УДК 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2019-18-2-70-77

Е. И. ЧУМАСОВ^{1,2}, Е. С. ПЕТРОВА¹, Д. Э. КОРЖЕВСКИЙ¹

Структурные и функциональные особенности эндотелия сосудов сердца половозрелых крыс по данным иммуногистохимического исследования

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

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

² 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 26.03.19; принята к печати 26.04.19

Резюме

Актуальность исследования связана с современной точкой зрения о том, что дисфункция эндотелия может лежать в основе таких социально значимых заболеваний, как атеросклероз, диабет, варикозная болезнь вен, сердечная недостаточность и др.

Цель работы – изучение морфофункциональных особенностей эндотелия сосудов сердца половозрелой крысы с помощью иммуногистохимического маркирования фактора Виллебранда (фВ).

Материал и методы. Работа выполнена на половозрелых крысах «Вистар» ($n=12$). Для иммуногистохимического выявления фВ применяли поликлональные кроличьи антитела. Реакция осуществлялась на парафиновых срезах, проходящих через все сердце.

Результаты. Показано, что иммуноположительная реакция на фВ (фВ⁺) в эндотелии разных областей сердца крысы неодинакова. Обнаружена тенденция к ослаблению фВ⁺-реакции в направлении от основания сердца к его верхушке. Наиболее активные в функциональном отношении эндотелиальные клетки, с признаками экзоцитоза или секреции, наблюдались в выстилке корня аорты, крупных коронарных артерий эпикарда, фиброзного кольца, клапанного аппарата и подаортального конуса. Менее выражена фВ⁺-реакция в эндотелии, выстилающем полости предсердий и желудочков, и в капиллярах микроциркуляторного русла миокарда.

Выводы. Применение иммуногистохимической реакции на фВ позволило изучить эндотелий различных отделов сердца крысы и выявить структурные особенности, связанные с увеличением секреции эндотелиоцитов. Дальнейшие исследования в этом направлении могут иметь важное значение для объяснения механизмов и диагностики эндотелиальной дисфункции.

Ключевые слова: фактор Виллебранда, эндотелий, сердце, иммуногистохимия

Для цитирования: Чумасов Е. И., Петрова Е. С., Коржевский Д. Э. Структурные и функциональные особенности эндотелия сосудов сердца половозрелых крыс по данным иммуногистохимического исследования. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2019;18(2):70–77. Doi: 10.24884/1682-6655-2019-18-2-70-77

UDC 616-092.9

DOI: 10.24884/1682-6655-2019-18-2-70-77

Е. И. CHUMASOV^{1,2}, Е. S. PETROVA¹, D. E. KORZHEVSKII¹

Structural and functional peculiarities of the endothelium of heart vessels of mature rats according to immunistochemical studies

¹ Institute of Experimental Medicine, Russia, St. Petersburg

12 Akademika Pavlova street, St. Petersburg, Russia, 197376

² Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, Russia, St. Petersburg

5 Chernigovskaya street, St. Petersburg, Russia, 196084

e-mail: iemmorphol@yandex.ru

Received 26.03.19; accepted 26.04.19

Summary

The relevance of the study is connected with the modern point of view that endothelial dysfunction may be the cause of such socially significant diseases as atherosclerosis, diabetes, varicose veins, etc.

The aim of the work is to study the morphofunctional peculiarities of the endothelium of the cardiovascular vessels of the mature rat using Willebrand factor (vWF) immunohistochemistry.

Material and methods. We used mature Wistar rats ($n = 12$). Polyclonal rabbit antibodies were used for the immunohistochemical detection of vWF. The reaction was carried out on paraffin sections, made through the whole heart.

Results. It was shown that the immunopositive reaction to vWF (vWF⁺) in the endothelium of different regions of the rat heart is not uniform. A tendency was found to weaken the vWF⁺ reaction in the direction from the base of the heart to its apex. Most functionally active endothelial cells with signs of exocytosis were observed in the aortic root, the large coronary arteries of the epicardium, the fibrous ring, the valves and the subaortal cone. vWF⁺ was less pronounced in the endothelium lining the atrial and ventricular cavities and in the myocardial capillaries.

Conclusions. Using immunohistochemical detection of the vWF, the endothelium features of different parts of the rat heart were identified. Structural features due to increased secretion of vascular endothelial cells of the heart were revealed. Further research in this direction may be important to explain the mechanisms and diagnosis of endothelial dysfunction.

Keywords: von Willebrand factor, endothelium, heart, immunohistochemistry

For citation: Chumasov E. I., Petrova E. S., Korzhhevskii D. E. Structural and functional peculiarities of the endothelium of heart vessels of mature rats according to immunohistochemical studies. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2019;18(2):70–77. Doi: 10.24884/1682-6655-2019-18-2-70-77

Введение

Изучению эндотелия, одного из структурных компонентов стенки сосудов, в настоящее время уделяется большое внимание [1–5] в связи с недостаточным знанием его структурно-функциональных особенностей и его роли в развитии широко распространенных заболеваний, таких как атеросклероз, диабет, варикозная болезнь вен, сердечная недостаточность и др. Считается, что в основе развития многих из них лежит дисфункция эндотелия. Эндотелий – полифункциональная ткань. Она обеспечивает транспортную и барьерную функции крови, участвует в регуляции сосудистого гомеостаза, выполняет протромбогенную и антитромбогенную функции, вырабатывает множество регуляторных факторов. Проявления эндотелиальной дисфункции связывают с нарушением синтеза вырабатываемых эндотелиоцитами биологически активных веществ – фактора Виллебранда (фВ), тромбоцитарного фактора роста (PDGF), ангиотензина-II, -IV, фактора-VIII, эндотелина-1, CD63, оксида азота и др. Одним из маркеров эндотелиальных клеток является фактор Виллебранда [3, 6–11]. В 70–80-х гг. прошлого столетия открыта секреторная функция эндотелием фВ, осуществляющаяся по механизму экзоцитоза [12, 13]. Несмотря на имеющиеся достижения в этом направлении, многие вопросы биологии развития, морфологии и функции эндотелия по-прежнему остаются малоизученными. Недостаточно еще данных о последовательности становления микроциркуляторного русла в онтогенезе в различных тканях и органах, о динамике цитодифференцировки ЭК в различных типах сосудов. Отсутствуют работы, посвященные морфологическим изменениям эндотелиальных клеток, их секреторной активности, фВ в возрастном аспекте, а также судьбе телец Вейбеля – Паладе.

Целью исследования явилось изучение морфофункциональных особенностей эндотелия сосудов сердца половозрелой крысы с помощью иммуногистохимического (ИГХ) маркирования фактора Виллебранда.

Материал и методы исследования

В работе использованы крысы «Вистар» в возрасте 3 месяцев ($n=12$). Во всех экспериментах при

эвтаназии животных соблюдали международные правила Хельсинкской декларации о гуманном обращении с животными и «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.). Исследование было одобрено местным этическим комитетом Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия (протокол № 3 от 30 ноября 2017 г.).

Крыс умерщвляли передозировкой паров этилового эфира, выделяли сердце и фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида в течение 1 суток [14]. После соответствующей обработки материал заливали в парафин и изготавливали срезы толщиной 5 мкм. Для выявления эндотелиоцитов была применена иммуногистохимическая реакция на фВ [3]. Следует отметить, что данный метод имеет высокую избирательную способность для выявления ЭК [4]. В подтверждение адекватности и качественной оценки метода на соседнем последовательном срезе через сердце был выполнен отрицательный контроль. Результаты такого ИГХ-исследования представлены на рис. 1. Для выявления фВ 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 иммуногистохимической реакции использовали хромоген DAB+ (Dako, Дания). Часть срезов подкрашивали толуидиновым синим и ядерным прочным красным. Препараты исследовали под микроскопом Leica DM750, фотосъемку выполняли с помощью фотокамеры ICC50 (Leica, Германия).

Результаты исследования и их обсуждение

Прежде чем перейти к морфологическому описанию препаратов сердца половозрелой крысы, следует отметить высокую избирательную способность используемого иммуногистохимического метода окрашивать ЭК в черно-коричневый цвет. Выявление в эндотелиальных клетках фактора Виллебранда зависит от типа кровеносных сосудов, их топографии,

Рис. 1. Оценка иммуногистохимической реакции на фВ на последовательных срезах через сердце 3-месячной крысы:
 а – ИГХ реакция на фВ, подкрашивание красным прочным; б – отрицательный контроль, подкрашивание ядерным прочным красным. $\times 100$

Fig. 1. Immunohistochemical reaction to vWF in adjacent sections through the heart of a three month old rat:

а – vWF-immunohistochemistry, staining with nuclear fast red; б – negative control, staining with nuclear fast red. $\times 100$

стадий постнатального онтогенеза и функциональных изменений микроциркуляторного русла сердца. ИГХ-исследование, выполненное при оценке позитивной или негативной реакции ЭК к фВ (фВ⁺ или фВ⁻) в сосудах сердца 3-месячных крыс, позволило выявить ряд интересных особенностей.

У всех исследованных животных на тотальных продольных срезах, сделанных через все отделы сердца, визуально, без специального окрашивания, можно видеть область, содержащую структуры черно-коричневого цвета. При лупном увеличении микроскопа ($\times 2,7$) видно, что этот участок сердца соответствует так называемому «подаортальному конусу» (ПАК). Это полость, ограниченная плотной тканью фиброзного кольца и клапанного аппарата, являющаяся продолжением полости левого желудочка, имеет форму треугольника (рис. 2). Широкая сторона треугольника обращена к створкам и отверстию аортального клапана, а вершина связана с полостью левого желудочка. В ПАК постоянно имеет место кровенаполнение, характеризующееся стазом эритроцитов (ЭР) и наличием в ее центральной части массового скопления пигментных глыбок.

После применения ИГХ-реакции на фВ оказалось, что наиболее интенсивная реакция наблюдается также в области ПАК, где отмечается высокая плотность клеточных элементов, главным образом ЭР. При большом увеличении микроскопа видно, что фВ⁺ зернистость представлена различного размера черного или коричневого цвета гранулами, которые встречаются в плазме крови и в тромбоцитах. В результате в центре ПАК формируется многослойная трехмерная цитоархитектоника из зернистости и конгломерата клеток – ЭР, лейкоцитов, тромбо-

цитов, а также пигментных глыбок. На периферии от центра ПАК формируется более разреженный слой. В нем хорошо видны ЭР и многочисленные иммуноположительные гранулы. Кроме мелких и крупных (0,1–0,5 мкм) округлых или сферической формы, встречаются также палочковидной формы гранулы длиной от 1 до 4 мкм.

Кроме перечисленных фВ⁺ гранулярных элементов, в зоне ПАК присутствуют, как отмечалось ранее, пигментные структуры различных размеров и формы. Они имеют вид глыбок и кластеров, окрашенных в интенсивно-черный цвет и довольно часто встречаются в соединительной ткани фиброзного кольца и створок клапанов. Часть пигментных цепочечных тяжей прослеживается непосредственно в просвете ПАК среди форменных элементов крови (рис. 2, а). Одни из них прилежат к аблюминальной (люминальной) поверхности эндотелия створок клапанов и частично эндокарда предсердий и желудочков; другая часть пигментных глыбок собраны в виде извитых лент (рис. 2, а). Глыбки пигмента и зернистость обнаруживаются также в ткани фиброзного кольца.

Далее следует остановиться на морфологических особенностях и характеристике эндотелиальных клеток этой области. Как оказалось, интенсивность реакции ЭК к белку фВ неодинакова и зависит от топографии эндотелия, а также от прилежащей к нему ткани. При сравнении эндотелиев, выстилающих интиму корня аорты, коронарных артерий, створок клапанов, фиброзного кольца, эндокарда предсердий и желудочков эндотелиальные клетки различаются. Наиболее выраженной ИГХ-реакцией обладает эндотелий интимы аорты, коронарных артерий и фиброзного кольца (рис. 2). Их фВ⁺ ЭК окрашиваются в темно-

а

б

в

Рис. 2. Область подаортального конуса, клапанного аппарата и пигментные структуры: а – общий вид; б – фрагмент эндотелия, выстилающего внутреннюю поверхность фиброзного кольца; в – фрагмент эндотелия интимы корня аорты; ПАК – подартериальный конус; ПКА – полость корня аорты; СК – створки клапанного аппарата; ПГ – пигментные включения; стрелки – эндотелиальные клетки; А – полость аорты; СОА – средняя оболочка стенки аорты. Иммуногистохимическая реакция на фактор Виллебранда, окраска ядерным прочным красным.
Ув.: $\times 100$ (а); $\times 400$ (б, в)

Fig. 2. Podaortalny cone, valves of the aorta and pigment structures: а – general view; б – a fragment of the endothelium on the inner surface of the fibrous ring of the valve; в – a fragment of the aortic intimal endothelium; ПАК – a subaortic cone; ПКА – aortic cavity at its base; СК – valve apparatus; ПГ – pigment; arrows – endothelial cells; А – aortic cavity; СОА – media walls of the aorta. vWF – immunohistochemistry, staining with nuclear fast red. $\times 100$ (а); $\times 400$ (б, в)

Рис. 3. Эндотелий интимы коронарной артерии эпикарда (а) и эндокарда левого желудочка сердца крысы (б, в):

Э – эпикард; ГМК – гладкомышечные клетки средней оболочки; ПЛЖ – полость левого желудочка; М – миокард, фВ⁺ секреторные гранулы (стрелки). Иммуногистохимическая реакция на фактор Виллебранда, окраска толуидиновым синим (а, б). Ув.: ×400 (а); ×100 (б); ×1000 (в)

Fig. 3. Endothelium of the intima of the coronary artery epicardium (a) and the endocardium of the left ventricle of the rat heart (б, в):

Э – the epicardium; ГМК – the smooth muscle cells of the media; ПЛЖ – the cavity of the left ventricle; М – myocardium, vWF⁺ secretory granules (arrows). vWF – immunohistochemistry, staining with toluidine blue (а, б). ×400 (а); ×100 (б); ×1000 (в)

Рис. 4. Палочковидные и округлые структуры в эндотелиоцитах: а – общий вид; б – фрагмент а. Иммуногистохимическая реакция на фВ. Ув.: ×400 (а), ×1000 (б)

Fig. 4. Rod-shaped and rounded structures in endotheliocytes: а – general view; б – fragment of а. vWF – immunohistochemistry. ×400 (а), ×1000 (б)

коричневый или черный цвет. На продольных срезах клетки имеют веретеновидную или треугольную форму, слегка выбухающее в просвет сосуда светлое ядро и нередко зернистую вакуолизированную цитоплазму (рис. 2, в). Вакуоли располагаются, как правило, в базальной части ЭК, на границе с соединительной тканью фиброзного кольца (рис. 2, б) или с гладкомышечными клеткам стенки аорты (рис. 2, в). На границе с кровью часто удается проследить, как от аблюминальной поверхности в просвет аорты или в полость ПАК выделяются фВ⁺ цитоплазматические гранулы или цепочечно-гранулярные тяжи. При этом видно, что они находятся повсеместно в тесной связи с форменными элементами крови (ЭР, лейкоцитами и тромбоцитами). Приведенные морфологические признаки, такие как изменение формы, вакуолизация цитоплазмы, выделение фВ⁺ гранул в кровь, служат отражением реактивного состояния и повышенной

функциональной секреторной активности ЭК. Часто можно наблюдать слияние или слипание гранул в группы, кластеры и конгломераты, которые приобретают интенсивно-черный цвет.

Эндотелий эндокарда, выстилающий полости предсердий и желудочков, в отличие от области основания сердца, характеризуется наличием сильно уплощенных клеток, ровной гладкой поверхностью и умеренной положительной реакцией на фВ (рис. 3, б). Но и в нем можно встретить при большом увеличении микроскопа участки эндотелия, особенно в местах перехода ЭК эндокарда желудочков в эндотелий полости синусоидных сосудов (возможно, сосуды Тебезия). Здесь ЭК имеют гипертрофированный вид, округлые ядра, выбухающие в просвет полости, а в цитоплазме их находятся хорошо выраженные немногочисленные фВ⁺ секреторные гранулы (рис. 3, в).

Гистологический анализ сосудов миокарда показал, что только часть средних и мелких коронарных артерий в его глубоких слоях имеют умеренную положительную ИГХ к фВ (рис. 3, а). Большинство сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) миокарда предсердий и желудочков половозрелых крыс иммунонегативны к фВ.

Наряду с многочисленными интактными капиллярами, в миокарде иногда встречаются участки с признаками частичного повреждения или гибели их ЭК. В этих участках между пучками миокардиоцитов можно видеть место прерывания хода КП, очаговое скопление клеток, а также фВ⁺ структуры черного цвета. Среди последних различаются разных размеров (0,1–0,5 мкм) гранулы округлой формы, а также палочковидные структуры, имеющие размеры от 1,5 до 3–4 мкм. Аналогичные структуры выявляются в эндотелии (рис. 4).

В предыдущем исследовании, выполненном на сердце новорожденной крысы в период продолжающегося ангиогенеза, с помощью ИГХ к фВ нами была описана морфология и начальные стадии развития секреторной активности ЭК в различных отделах сердца [4]. Было установлено, что интенсивное выделение фВ⁺-гранул в плазму крови развивающихся капилляров синусоидного типа в эпикарде и миокарде наблюдалось с 1-го дня рождения и продолжалось в течение 10–20 дней после рождения. Важно отметить, что в плазме крови подаортального конуса фВ-иммуноположительная зернистость у новорожденных животных еще отсутствовала.

В настоящей работе установлено, что у половозрелых животных интенсивность реакции на фВ в эндотелии сердца имеет тенденцию заметного ослабления в направлении от основания сердца к его верхушке, что не наблюдалось у новорожденных крысят. Наиболее выраженная фВ⁺-реакция обнаружена в области корня аорты, выстилки фиброзного кольца, клапанного аппарата, а также в полости ПАК. В ЭК сосудов микроциркуляторного русла миокарда она слабо выражена или совсем отсутствует. В первом случае, в области корня аорты, это может быть обусловлено особенностями повышенной механической нагрузки и повышенной гемодинамики, а во втором – адаптивными приспособительными реакциями, связанными с изменениями регуляции тонуса и артериального давления. Различия в интенсивности ИГХ-реакции к фВ ЭК сосудов сердца в разных отделах, вероятнее всего, отражает оптимальную физиологическую реакцию сосудистого русла сердца половозрелой крысы и носит адаптивный характер с целью обеспечения поддержания гемостаза.

Как отмечалось ранее, некоторые описанные в настоящей работе фВ⁺-структуры имеют палочковидную форму и по строению похожи на тельца Вейбеля – Паладе (ВП). ВП – органеллы, которые представляют собой резервуары накопления синтезируемых в аппарате Гольджи секреторных белков фВ [12, 13, 15–17]. Это гликопротеиды нитчатой спиралевидной структуры в виде трубочек диаметром 100–200 нм, уложенных в плотный пакет, окруженный собственной цитоплазматической мембраной.

В литературе описана динамика экспрессии фВ от низкомолекулярных предшественников (протомеров) до высокомолекулярной массы белков – мультимеров [9, 11, 18]. Изучены механизмы экзоцитоза в окружающую среду различных факторов белковой и небелковой природы: фВ, Р-селектин, VIII-фактор и др. [11, 16, 19–21]. Выходя в плазму крови, они связываются с клетками крови (нейтрофилами, ЭР, кровяными пластинками) и участвуют в регуляции гемостаза и образовании тромбов [15, 21]. Было показано *in vitro* и *in vivo*, что активное высвобождение перечисленных факторов регуляции гемостаза, включая фВ, происходит в ответ на определенные стимулы (воздействия), например, тромбина, Rad24, гистамина, повышение ионов кальция, адреналина, АМФ в клетке и др. С помощью трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии, а также конфокальной микроскопии было продемонстрировано, что ЭК после стимуляции становились сильно вакуолизированными, и на их апикальной поверхности появлялись кратеры или поры [10–12, 16]. В настоящей работе мы наблюдаем сходные процессы на светооптическом уровне. Такие вакуолизированные ЭК с признаками секреторной активности в нашем исследовании были выявлены в эндотелиях ПАК, корня аорты и выстилки фиброзного кольца.

В литературе описаны три способа экзоцитоза фВ эндотелиальными клетками [15, 16]. *Первый* – конститутивный, или обычный, экзоцитоз. *Второй* – регулируемый, когда из нескольких слившихся телец ВП с поверхностной цитоплазматической мембраной через мельчайшие поры (12 нм) люминальной поверхности клетки в плазму выходят низкомолекулярные фракции фВ⁺ белка, и *третий* – мультигранулярный экзоцитоз, при котором тельца объединяются и выделяют через цитоплазматическую мембрану крупные белковые комплексы в виде шнуров и тяжей, называемые авторами [15] «pods» (стручки). Выделение в плазму крови фВ⁺ зернистости, гранулярных цепочечных структур, заключенных в фибрин, было нами проиллюстрировано недавно на светооптическом уровне [4]. При этом следует подчеркнуть, что сами тельца ВП не покидают цитоплазму ЭК.

По данным специальной литературы, группы свободных палочковидных телец ВП описаны в питательных средах культур и в лизатах ЭК в пробирке [17, 18, 21]. Появление телец ВП в культуральной среде объясняется гибелью ЭК или нарушением целостности цитоплазматической мембраны. Факты обнаружения у здоровых крыс палочковидных фВ⁺- и фВ⁻-структур в тканях сердца указывает на то, что они появляются в результате естественной гибели или репаративной регенерации части капилляров в онтогенезе.

Исследователи, изучающие сердце животных и человека на обычных гистологических препаратах, нередко отмечают присутствие в плазме крови зернистости и пигментных структур. Практически во всех изученных случаях мы тоже столкнулись с этим фактом. Установлено, что основная масса, как фВ⁺-так и фВ⁻-зернистости и пигментных структур, локализуется в области корня аорты, клапанного аппарата. Однако наиболее высокое содержание зернистых и

пигментных структур черного цвета мы наблюдали в полости так называемого подаортального конуса.

В отношении обнаруженной в контрольных препаратах темно-коричневой зернистости, которая не совпадает с реакцией на фВ в эндотелиоцитах, можно высказать предположение, что она является артефактом, возникающим в результате формалиновой фиксации, либо неизвестной природы пигментом. Менее вероятно, что она представляет собой гранулы гемосидерина, образующегося в результате гибели эритроцитов. В настоящем исследовании с помощью селективного ИГХ-маркера получены факты, позволяющие подтвердить мнение о том, что значительная часть обнаруженной зернистости в крови полостей сердца представляет фактор Виллебранда, который либо является продуктом секреции эндотелиоцитов, либо соответствует агрегатам тромбоцитов.

Выводы

В настоящей работе установлены различия в интенсивности иммуногистохимической реакции на фактор Виллебранда эндотелия из разных отделов сердца половозрелых животных. Максимальная концентрация фВ⁺ выявлена в эндотелии, выстилающем подаортальный конус, области корня аорты, и выстилке фиброзного кольца. Реакция слабо выражена в эндокарде предсердий и желудочков и отсутствует в капиллярах микроциркуляторного русла миокарда. Выявлены особенности распределения продуктов секреции фВ в полости подаортального конуса. Полученные данные могут представлять большой интерес не только для морфологов, но и для клиницистов, поскольку будут способствовать пониманию механизмов региональной специализации эндотелиоцитов и выяснению топографических особенностей предрасположенности к эндотелиальной дисфункции.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Литература / References

1. Банин В. В. Роль внеклеточного матрикса в регуляции ангиогенеза // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 13–19. [Banin VV. Rol' vnekletocnogo matriksa v reguljacii angiogeneza. Regionarnoe krovoobrabovanie i mikroциркуляция. 2006;5(1):13–19. (In Russ.)].
2. Васина Л. В., Власов Т. Д., Петрищев Н. Н. Функциональная гетерогенность эндотелия (обзор) // Артериальная гипертензия. – 2017. – Т. 23, № 2. – С. 88–102. [Vasina LV, Vlasov TD, Petrišev NN. Funkcional'naja geterogennost' jendotelija (obzor). Arterial'naja gipertenzija. 2017;23(2):88–102. (In Russ.)]. Doi: doi.org/10.18705/1607-419X-2017-23-2-88-102.
3. 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. [Korzhevskij DJE., Kirik OV., Suhorukova EG., Alekseeva OS., SHajdakov EV. Faktor Villebranda jendotelioctov krovenosnyh sosudov i ego ispol'zovanie v immuno-

morfologicheskikh issledovanijahe. Medicinskij akademicheskij zhurnal. 2017;17(1):34–40. (In Russ.)].

4. 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. – Т. 17, № 2. – С. 80–85. [CHumasov EI, Petrova ES, Korzhevskij DJE. Strukturno-funkcional'naja harakteristika jendotelial'nyh kletok sosudov serdca novorozhdennoj krysy (immunogistohimicheskoe issledovanie). Regionarnoe krovoobrabovanie i mikroциркуляция. 2018;17(2):80–85. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-78-83.

5. 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, Apresjan AG, Dobkes AL, Ermolov SJU, Ermolova TV, Manasjan SG, Serdjukov SV. Rol' i metody ocenki jendotelial'noj disfunkcii v prakticheskoj medicene. Medicinskij akademicheskij zhurnal. 2017;17(1):7–23. (In Russ.)].

6. Петрищев Н. Н. Дисфункция эндотелия: патогенетическое значение и методы коррекции. – СПб.: СПб ИИЦ ВМА, 2007. – 269 с. [Petrišev NN. Disfunkcija jendotelija. Patogeneticheskoe znachenie i metody korrekcii. SPb., SPb IIC VMA, 2007:269. (In Russ.)].

7. Сухорукова Е. Г., Кирик О. В., Коржевский Д. Э. Выявление телец Вейбеля-Паладе при помощи иммуногистохимической реакции на фактор Виллебранда и конфокальной лазерной микроскопии // Морфология. – 2018. – Т. 153, № 1. – С. 71–75. [Suhorukova EG, Kirik OV, Korzhevskij DJE. Vyjavlenie telec Vejbelja-Palade pri pomowi immunocitohimicheskoy reakcii na faktor Villebranda i konfokal'noj lazernoj mikroskopii. Morfologija. 2018;153(1):71–75. (In Russ.)].

8. Шайдаков Е. В., Евлахов В. И. Роль эндотелия в патогенезе хронической постэмболической легочной гипертензии // Ангиол. и сосуд. хир. – 2016. – Т. 22, № 1. – С. 22–27. [SHajdakov EV, Evlahov VI. Rol' jendotelija v patogeneze hronicheskoy postjemboli cheskoj ljogochnoj gipertenzii. Angiologija i sosudistaja hirurgija. 2016;22(1):22–27. (In Russ.)].

9. Babich V, Knipe L, Hewlett L, Meli A, Dempster J, Hannah MJ, Carter T. 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. Michaux G, Cutler DF. How to roll endothelial cigar: the biogenesis of Weibel-Palade bodies. Traffic. 2004;5(2):69–78.

11. 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.

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

13. Weibel ER, Palade GE. New cytoplasmic components in arterial endothelia. J. Cell Biol. 1964;(23):101–112.

14. 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. – 119 с. [Korzhevskij DJE, Kirik OV, Petrova ES, Karpenko MN, Grigor'ev IP, Suhorukova EG, Kolos EA, Giljarov AV. Teoreticheskie osnovy i prakticheskoe primenenie metodov immunogistohimii / pod red D. Je. Korzhevskogo. 2-e izdanie, ispravlennoe i dopolnennoe. SPb., 2014:119. (In Russ.)].

15. Nightingale N, Cutler D. The secretion von Willebrand factor from endothelial cells; an increasingly complicated

story. *J. Thromb. Haemost.* 2013;11(1):192–201. Doi: doi:10.1111/jth.12225.

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. Weibel ER. Fifty years of Weibel–Palade bodies: the discovery and early history of an enigmatic organelle of endothelial cells. *J. Thromb. Haemost.* 2012;10:979–984. Doi: doi:10.1111/j.1538-7836.2012.04718.x.

18. Huang RH, Wang Y, Roth R, Yu X, Purvis AR, Heuser JE, Egelman EH, Sadler JE. 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: doi:10.1073/pnas.0710079105.

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

20. 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.

21. Kumar RA, Moake JL, Nolasco L, Bergeron AL, Sun C, Dong JF, McIntire LV. Enhanced platelet adhesion and aggregation by endothelial cell-derived unusually large multimers of von Willebrand factor. *Biorheology. Biorheology.* 2006;43(5):681–691.

Информация об авторах

Чумасов Евгений Иванович – д-р биол. наук, профессор, старший научный сотрудник Лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», профессор кафедры биоло-

гии, экологии и гистологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

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

Коржевский Дмитрий Эдуардович – д-р мед. наук, профессор РАН, зав. Лабораторией функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, e-mail: iemmorphol@yandex.ru.

Authors information

Chumasov Evgeny Ivanovich – professor, senior researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special morphology. Federal State Budgetary Scientific Institution «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 Sergeevna – PhD, senior researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special morphology, Federal State Budgetary Scientific Institution «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, Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of Experimental Medicine», St. Petersburg, e-mail: iemmorphol@yandex.ru.