

УДК 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-78-83

ЧУМАСОВ Е. И.<sup>1, 2</sup>, ПЕТРОВА Е. С.<sup>1</sup>, КОРЖЕВСКИЙ Д. Э.<sup>1</sup>

## Структурно-функциональная характеристика эндотелиальных клеток сосудов сердца новорожденной крысы (иммуногистохимическое исследование)

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Россия

196084, Россия, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5

e-mail: iemmorphol@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 26.01.18; принята к печати 28.02.18

### Резюме

Цель работы – с помощью гистологических методов и иммуногистохимического маркирования фактора Виллебранда (фВ) изучить состояние эндотелиальных клеток (ЭК) кровеносного русла сердца новорожденных крыс. Иммуногистохимическое исследование проводили на крысах Вистар 1-го дня постнатального развития (n=6). Установлено, что ЭК формирующихся сосудов сердца новорожденной крысы находятся на разных стадиях морфологической и функциональной дифференцировки в зависимости от топографии. Наиболее выраженной фВ-иммунореактивностью в этот срок обладают ЭК интимы восходящего ствола аорты до клапанов, а также коронарных артерий и их ветвей, расположенных в эпикарде и миокарде в области верхней трети желудочков. В то же время в ЭК сосудов микроциркуляторного русла миокарда, а также эндотелия эндокарда ушек и желудочков реакция на фВ в этот срок еще слабо выражена или отсутствует. На светооптическом уровне продемонстрированы морфологические особенности ЭК, вариабельность и размеры фВ<sup>+</sup>-гранул, свидетельствующие о различной зрелости эндотелия сосудов сердца новорожденных животных.

**Ключевые слова:** эндотелиальные клетки, фактор Виллебранда, сердце, кровеносные сосуды, иммуногистохимия, новорожденные крысы

**Для цитирования:** Чумасов Е. И., Петрова Е. С., Коржевский Д. Э. Структурно-функциональная характеристика эндотелиальных клеток сосудов сердца новорожденной крысы (иммуногистохимическое исследование). Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):80–85. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-78-83

УДК 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-78-83

CHUMASOV E. I.<sup>1, 2</sup>, PETROVA E. S.<sup>1</sup>, KORZHEVSKII D. E.<sup>1</sup>

## Structural and functional characteristics of endothelial cells of vessels of the heart of newborn rats (immunohistochemical study)

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Institution «Institute of Experimental Medicine», Saint-Petersburg, Russia

197376, Russia, Saint-Petersburg, Akademika Pavlova street, 12

<sup>2</sup> Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine»

196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya street, 5

e-mail: iemmorphol@yandex.ru

Received 26.01.18; accepted 28.02.18.

### Summary

The study is aimed to investigate the pattern of cytodifferentiation of developing endothelial cells (EC) of microcirculatory bed of the heart of newborn rats using light microscopy and immunohistochemical labeling of von Willebrand factor (vWF). Immunohistochemical study was carried out on Wistar rats on the postnatal day 1 (n=6). For the first time, EC of the developing vessels of the heart of newborn rats were found to be on different stages of cytodifferentiation. Most pronounced structural and functional maturity at this developmental stage was typical for EC of intima of aorta, coronary vessels, middle and small arteries and arterioles of the myocardium in the upper third of the ventricles. Endothelium of these vessels demonstrates strong vWF-immunoreactivity, while in the developing capillaries of the sinusoidal type of the subepicardial region and ventricular endocardium, the vWF-immunoreaction at this time period is still weak or absent. Morphological pattern and variability of sizes of vWF-immunoreactive granules of endothelium has been established. Signs of secretion in the EC were revealed. Synthesis, accumulation, and exocytosis of vWF are suggested to be associated with the degree of cytodifferentiation of EC.

**Key words:** endothelial cells, von Willebrand factor, heart, blood vessels, immunohistochemistry, newborn rats

**For citation:** Chumasov E. I., Petrova E. S., Korzhevskii D. E. Structural and functional characteristics of endothelial cells of vessels of the heart of newborn rats (immunohistochemical study). Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(2):80–85. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-78-83

## Введение

Изучению морфологических особенностей и функций эндотелия как одного из важных тканевых компонентов стенки сосудов в последние десятилетия уделяется пристальное внимание [1, 2, 6, 8]. Об актуальности таких исследований свидетельствует тот факт, что в 2017 г. вышло несколько обзоров, касающихся эндотелиоцитов [3, 5, 7]. Они посвящены изучению проблем сердечно-сосудистой патологии в связи с такими широко распространенными заболеваниями, как атеросклероз, диабет, варикозная болезнь вен, сердечная недостаточность и др. Считается, что в основе этих заболеваний лежит эндотелиальная дисфункция, выражающаяся в изменении структурно-функционального состояния эндотелиальных клеток (ЭК). В нормальных физиологических условиях эндотелий постоянно продуцирует необходимое количество биологически активных факторов, которые связаны с регуляцией гомеостаза. К этим факторам относятся тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор Виллебранда (фВ), ангиотензина-II, -IV, фактор-VIII, эндотелин-1, CD63, оксид азота и др. Одним из перспективных маркеров, отражающих состояние эндотелиальных клеток и концентрацию его в крови, используемым в настоящее время в диагностических целях, безусловно, является фактор Виллебранда, который, наряду с другими (P-селектин, CD63), локализуется в тельцах Вейбеля–Паладе – специализированных органеллах цитоплазмы ЭК [9, 10, 14, 17]. Кроме разграничительной и барьерной, эндотелий выполняет множество других функций. Он участвует в регуляции гемостаза, выполняет протромбогенную и антитромбогенную, вазоконстрикторную и вазодилататорную функции, участвует в стимуляции и ингибировании роста сосудов. Наиболее важной функцией эндотелия следует считать секреторную [13, 20].

Имеется ряд работ, посвященных проблеме экзотоза фВ эндотелиальными клетками артериальных и венозных сосудов [12, 18, 20]. В исследованиях, выполненных *in vitro* и в экспериментах на изолированных сосудах, были изучены последовательные стадии экзотоза как при нормальном физиологическом состоянии ЭК, так и при различных эндогенных и экзогенных воздействиях [13, 15, 18, 19]. Хотя эти работы выполнены на достаточно высоком методическом уровне – с использованием иммуногистохимических методик, сканирующей, электронной и конфокальной микроскопии, ряд вопросов, касающихся гистогенеза эндотелия и цитодифференцировки его ЭК, в связи с их секреторной деятельностью, в развивающемся сердце до сих пор остаются недостаточно изученными.

**Цель работы** – с помощью гистологических методов и иммуногистохимического маркирования фактора Виллебранда изучить состояние эндотелиальных клеток кровеносного русла сердца новорожденных крыс.

## Материал и методы исследования

Работа выполнена на крысах Вистар 1-го дня постнатального развития (n=6). При содержании и

умерщвлении животных руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12 августа 1977 г.). У новорожденных крысят выделяли сердце и фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида [4]. После соответствующей обработки материал заливали в парафин. На парафиновых срезах толщиной 5 мкм для выявления эндотелиоцитов выполняли иммуногистохимическую реакцию на фактор Виллебранда [5]. Использовали поликлональные кроличьи антитела в разведении 1:250 (*Dako*, Дания). В качестве вторичных антител применяли реагенты из набора Reveal Polyvalent HRP/DAB Detection System kit (*SpringBioscience*, США). Для визуализации продукта иммуноцитохимической реакции (ИГХ) использовали хромоген DAB+ (*Dako*, Дания). Часть срезов окрашивали гематоксилином-эозином, часть докрашивали толуидиновым синим. Препараты исследовали под микроскопом Leica DM750, фотосъемку выполняли с помощью фотокамеры ICC50 (*Leica*, Германия).

## Результаты исследования и их обсуждение

С помощью окраски толуидиновым синим и иммуногистохимического выявления фВ установлено, что у новорожденных крыс, которые, как известно, относятся к слепорождаемым млекопитающим, в субэпикардиальной области, в миокарде предсердий и желудочков еще продолжается процесс образования кровеносных сосудов. Об этом свидетельствуют наличие в описанных областях сердца сосудов с широкими просветами, выстланных однослойным эндотелием, и присутствие митотически делящихся ЭК. Такие сосуды имеют форму уплощенных цистерн, эллипсоидов, крупных образований сферической формы. По морфологии они сходны с венозными эмбриональными капиллярами. Просвет части таких сосудов заполнен однородным слабоокрашенным гомогенным содержимым, у других сосудов в просвете обнаруживаются эритроциты (рис. 1, а, б). Такой тип сосудов преобладает в сердце новорожденной крысы. Чаще всего они наблюдаются в субэпикардиальной области и прослеживаются вдоль всего периметра эпикарда, окружающего желудочки сердца.

Прежде чем перейти к дальнейшему анализу материала, следует отметить одну важную особенность. С помощью используемого ИГХ-маркера на данной стадии развития крысы хорошо визуализируется эндотелий только в части развивающихся сосудов сердца. Их ЭК избирательно выявляются с помощью ИГХ-реакции на фВ (фВ<sup>+</sup>), а продукт реакции окрашивается в черно-коричневый цвет. В то же время ЭК других сосудов иммунонегативны (фВ<sup>-</sup>). Благодаря этой разнице реакций и окрашивания удастся четко определить топографию распространения эндотелия сосудов в разных частях миокарда, морфологию ЭК и степень их функциональной активности.

Установлены следующие закономерности развития эндотелия в зависимости от локализации сосудов. В субэпикардиальной области и поверхностных слоях миокарда, где отмечается интенсивное формирование сосудов, иммуногистохимическая реакция на фВ

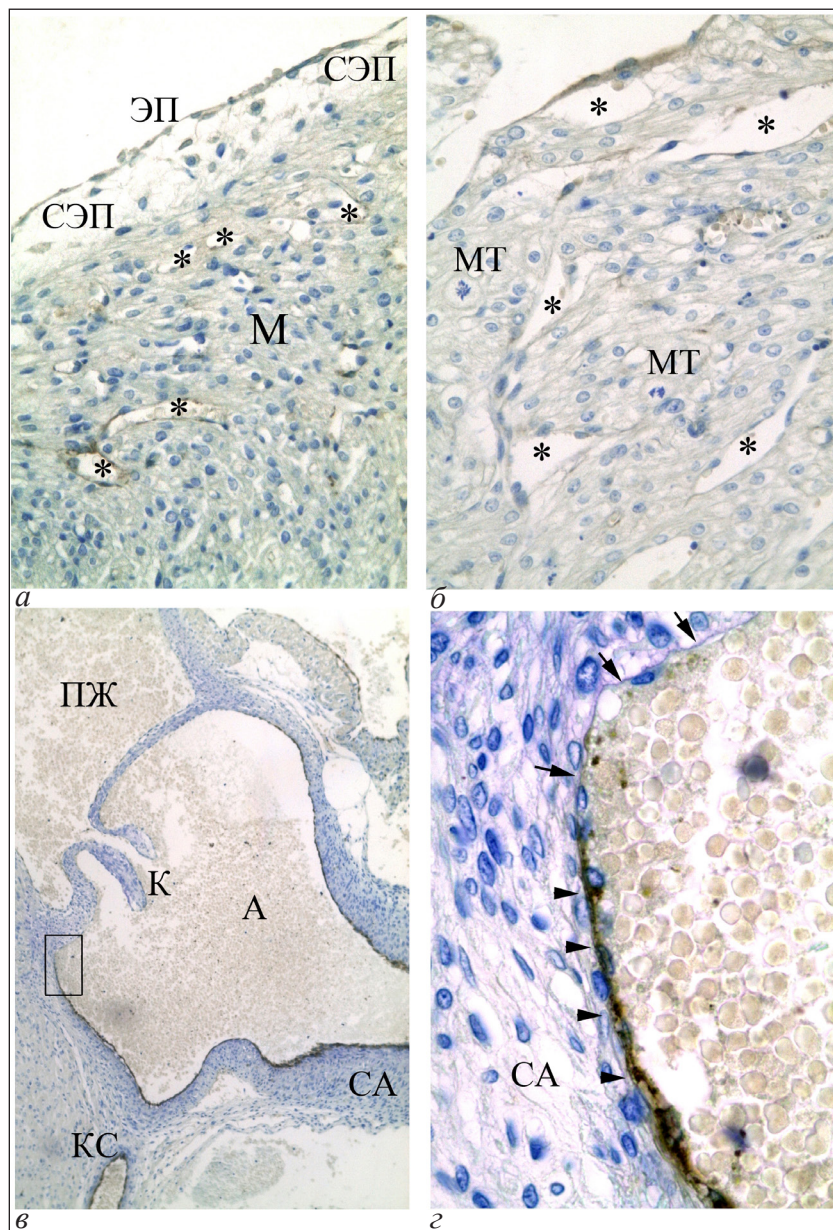


Рис. 1. Иммуногистохимическая реакция на фактор Виллебранда в эндотелии сосудов из разных отделов сердца новорожденной крысы: а – синусоидные сосуды в субэпикардиальной области; б – сосуды в миокарде желудочка (звездочки); в – область перехода эндотелия аорты в эндотелий эндокарда (выделено); г – фрагмент зоны перехода; ЭП – эпикард; СЭП – субэпикард; М – миокард; А – просвет аорты; ПЖ – просвет желудочка; КС – коронарный сосуд; МТ – митозы; СА – стенка аорты; К – клапаны.

Ув.: ×100 (в); ×400 (а, б); ×1000 (г)

Fig. 1. Immunohistochemical reaction to von Willebrand factor in the vascular endothelium of different parts of the heart of a newborn rat: а – sinusoid vessels in the subepicardial region; б – vessels in the myocardium of the ventricle (asterisks); в – region of the transition of the endothelium of the aorta to the endothelium of the endocardium (noted); г – the fragment of the transition zone; ЭП – epicardium; СЭП – subepicardium; М – myocardium; А – aorta; ПЖ – ventricle; КС – coronary vessel; МТ – mitosis; СА – aortic wall; К – valves.

×100 (в); ×400 (а, б); ×1000 (г)

в ЭК еще слабо выражена или отсутствует (рис. 1, а). Такая же слабая реакция характерна для синусоидных капилляров, встречающихся в миокарде правого и левого желудочков, а также в ушках (рис. 1, б). Наиболее четко выраженной ИГХ-реакцией на фВ

обладает эндотелий, выстилающий стенку восходящего ствола аорты. Выстилка, состоящая из фВ<sup>+</sup> ЭК прослеживается на всем протяжении интимы восходящего ствола аорты. Эндотелий поверхностной и нижней стороны части клапанов сердца крысы на данном сроке постнатального развития иммунонегативен (фВ<sup>-</sup>). В некоторых случаях наблюдается слабо выраженная реакция в области перехода эндотелия аорты в эндотелий эндокарда желудочка (рис. 1, в). Среди эндотелиальных клеток эндокарда, выстилающего полости желудочков, межпредсердную перегородку, сосочковые мышцы, встречаются как фВ<sup>+</sup>, так и фВ<sup>-</sup> ЭК. Эти факты свидетельствуют, по-видимому, о разной функциональной степени зрелости ЭК эндокарда и кровеносных сосудов. Эндотелий аорты и коронарных артерий, а также их ветвей разного диаметра (средних и мелких артерий), и части синусоидных капилляров, встречающихся в верхней трети миокарда правого и левого желудочков, имеют уже положительную реакцию на фВ (рис. 2, а).

С помощью световой микроскопии при большом увеличении (при увеличении ×1000) нами установлен ряд морфологических отличий между фВ<sup>+</sup>- и фВ<sup>-</sup>-клетками эндотелия сосудов. На препаратах, подкрашенных толудиновым синим, видно, что фВ<sup>-</sup>ЭК, как правило, имеют сильно уплощенную форму ядра и цитоплазмы. Тогда как ЭК с фВ<sup>+</sup>-реакцией имеют явно гипертрофированный вид: веретенообразную форму, хорошо выраженное ядро и цитоплазму. Ядра округлой или овальной формы, некоторые из них выпячиваются в просвет сосуда. Обращает на себя внимание, что в эндотелии аорты они располагаются чаще, чем в эндотелии эндокарда (рис. 2, а, в).

Характерной особенностью этих ЭК служит наличие в цитоплазме многочисленных иммунопозитивных гранул, в которых содержится фВ (рис. 2). Гранулы располагаются по всей цитоплазме ЭК, в некоторых случаях (в зависимости от расположения клетки в пределах среза) они настолько плотно заполняют клетку, что маскируют ее ядро. Ядра клеток иммунонегативны и хорошо окрашиваются толудиновым синим. Такие клеточные элементы выглядят как зернистые (секреторные) клетки (рис. 1, г; рис. 2, б–г).

Гранулы таких ЭК-клеток имеют чаще всего округлую, шаровидную или вытянутую форму и их разме-

ры сильно варьируют – от 0,5 мкм до пылевидных частиц, находящихся на границе разрешающей способности световой микроскопии. Интересно отметить, что часть фВ<sup>+</sup>-гранул обнаруживается не только в цитоплазме ЭК, но и за ее пределами. Они могут располагаться как по отдельности, так и в виде мелких групп, некоторые способны слипаться, образуя крупные (от 2 до 5 мкм) гранулярные внеклеточные структуры. Часто можно было видеть, как эти гранулярные структуры, прилежит к аблюминальной поверхности гранулярных ЭК (рис. 2). Иногда наблюдались отходящие от поверхности цитоплазмы, довольно длинные (до 300 и более мкм) цепочечно-гранулярные тяжи, состоящие из мелких пылевидных, средних и крупных частиц, заключенные в гомогенный субстрат, вероятно, фибрин (рис. 2, б). Бóльшее или меньшее количество различных размеров фВ<sup>+</sup>-гранул нередко встречалось в участках скопления эритроцитов в просвете сосудов и в полостях желудочков. Следует отметить, что, наряду со специфическими цитоплазматическими гранулами, в крови новорожденных крыс с помощью данного ИГХ-метода окрашивались и тромбоциты (рис. 2, з).

По данным литературы известно, что в процессе васкулогенеза в сердце птиц и млекопитающих первыми сосудами, появляющимися в эмбриогенезе и неонатальном периоде, являются венозные синусоидные капилляры с широкими просветами, выстланные однослойным эндотелием [1, 6, 11]. Источником ЭК сердца является проэпикард – прогениторный орган, из которого в дальнейшем в результате миграции клеток-предшественников в глубокие слои миокарда образуются все известные разновидности клеток стенки коронарных сосудов (капилляров и артериол, мелких и средних артерий), а также системы сосудов синусоидного типа, связанных непосредственно с кровью желудочков, выполняющих дренажную или депонирующую функции [6]. Нами показано, что ЭК формирующихся сосудов сердца – синусоидных капилляров субэпикардиальной области, миокарда предсердий и желудочков, в стенке аорты и коронарных артерий новорожденной крысы – находятся на разных стадиях цитодифференцировки и функциональной активности. Об этом свидетельствуют приведенные нами факты и иллюстративные материалы гистологического и иммуногистохимического анализа перечисленных исследованных сосудов.

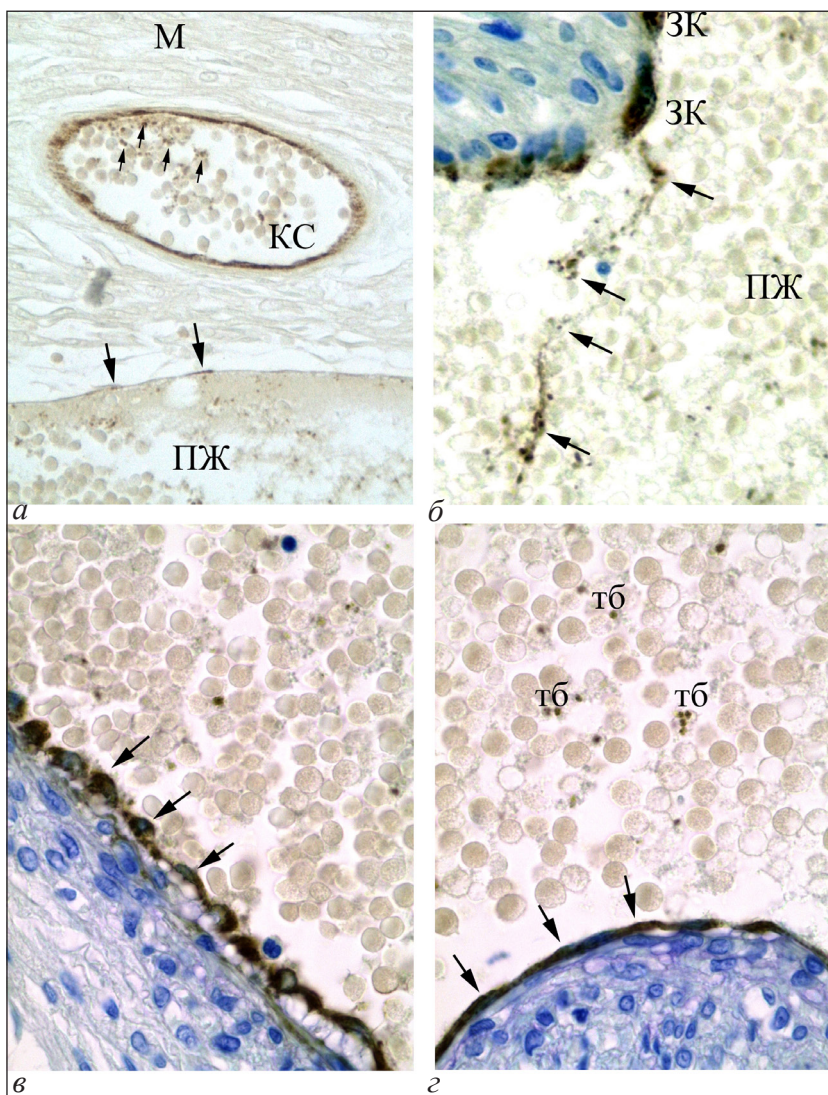


Рис. 2. Гранулярные элементы фактора Виллебранда, отражающие признаки экзоцитоза: а – фВ<sup>+</sup> гранулы в крови, просвет коронарного сосуда и желудочка; б – фВ<sup>+</sup>-зернистые эндотелиальные клетки и гранулярный тяж в полости просвета аорты; в, з – фВ<sup>+</sup>-зернистые эндотелиальные клетки и гранулы в крови, просвет аорты; КС – коронарный сосуд, эндотелий желудочка (длинные стрелки); ПЖ – просвет желудочка; ЗК – зернистые клетки, гранулярный тяж (короткие стрелки); тб – тромбоциты. Иммуногистохимическая реакция на фактор Виллебранда. Ув.: ×400 (а); ×1000 (б–з)

Fig. 2. Granular elements of Willebrand factor, reflecting the signs of exocytosis: а – vWF<sup>+</sup> granules in the blood, lumen of the coronary vessel and ventricle; б – vWF<sup>+</sup> granular endothelial cells and granular cord in the aortic lumen; в, з – vWF<sup>+</sup> granular endothelial cells, and granules in the blood, aortic lumen; КС – coronary vessel, endothelium of the ventricle (long arrows); ПЖ – ventricular lumen; ЗК – grained cells, granular cord (short arrows); тб – platelets. Immunohistochemical reaction to von Willebrand factor. ×400 (а); ×1000 (б–з)

Значительным достижением в ангиологии последних лет стала разработка высокоэффективного иммуногистохимического метода определения фВ-белка, синтезируемого ЭК [3, 5, 7]. Учитывая большое его значение в регуляции гемостаза, изменении реологических свойств крови, этот маркер приобретает все бóльшую известность и применяется в экспериментальных исследованиях и клинической практике [5, 7]. Ценность метода, по нашему мнению, состоит и в том, что он может использоваться не толь-

ко в морфологических целях, но и для функциональной оценки активности эндотелия. Он обладает также большой прогностической ценностью в отношении предсказания исходов широко распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы [5].

Имеется ряд работ, посвященных проблеме изучения экзоцитоза фВ ЭК артериальных и венозных сосудов в нормальных и экспериментальных условиях, выяснению сложного субмикроскопического строения и функциональной роли их специализированных органелл – телец Вейбеля–Паладе, содержащих фактор Виллебранда [14, 18]. С помощью трансмиссионной, сканирующей, электронной томографии, лазерной конфокальной микроскопии и цейтраферной съемки были изучены последовательные стадии экзоцитоза – выделения специфических белков и различного вида гранул из ЭК в окружающую среду, как при нормальном физиологическом состоянии ЭК, так и при различных эндогенных и экзогенных воздействиях [13, 15, 18, 19]. Большинство этих исследований выполнено *in vitro* или в экспериментах на изолированных сосудах. Лишь немногочисленные работы выполнены непосредственно на лабораторных животных. Определенный интерес представляет работа, посвященная морфологическим изменениям в ЭК, которые были изучены с помощью выявления фВ, после воздействия тромбина *in vivo* [16]. Работа проведена на крысах, объектом исследований служил эндотелий аорты и легочной артерии. Были использованы антитела к фВ, конъюгированные с 10 нм коллоидным золотом. Показано, что после введения тромбина через 15 мин, 1 ч и 24 ч статистически значимое увеличение частиц и телец фВ<sup>+</sup> сначала наблюдалось в цитоплазме клетки, а затем уменьшалось и регистрировалось в плазме просвета сосудов. Уменьшение числа гранул и телец сопровождалось образованием больших цитоплазматических вакуолей, которые открывались в просвет. Причем многие тельца палочковидной формы слипались друг с другом, образуя агрегаты. Описаны два способа экзоцитоза фВ – конститутивный и регуляторный [16].

В настоящей работе на светооптическом уровне нами установлен ряд морфологических различий в строении эндотелия сосудов. Оказалось, что не все ЭК в сердце новорожденной крысы являются фВ<sup>+</sup>. Степень плотности расположения секреторных гранул и их размеры в разных ЭК развивающихся сосудов также различаются. Предположительно, эти различия связаны со степенью функциональной активности или зрелостью ЭК. Можно предположить, что дифференцировка ЭК зависит от их взаимоотношений с форменными элементами крови (эритроцитами, лейкоцитами, тромбоцитами). Возможно также, что перечисленные различия связаны с началом активного кровотока по сосудам. В отдельных формирующихся венозных капиллярах, расположенных в субэпикардиальной области, в миокарде желудочков и предсердий, у которых в просвете отсутствовали эритроциты, клетки эндотелия были фВ-негативны. ЭК, в цитоплазме которых присутствовали многочисленные фВ<sup>+</sup>-гранулы и наблюдались признаки экзоцитоза, можно считать «функционально актив-

ными», или секреторными ЭК. Наиболее выраженной структурной и функциональной зрелостью в этот срок обладают клетки эндотелия интимы аорты, коронарных сосудов, средних и мелких артерий и артериол миокарда предсердий в области верхней трети желудочков.

Таким образом, в настоящей работе впервые на светооптическом уровне изучены эндотелиальные клетки сосудов в различных отделах сердца у новорожденной крысы с использованием иммуногистохимического выявления фактора Виллебранда. Установлено, что ЭК находятся на разных стадиях цитодифференцировки. ЭК интимы аорты, коронарных сосудов, средних и мелких артерий и артериол миокарда в области верхней трети желудочков обладают ярко выраженной иммуноположительной реакцией на фВ и характеризуются наиболее выраженной структурной и функциональной зрелостью. В то время как в развивающихся капиллярах микроциркуляторного русла миокарда и эндокарда предсердий и желудочков реакция на фВ выражена слабо или отсутствует. Полученные результаты открывают новые методологические перспективы для проведения полномасштабных сравнительно-онтогенетических исследований гистогенеза эндотелия кровеносных сосудов внутренних органов млекопитающих и человека, которые должны установить его функциональные особенности и взаимодействие с другими тканевыми элементами в развивающемся организме.

#### Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

#### Литература / References

1. Афанасьев Ю. И., Горячкина В. Г. Сердечно-сосудистая система: рук-во по гистологии. Т. 2 / под ред. Р. К. Данилова. – 2-е изд. – СПб.: СпецЛит, 2011. – С. 241–296. [Afanasyev Yu.I., Goryachkina V.G. Cardiovascular system. R.K. Danilov, editor. Textbook on histology. 2nd ed. St. Petersburg: SpecLit; 2011. V. 2: 241–296. (In Russ)].
2. Банин В. В. Роль внеклеточного матрикса в регуляции ангиогенеза // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2006. – Т. 5. – № 1. – С. 13–19. [Banin VV. The role of extracellular matrix in the regulation of angiogenesis. Regional blood circulation and microcirculation. 2006;5(1):13–19. (In Russ)].
3. Васина Л. В., Власов Т. Д., Петрищев Н. Н. Функциональная гетерогенность эндотелия (обзор) // Артериальная гипертензия. – 2017. – Т. 23. – № 2. – С. 88–102. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-2-88-102. [Vasina LV, Vlasov TD, Petrishchev NN. Functional heterogeneity of the endothelium (review). Arterial hypertension. 2017;23(2):88–102. (In Russ)].
4. Коржевский Д. Э., Кирик О. В., Петрова Е. С. и др. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии / под ред Д. Э. Коржевского. – 2-е изд., испр. и доп. – СПб., 2014. [Korzhevsky DE, Kirik OV, Petrova ES et al. Theoretical bases and practical application of methods of immunohistochemistry. D.E. Korzhevsky, editor. St. Petersburg: SpecLit; 2014, (2nd edition, revised and enlarged). (In Russ)].
5. Коржевский Д. Э., Кирик О. В., Сухорукова Е. Г. и др. Фактор Виллебранда эндотелиоцитов кровеносных

сосудов и его использование в иммуноморфологических исследованиях // Мед. академ. журн. – 2017. – Т. 17. – № 1. – С. 34–40. [Korzhevsky DE, Kirik OV, Sukhorukova EG. et al. The von Willebrand factor of blood vessel endothelial cells and its use in immunomorphological studies. *Medical Academic Journal*. 2017;17(1):34-40. (In Russ)].

6. Чумасов Е. И., Петрова Е. С., Коржевский Д. Э. Изучение строения развивающегося эпикарда и особенностей васкуляризации в сердце новорожденных крыс // Актуальные вопросы ветеринар. биол. – 2017. – Т. 34. – № 2. – С. 12–18. [Chumasov EI, Petrova ES, Korzhevsky DE. A study of the structure of the developing epicardium and features of vascularization in the heart of newborn rats. *Actual questions of veterinary biology*. 2017;34(2):12-18. (In Russ)].

7. Шабров А. В., Апресян А. Г., Добкес А. Л. и др. Роль и методы оценки эндотелиальной дисфункции в практической медицине // Мед. академ. журн. – 2017. – Т. 17. – № 1. – С. 7–23. [Shabrov AV, Apresyan AG, Dobkes AL et al. The role and methods of assessing endothelial dysfunction in practical medicine. *Medical Academic Journal*. 2017;17(1):7-23. (In Russ)].

8. Шайдakov Е. В., Евлахов В. И. Роль эндотелия в патогенезе хронической постэмболической лёгочной гипертензии // Ангиол. и сосуд. хир. – 2016. – Т. 22. – № 1. – С. 22–27. [Shaidakov EV, Evlakhov VI. The role of endothelium in the pathogenesis of chronic postembolic pulmonary hypertension. *Angiology and vascular surgery*. 2016;22(1):22-27. (In Russ)].

9. Babich V, Knipe L, Hewlett L et al. Differential effect of extracellular acidosis on the release and dispersal of soluble and membrane proteins secreted from the Weibel–Palade body. *J Biol Chem*. 2009;284(18):12459-12468. doi: 10.1074/jbc.M809235200.

10. Boneu B, Abbal M, Plante J, Bierme R. Letter: Factor–VIII complex and endothelial damage. *Lancet*. 1975;1(7922):1430.

11. Dettman RW, Denetclaw W, Ordahl CP, Bristow J. Common epicardial origin of coronary vascular smooth muscle, perivascular fibroblasts, and intermyocardial fibroblasts in the avian heart. *Dev. Biol*. 1998;193(2):169-181. doi: 10.1006/dbio.1997.8801.

12. Fujimoto S. Degranulation of endothelial specific granules of the toad aorta after treatment with compound 48/80. *Anat Rec*. 1982;203(2):197-204. doi: 10.1002/ar.1092030202.

13. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288(5789):373-376.

14. Huang RH, Wang Y, Roth R et al. Assembly of Weibel–Palade body-like tubules from N-terminal domains of von Willebrand factor. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2008;105(2):482-487. doi: 10.1073/pnas.0710079105.

15. Kumar RA, Moake JL, Nolasco L. et al. Enhanced platelet adhesion and aggregation by endothelial cell-derived unusually large multimers of von Willebrand factor. *Biorheology*. 2006;43(5):681-691.

16. Richardson M, Tinlin S, De Reske M. Morphological alterations in endothelial cells associated with the release of von Willebrand factor after thrombin generation in vivo. *Arterioscler Thromb*. 1994;14(6):990-999.

17. Savage B, Sixma JJ, Ruggeri ZM. Functional self-association of von Willebrand factor during platelet adhesion under flow. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(1):425-430. doi: 10.1073/pnas.012459599.

18. Valentijn KM, van Driel LF, Mourik MJ. Multigranular exocytosis of Weibel–Palade bodies in vascular endothelial cells. *Blood*. 2010;116(10):1807-1816. doi: 10.1182/blood-2010-03-274209.

19. Wagner DD, Bonfanti R. von Willebrand factor and the endothelium. *Mayo Clin Proc*. 1991;66(6):621-627.

20. Weibel ER, Palade GE. New cytoplasmic components in arterial endothelia. *J. Cell Biol*. 1964;23:101-112.

## Информация об авторах

**Чумасов Евгений Иванович** – доктор биологических наук, профессор, старший научный сотрудник Лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», профессор кафедры биологии, экологии и гистологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

**Петрова Елена Сергеевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

**Коржевский Дмитрий Эдуардович** – доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующий Лабораторией функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

## Author information

**Chumasov Evgeny I.** – professor, senior researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special morphology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, professor of the Department of Biology, Ecology and Histology, St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

**Petrova Elena S.** – senior researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special morphology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

**Korzhevskii Dmitrii Eduardovich** – Doctor of Medicine (MD) in Histology and Cytology; Professor of the Russian Academy of Sciences, Chef of the Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special morphology, Institute of Experimental Medicine, e-mail: iemmorphol@yandex.ru.