenitor cells in percutaneous coronary intervention / G.J.Padfield, D.E.Newby, N.L.Mills // Journal of the American College of Cardiology. – 2010. – Vol. 55. – Issue 15. – P. 1553-1565.
13. Endothelial cell apoptosis in systemic lupus erythematosus: a common pathway for abnormal vascular function and thrombosis propensity / S.Rajagopalan, E.C.Somers, R.D.Brook [et al.] // Blood. – 2004. – Vol. 103. – P. 3677-3683.
14. Lower number of circulating endothelial progenitor cells is associated with myocardial ischemia during physical stress / R.Ramadan, I.A.Mheid, M.Obideen [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 2013. – Vol. 61. – Issue 10. – P. E1199.
15. Benefit of atorvastatin reload on endothelial progenitor cells in patients on chronic statin treatment undergoing PCI / E.Ricottini, R.Madonna, G.Patti [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 2013. – Vol. 61. – Issue 10. – P. E1635.
16. Warboys C.M. The influence of flow on vascular endothelial cell senescence / C.M.Warboys, A.de Luca, N.Amini, P.C.Evans // Atherosclerosis. – 2012. – V. 225. – Issue 2. – P. E6.
17. Isolation and enumeration of circulating endothelial cells by immunomagnetic isolation: proposal of a definition and a consensus protocol / A.Woywodt, A.D.Blann, T.Kirsch [et al.] // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2006. – № 4. – P. 671-677.

Н.А.Золотарьова, М.І.Романченко. Метод визначення циркулюючих ендотеліоцитів крові: історія, клінічна значимість, власні дослідження. Одеса, Україна.

Ключові слова: дисфункція ендотелію, циркулюючі ендотеліоцити, манжеточна проба, чутливість, специфічність.

У статті обговорюється чутливість і специфічність найбільш часто використовуваних методів визначення дисфункції ендотелію. Обстеживши 37 хворих на кардіологічну патологію, 10 хворих з ревматологічними хворобами та порівнявши їх з контрольною групою здорових осіб було виявлено, що підрахунок циркулюючих ендотеліоцитів має більшу чутливість при ревматологічній патології, а визначення ендотелій-залежної та незалежної вазодилатації – при кардіологічній патології.

N.A.Zolotariova, M.I.Romanchenko. Circulating endothelial cells: history, clinical significance, own research. Odessa, Ukraine.

Key words: endothelial dysfunction, circulating endothelial cells, flow mediated vasodilation, sensitivity, specificity.

The article discusses the sensitivity and specificity of the most commonly used methods for determining endothelial dysfunction. Comparing data of 37 patients with cardiological pathology, 10 patients with rheumatological disorders and a control group of healthy subjects showed that circulating endothelial cells determination has higher sensitivity in rheumatologic diseases, while ultrasonic methods are more informative in cardiovascular pathology.

Надійшла до редакції 14.02.2014 р.