

УДК 616-092.6

DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov81488>

Повреждение эндотелиального гликокаликса у пациентов с ревматоидным артритом

Д.А. Шиманьски¹, И.И. Нестерович¹, О.В. Инамова², В.И. Трофимов¹, О.В. Галкина¹,
Е.Н. Левыкина¹, Т.Д. Власов¹

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

² Клиническая ревматологическая больница № 25, Санкт-Петербург, Россия

Обоснование. Важная роль в регуляции функционирования эндотелия принадлежит эндотелиальному гликокаликсу, который первым повреждается при развитии аутоиммунных заболеваний. Его истончение приводит к нарушению барьерной функции сосудов и развитию воспалительного процесса. В статье рассмотрено использование оценки эндотелиального гликокаликса для диагностики и мониторинга заболеваний.

Цель работы — установить взаимосвязь толщины эндотелиального гликокаликса с активностью, серологическим профилем и факторами риска неблагоприятного течения ревматоидного артрита.

Материалы и методы. В исследование включено 76 пациентов с ревматоидным артритом в возрасте от 18 до 65 лет обоих полов. В качестве основного показателя оценки состояния эндотелиального гликокаликса использована пограничная область его перфузии, определяемая с помощью темнопольного видеомикроскопа.

Результаты. Установлено относительное истончение эндотелиального гликокаликса у лиц женского пола и при наличии у пациента факторов риска неблагоприятного течения ревматоидного артрита. Взаимосвязь этого показателя с серологическим профилем заболевания не выявлена. Обратная корреляция между толщиной эндотелиального гликокаликса и показателями уровня синдекана-1 и скорости оседания эритроцитов подтверждает вовлечение эндотелиального гликокаликса в воспалительный процесс при ревматоидном артрите. Спрогнозировано назначение пациентам пульс-терапии метилпреднизолоном в стационаре. При повторном обследовании истончение эндотелиального гликокаликса отмечено при наличии факторов риска неблагоприятного течения ревматоидного артрита, негативности по циклическому цитрулиновому пептиду и отсутствии ответа на лечение.

Заключение. Темнопольная микроскопия дает возможность прижизненной и неинвазивной оценки толщины эндотелиального гликокаликса, предоставляя важную информацию как с фундаментальной точки зрения, углубляя знания о патологической физиологии заболевания, так и с клинической — позволяя рассматривать истончение эндотелиального гликокаликса как дополнительный маркер развития ревматоидного артрита.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция; эндотелиальный гликокаликс; темнопольная микроскопия; ревматоидный артрит; эндотелий; синдекан-1.

Как цитировать:

Шиманьски Д.А., Нестерович И.И., Инамова О.В., Трофимов В.И., Галкина О.В., Левыкина Е.Н., Власов Т.Д. Повреждение эндотелиального гликокаликса у пациентов с ревматоидным артритом // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2021. Т. 13. № 3. С. 69–74. DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov81488>

DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov81488>

Disruption of endothelial glycocalyx in patients with rheumatoid arthritis

Daniel A. Shimanski¹, Irina I. Nesterovich¹, Oksana V. Inamova², Vasilii I. Trophimov¹,
Olga V. Galkina¹, Elena N. Levykina¹, Timur D. Vlasov¹

¹ First Pavlov State Medical University of Saint Petersburg, Saint Petersburg, Russia;

² Clinical Rheumatology Hospital No. 25, Saint Petersburg, Russia

BACKGROUND: Endothelial glycocalyx has an important role in the regulation of endothelial functioning. It is the first to be damaged during the development of autoimmune inflammatory diseases. Thinning of endothelial glycocalyx leads to a violation of the barrier function of blood vessels, the development and maintenance of the inflammatory process. In this context, using endothelial glycocalyx assessment for diagnostic and monitoring of diseases is considered of great interest.

AIM: To establish the relationship between endothelial glycocalyx thickness with activity, serological profile and risk factors for an unfavorable course of rheumatoid arthritis.

MATERIALS AND METHODS: The study included 76 patients from 18 to 65 years of both sexes with rheumatoid arthritis. The perfusion boundary region of endothelial glycocalyx determined using a dark-field microscope has been used as the main indicator for assessing the state of endothelial glycocalyx.

RESULTS: The obtained results have demonstrated a decrease in the initial endothelial glycocalyx thickness in females in the presence of risk factors for an unfavorable course of rheumatoid arthritis. At the same time, no relationship with the serological profile and endothelial glycocalyx thickness has been found. An inverse correlation between endothelial glycocalyx thickness and syndecan-1 level and erythrocyte sedimentation rate has been found. This confirms the fact that endothelial glycocalyxes are involved in the inflammatory process in rheumatoid arthritis. Endothelial glycocalyx assessment using dark-field microscopy made it possible to predict the subsequent appointment of pulse therapy with methylprednisolone in the hospital. On re-examination, endothelial glycocalyx thinning has been observed in the presence of unfavorable risk factors for the course of rheumatoid arthritis, in negative to anti-cyclic citrullinated peptide antibodies patients, or in the absence of response to treatment.

CONCLUSIONS: The use of dark-field microscopy is unique in its capabilities for intravital and non-invasive assessment of endothelial glycocalyx thickness. It provides important fundamental information deepening knowledge in the pathological physiology of disease. From a clinical point of view, it allows to consider a decrease in endothelial glycocalyx thickness as an additional prognostically unfavorable marker in rheumatoid arthritis.

Keywords: endothelial dysfunction; endothelial glycocalyx; dark-field microscopy; rheumatoid arthritis; endothelium; syndecan-1.

To cite this article:

Shimanski DA, Nesterovich II, Inamova OV, Trophimov VI, Galkina OV, Levykina EN, Vlasov TD. Disruption of endothelial glycocalyx in patients with rheumatoid arthritis. *Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov.* 2021;13(3):69–74. DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov81488>

ОБОСНОВАНИЕ

Эндотелиальная дисфункция — ключевое звено патогенеза ревматоидного артрита (РА) [7]. Важная роль в регуляции функционирования эндотелия принадлежит эндотелиальному гликокаликсу (ЭГК) — тонкому динамическому слою макромолекул (гликопротеинов, протеогликанов, гликозаминогликанов), расположенному на поверхности сосудистого эндотелия [6]. Выступая в качестве биологического барьера, он первым повреждается при развитии аутоиммунных заболеваний. Истончение ЭГК вызывает нарушение барьерной функции сосудов, вследствие чего повышается их проницаемость, усиливается адгезия тромбоцитов и лейкоцитов к сосудистой стенке, изменяется перфузия микроциркуляторного русла. Все это приводит к развитию воспалительного процесса [2, 4]. Несмотря на ее нестабильность, измерение толщины ЭГК можно использовать для диагностики и мониторинга заболеваний [2]. Темнопольная микроскопия позволяет неинвазивно и прижизненно оценивать ЭГК, а также обладает умеренной воспроизводимостью, увеличивающейся при многократных измерениях, и незначительной ежедневной изменчивостью [3, 5].

Цель работы — установить взаимосвязь толщины ЭГК с активностью, серологическим профилем и факторами риска неблагоприятного течения РА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 76 пациентов в возрасте от 18 до 65 лет (13 мужчин и 63 женщины) с РА, диагностированным согласно общепринятым в 2010 г. критериям

Американского колледжа ревматологии и Европейской лиги против ревматизма [1]. Медиана возраста составила 56 лет (49–62,5 года). У 74,6 % пациентов установлена позитивность по ревматоидному фактору, а у 79,4 % — по циклическому цитруллинированному пептиду. Исследование проведено дважды: в первые дни после поступления пациента в стационар и перед выпиской, в среднем через 9 дней (8–11 дней), для оценки эффекта проводимой терапии на сосудистый эндотелий. Все пациенты получали независимое от исследования лечение согласно действующим клиническим рекомендациям и стандартам оказания специализированной помощи.

Основным показателем оценки состояния ЭГК стала величина его пограничной области перфузии (PBR, perfused boundary region), определяемая по глубине погружения эритроцитов в толщу ЭГК у микрососудов с внутренним диаметром от 5 до 25 мкм (PBR_{5–9}, PBR_{10–19}, PBR_{20–25}, PBR_{5–25} соответственно). Увеличение PBR отражает более глубокое погружение эритроцитов в толщу ЭГК, что трактуется как его истончение [3]. Для измерения PBR использовали темнопольный видеомикроскоп со светодиодным освещением в зеленой области спектра (KK Research Technology Ltd, Великобритания) и программное обеспечение GlycoCheck (Glycocheck BV, Нидерланды). Видеомикроскоп поместили на сублингвальную слизистую оболочку ротовой полости. Анализируемые показатели были вычислены автоматически с помощью алгоритма программного обеспечения. В качестве лабораторного маркера повреждения ЭГК применили количественное измерение циркулирующего синдекана-1 с использованием набора Human Syndecan 1 ELISA Kit (RayBiotech Inc., США).

Таблица. Взаимосвязь величины пограничной области перфузии эндотелиального гликокаликса с серологическим профилем и факторами риска неблагоприятного течения ревматоидного артрита

Table. Correlation between the size of the perfused boundary region of endothelial glycocalyx and the serological profile and risk factors for an unfavorable course of rheumatoid arthritis

Величина PBR, мкм	Исследуемый показатель		Уровень <i>p</i>
	отсутствует	присутствует	
PBR _{5–9} *	1. Позитивность по циклическому цитруллинированному пептиду 1,16 ± 0,03	1,07 ± 0,02	<i>p</i> = 0,017
PBR _{5–25} *	2. Отягощенный анамнез по ревматическим заболеваниям 2,02 ± 0,06	2,20 ± 0,04	<i>p</i> = 0,014
PBR _{5–25}	3. Вовлечение крупных суставов в течение ревматоидного артрита в первые 2 года после дебюта 2,07 ± 0,06	2,13 ± 0,03	<i>p</i> = 0,037
PBR _{5–9}	4. Потребность в генно-инженерной биологической терапии из-за ревматоидного артрита в анамнезе 1,11 ± 0,01	1,21 ± 0,04	<i>p</i> = 0,035
PBR _{5–25} *	5. Остеопения или остеопороз 2,05 ± 0,05	2,25 ± 0,06	<i>p</i> = 0,011
PBR _{5–25} *	6. Эрозивная форма ревматоидного артрита 1,93 ± 0,05	2,11 ± 0,06	<i>p</i> = 0,027

Примечание: PBR — пограничная область перфузии; * значения PBR после лечения в стационаре при повторном обследовании.

Статистическую обработку данных провели с помощью программы IBM SPSS Statistics 26. Норму распределения показателей в выборке определили критерием Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса, а также значениями эксцесса и асимметрии, в зависимости от которой применяли параметрические или непараметрические методы.

Для сравнения связанных совокупностей использовали парный *t*-критерий или критерий Уилкоксона, для корреляционного анализа — коэффициент Спирмена. Выполнили дискриминантный анализ. Статистическую значимость определили при уровне $p < 0,05$. Клиническое исследование одобрено в Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. И.П. Павлова (протокол № 11/2019 от 28.12.2019). Все участники предварительно дали информированное добровольное согласие.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлена взаимосвязь величины PBR с серологическим профилем и факторами риска неблагоприятного течения РА (табл.).

Установлена статистически значимая прямая корреляционная связь величины PBR_{5-25} с уровнем синдекана-1 ($r_{xy} = 0,487$; $p = 0,012$) и скоростью оседания эритроцитов ($r_{xy} = 0,378$; $p = 0,002$) (рис. 1, 2).

Выявлена зависимость PBR_{5-25} от ответа на лечение, оцененного по индексу DAS28 С-реактивного белка ($p = 0,019$). При отсутствии ответа на лечение среднее значение PBR_{5-25} составило $2,27 \pm 0,23$, а при удовлетворительном ответе — $1,99 \pm 0,32$ мкм. Различия между группами с удовлетворительным и хорошим ответом на лечение были статистически не значимы ($p = 0,469$).

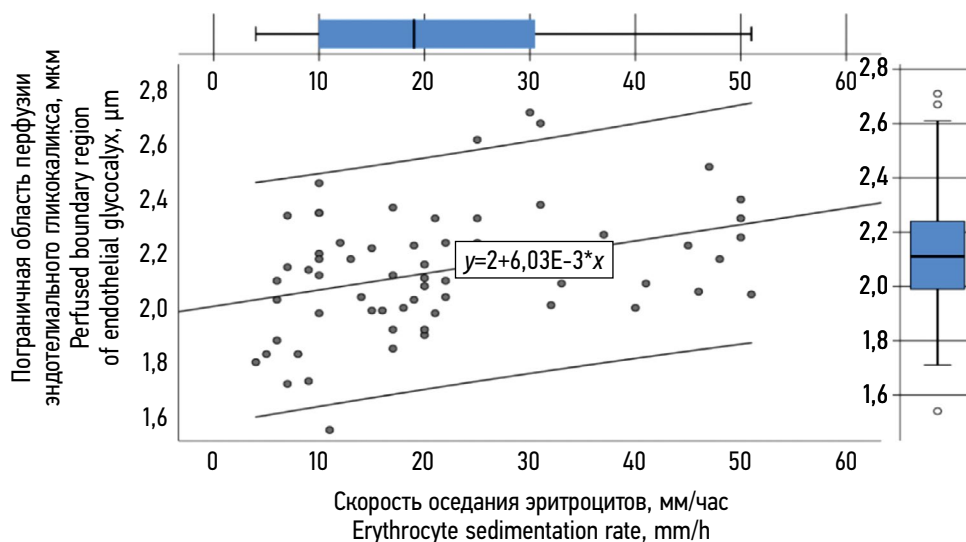


Рис. 1. Корреляционная связь PBR_{5-25} и скорости оседания эритроцитов. PBR — пограничная область перфузии
Fig. 1. Correlation between PBR_{5-25} and erythrocyte sedimentation rate. PBR — perfused boundary region

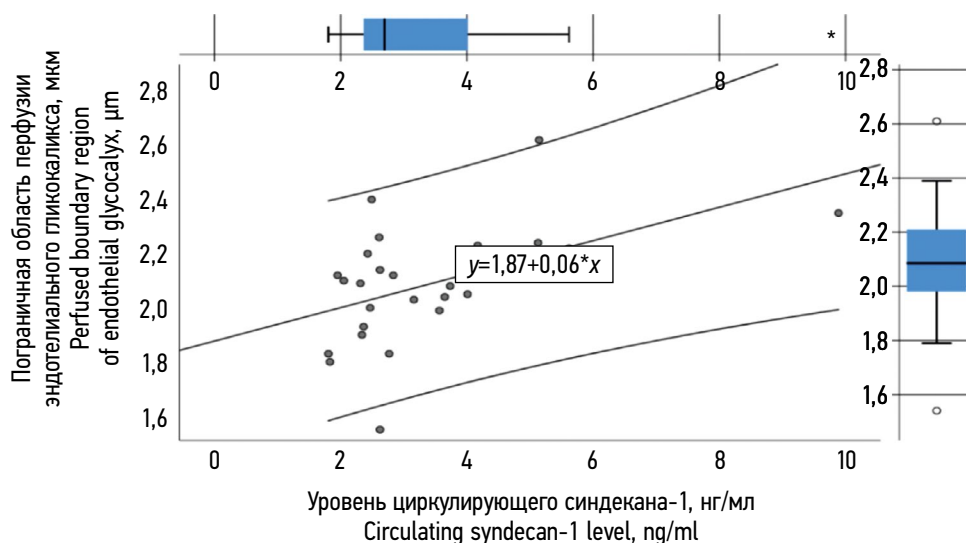


Рис. 2. Корреляционная связь PBR_{5-25} и уровня синдекана-1. PBR — пограничная область перфузии
Fig. 2. Correlation between PBR_{5-25} and syndecan-1. PBR — perfused boundary region

Изучена взаимосвязь значения PBR с необходимостью применения пульс-терапии метилпреднизолоном в стационаре. Величина PBR₅₋₂₅ в группе с последующем проведением пульс-терапии оказалась выше, чем в группе без нее ($p = 0,001$) (рис. 3).

Выполнен дискриминантный анализ для уточнения влияния исходного PBR на вероятность проведения пульс-терапии. Получена следующая модель:

$$y = -9,107 + 3,831x,$$

где y — дискриминантная функция, характеризующая вероятность проведения пульс-терапии; x — величина PBR₁₀₋₁₉. Константа дискриминации составила 0,156. С помощью коэффициента λ Уилка установлены статистически значимые различия ($p = 0,020$). Чувствительность модели составила 68,2 %, специфичность — 69 %.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На сентябрь 2021 г. мы не нашли ни одной оригинальной публикации, посвященной изучению ЭГК при РА с помощью темнопольной микроскопии.

Результаты исследования демонстрируют относительное истончение эндотелиального гликокаликса у лиц женского пола и при наличии у пациента факторов риска неблагоприятного течения ревматоидного артрита. Взаимосвязь этого показателя с серологическим профилем заболевания не выявлена.

Обратная корреляция между толщиной ЭГК и показателями уровня синдекана-1 и скорости оседания эритроцитов подтверждает вовлечение ЭГК в воспалительный процесс при РА. Оценка ЭГК с помощью темнопольной микроскопии позволила спрогнозировать последующее назначение пациентам пульс-терапии метилпреднизолоном в стационаре.

При повторном обследовании истончение ЭГК отмечено при наличии факторов риска неблагоприятного течения РА, негативности по циклическому цитруллинированному пептиду или отсутствию ответа на лечение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aletaha D., Neogi T., Silman A.J. et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative // *Arthritis Rheum.* 2010. Vol. 62, No. 9. P. 2569–2581. DOI: 10.1002/art.27584
2. Cao R.N., Tang L., Xia Z.Y., Xia R. Endothelial glycocalyx as a potential therapeutic target in organ injuries // *Chin. Med. J. (Engl.)*. 2019. Vol. 132, No. 8. P. 963–975. DOI: 10.1097/CM9.000000000000177
3. Lee D.H., Dane M.J., van den Berg B.M. et al. Deeper penetration of erythrocytes into the endothelial glycocalyx is associated with impaired microvascular perfusion // *PLoS One*. 2014. Vol. 9, No. 5. P. e96477. DOI: 10.1371/journal.pone.0096477
4. McDonald K.K., Cooper S., Danielzak L., Leask R.L. Glycocalyx degradation induces a proinflammatory phenotype and increased leukocyte adhesion in cultured endothelial

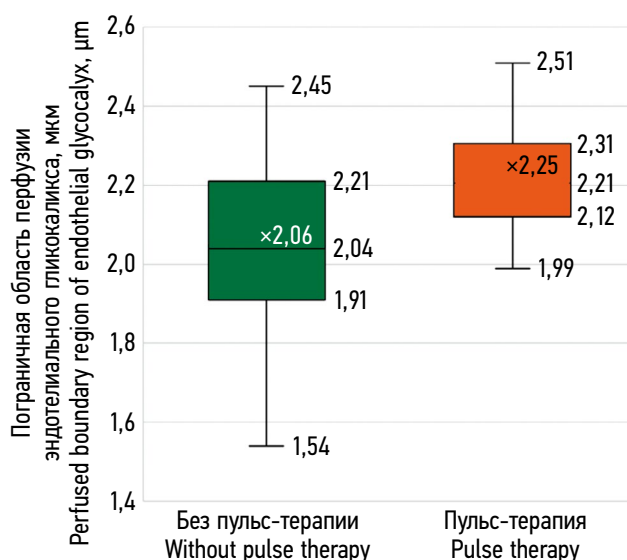


Рис. 3. Различия PBR₅₋₂₅ в зависимости от последующего проведения пульс-терапии метилпреднизолоном. PBR — пограничная область перфузии

Fig. 3. Differences in PBR5-25 depending on subsequent methylprednisolone pulse therapy. PBR — perfused boundary region

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Темнопольная микроскопия дает возможность прижизненной и неинвазивной оценки толщины ЭГК, предоставляя важную информацию как с фундаментальной точки зрения, углубляя знания о патологической физиологии заболевания, так и с клинической — позволяя рассматривать истончение ЭГК как маркер неблагоприятного течения РА.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Источник финансирования. Исследование не имело финансового обеспечения или спонсорской поддержки.

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

Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

cells under flow // *PLoS One*. 2016. Vol. 11, No. 12. P. e0167576. DOI: 10.1371/journal.pone.0167576

5. Eickhoff M.K., Winther S.A., Hansen T.W. et al. Assessment of the sublingual microcirculation with the GlycoCheck system: Reproducibility and examination conditions // *PLoS One*. 2020. Vol. 15, No. 12. P. e0243737. DOI: 10.1371/journal.pone.0243737

6. Власов Т.Д., Лазовская О.А., Шиманьски Д.А. и др. Эндотелиальный гликокаликс: методы исследования и перспективы их применения при оценке дисфункции эндотелия // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2020. Т. 19, № 1(73). С. 5–16. DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-1-5-16

7. Мельникова Ю.С., Макарова Т.П. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических болезней // Казанский медицинский журнал. 2015. Т. 96, № 4. С. 659–665. DOI: 10.17750/KMJ2015-659

REFERENCES

1. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9):2569–2581. DOI: 10.1002/art.27584
2. Cao RN, Tang L, Xia ZY, Xia R. Endothelial glycocalyx as a potential therapeutic target in organ injuries. *Chin Med J (Engl).* 2019;132(8):963–975. DOI: 10.1097/CM9.0000000000000177
3. Lee DH, Dane MJ, van den Berg BM, et al. Deeper penetration of erythrocytes into the endothelial glycocalyx is associated with impaired microvascular perfusion. *PLoS One.* 2014;9(5):e96477. DOI: 10.1371/journal.pone.0096477
4. McDonald KK, Cooper S, Danielzak L, Leask RL. Glycocalyx degradation induces a proinflammatory phenotype and increased leukocyte adhesion in cultured endothelial cells under flow. *PLoS One.* 2016;11(12):e0167576. DOI: 10.1371/journal.pone.0167576
5. Eickhoff MK, Winther SA, Hansen TW, et al. Assessment of the sublingual microcirculation with the GlycoCheck system: Reproducibility and examination conditions. *PLoS One.* 2020;15(12):e0243737. DOI: 10.1371/journal.pone.0243737
6. Vlasov TD, Lazovskaya OA, Shimanski DA, et al. The endothelial glycocalyx: research methods and prospects for their use in endothelial dysfunction assessment. *Regional Hemodynamics and Microcirculation.* 2020;19(1(73)):5–16. (In Russ.). DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-1-5-16
7. Mel'nikova YuS, Makarova TP. Endothelial dysfunction as the key link of chronic diseases pathogenesis. *Kazan medical journal.* 2015;96(4):659–665. (In Russ.). DOI: 10.17750/KMJ2015-659

ОБ АВТОРАХ

* Даниэль Анджеевич Шиманьски;

адрес: Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6903-2217>;
eLibrary SPIN: 2022-5223; e-mail: shimanskidaniel@gmail.com

Ирина Ивановна Нестерович, д-р мед. наук;

eLibrary SPIN: 8921-1751; e-mail: nester788@gmail.com

Оксана Владимировна Инамова, канд. мед. наук;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9126-3639>;
eLibrary SPIN: 8841-5496; e-mail: b25@zdrav.spb.ru

Василий Иванович Трофимов, д-р мед. наук, профессор;

eLibrary SPIN: 1306-5645; e-mail: trofvi@mail.ru

Ольга Владимировна Галкина, канд. биол. наук, доцент;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7265-7392>;
eLibrary SPIN: 4251-6056; e-mail: nephrolog1985@gmail.com

Елена Николаевна Левыкина;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8024-2904>;
eLibrary SPIN: 9550-6270; e-mail: nephrolog1985@gmail.com

Тимур Дмитриевич Власов, д-р мед. наук, профессор;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6951-7599>;
Scopus Author ID: 7003323018; ResearcherID: C-6843-2014;
eLibrary SPIN: 8367-1246; e-mail: tvlasov@yandex.ru

AUTHORS INFO

* Daniel A. Shimanski;

address: 6/8 Lva Tolstogo St., Saint Petersburg, 197022, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6903-2217>;
eLibrary SPIN: 2022-5223; e-mail: shimanskidaniel@gmail.com

Irina I. Nesterovich, MD, Dr. Sci. (Med.);

eLibrary SPIN: 8921-1751; e-mail: nester788@gmail.com

Oksana V. Inamova, MD, Cand. Sci. (Med.);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9126-3639>;
eLibrary SPIN: 8841-5496; e-mail: b25@zdrav.spb.ru

Vasilii I. Trophimov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;

eLibrary SPIN: 1306-5645; e-mail: trofvi@mail.ru

Olga V. Galkina, Cand. Sci. (Biol.), Assistant Professor;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7265-7392>;
eLibrary SPIN: 4251-6056; e-mail: nephrolog1985@gmail.com

Elena N. Levykina;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8024-2904>;
eLibrary SPIN: 9550-6270; e-mail: nephrolog1985@gmail.com

Timur D. Vlasov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6951-7599>;
Scopus Author ID: 7003323018; ResearcherID: C-6843-2014;
eLibrary SPIN: 8367-1246; e-mail: tvlasov@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author