

УДК 616-092+616.8-092+616-005.6

Исследование электронно-микроскопических эквивалентов секреторной активности эндотелия сосудов неокортекса сирийских хомяков в динамике инфекции SARS-CoV-2

Чепур С.В.¹, Парамонова Н.М.^{1,2}, Тюнин М.А.¹, Пугач В.А.¹,
Плужников Н.Н.¹, Ильинский Н.С.¹, Мясникова И.А.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации.

195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова» Российской академии наук.

194223, Санкт-Петербург, проспект Тореза, д. 44

Актуальность. Ведущую роль в патогенезе коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2 (COVID-19), играют гиперкоагуляционные сдвиги в системе гемостаза, изменение функционального состояния эндотелия и системная дисфункция микроциркуляции. Принимая во внимание риск цереброваскулярных осложнений COVID-19 в острый период, а также при постковидном синдроме, особую важность приобретают исследования ультраструктурных изменений сосудов головного мозга для расширения знаний о патогенезе COVID-19-ассоциированной эндотелиопатии и разработки подходов к её фармакологической коррекции. Морфологическим эквивалентом изучения секреторной активности эндотелия сосудов может выступать кинетика структуры телец Вейбеля-Паладе, уникальных для эндотелиоцитов органелл, экзоцитоз которых определяет условия тромбообразования.

Цель – электронно-микроскопическое исследование кинетики структуры телец Вейбеля-Паладе в эндотелии сосудов неокортекса сирийских хомяков в динамике инфекции SARS-CoV-2.

Материалы и методы. Экспериментальную модель воспроизводили посредством интраназального введения сирийским хомякам культуры вируса, содержащей SARS-CoV-2 в количестве 4×10^4 ТЦД₅₀/мл. На 3-и, 7-е, 14-е и 28-е сутки после заражения выполняли эвтаназию животных с последующим отбором образцов ткани неокортекса. Исследование материала проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии.

Результаты. Прослежена кинетика накопления и высвобождения секрета телец Вейбеля-Паладе в эндотелии сосудов неокортекса сирийских хомяков на экспериментальной модели SARS-CoV-2 инфекции. Выявлено увеличение секреторной активности эндотелиоцитов сосудов неокортекса у животных в период 3-7 суток после заражения в виде экзоцитоза телец Вейбеля-Паладе. Выявленные ультраструктурные изменения эндотелия у экспериментальных животных прослежены до 28 суток инфекционного процесса.

Заключение. Результаты электронно-микроскопического исследования секреторной активности эндотелия сосудов неокортекса сирийских хомяков в динамике инфекции SARS-CoV-2 позволили определить риски сосудистых катастроф как в остром, так и в реконвалесцентном (28 суток) периоде заболевания. Полученные результаты значимы для расширения знаний о патогенезе эндотелиальной дисфункции, определяющей вероятность цереброваскулярных осложнений в критические периоды COVID-19, что представляет особую важность при проведении исследований, направленных на разработку и изучение новых средств терапии данной патологии.

Ключевые слова: SARS-CoV-2; сирийские хомяки; неокортекс; эндотелий; P-селектин; тельца Вейбеля-Паладе; эндотелиальная дисфункция; тромбоз; фактор фон Виллебранда.

Для цитирования: Чепур С.В., Парамонова Н.М., Тюнин М.А., Пугач В.А., Плужников Н.Н., Ильинский Н.С., Мясникова И.А. Исследование электронно-микроскопических эквивалентов секреторной активности эндотелия сосудов неокортекса сирийских хомяков в динамике инфекции SARS-CoV-2. Патогенез. 2024; 22(1): 23-30

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.01.23-30

Для корреспонденции: Пугач Виктория Александровна, e-mail: gniiivm_7@mil.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 22.12.2023.

Investigation of electron microscopic equivalents of the neocortex vessels endothelium secretory activity of Syrian hamsters in the dynamics of SARS-CoV-2 infection

Чепур С.В.¹, Paramonova N.M.^{1,2}, Tyunin M.A.¹, Pugach V.A.¹,
Pluzhnikov N.N.¹, Ilijinskiy N.S.¹, Myasnikova I.A.¹

¹ State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine,
Lesoparkovaya Str. 4, St. Petersburg 195043, Russian Federation

² I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences,
Prospekt Toreza 44, St. Petersburg 194223, Russian Federation

Background. Hypercoagulation, changes in the functional state of endothelium and systemic microcirculation dysfunction play a leading role in the pathogenesis of coronavirus infection caused by SARS-CoV-2 (COVID-19). Taking into account the risk of cerebrovascular complications of COVID-19 in the acute period, as well as in post-COVID-19 syndrome, studies of ultrastructural

changes in cerebral vessels are of particular importance for expanding knowledge about the pathogenesis of COVID-19-associated endothelial pathology and developing approaches to its pharmacological correction. The morphological equivalent of studying the vascular endothelium secretory activity can be the structural kinetics of Weibel-Palade bodies, organelles unique to endotheliocytes, the exocytosis of which determines the conditions of thrombosis.

The aim is to electron microscopic study the kinetics of Weibel-Palade body's structure in the endothelium of the neocortex vessels of Syrian hamsters in the dynamics of SARS-CoV-2 infection.

Materials and methods. The experimental model was reproduced by intranasal administration to Syrian hamsters of a virus culture containing SARS-CoV-2 in an amount of 4×10^4 TCD₅₀/ml. On days 3, 7, 14 and 28 after infection animals were euthanized with subsequent selection of neocortex tissue. The study of the material was carried out by transmission electron microscopy.

Results. The kinetics of accumulation and release of the secretion of Weibel-Palade bodies in the endothelium of the neocortex vessels of Syrian hamsters on an experimental model of SARS-CoV-2 infection was traced. It was found that secretory activity of neocortical vascular endotheliocytes in animals increases in the period 3–7 days after infection in the form of exocytosis of Weibel-Palade bodies. The revealed ultrastructural changes of the endothelium in experimental animals persist up to 28 days of the infectious process.

Conclusion. The results of electron microscopic examination of the neocortex vessels endothelium secretory activity of Syrian hamsters in the dynamics of SARS-CoV-2 infection allowed us to determine the risks of vascular catastrophes both in the acute and convalescent (28 days) periods of disease. The results obtained are significant for expanding knowledge about the pathogenesis of endothelial dysfunction, which determines the likelihood of cerebrovascular complications during critical periods of COVID-19, which is of particular importance when conducting research aimed at developing and studying new therapies for this pathology.

Keywords: SARS-CoV-2 infection; Syrian hamsters; neocortex; endothelium; Weibel-Palade bodies; endothelial dysfunction; thrombosis; von Willebrand factor; P-selectin.

For citation: Chepur S.V., Paramonova N.M., Tyunin M.A., Pugach V.A., Pluzhnikov N.N., Iljinskiy N.S., Myasnikova I.A. [Investigation of electron microscopic equivalents of secretory activity of the neocortical vascular endothelium of Syrian hamsters in the dynamics of SARS-CoV-2 infection]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2024; 22(1): 23-30. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.01.23-30

For correspondence: Pugach Victoria Aleksandrovna, e-mail: gniiivm_7@mil.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 22.12.2023.

Введение

Исследование патогенеза коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, во многом проливает свет на риски критических процессов и осложнений, определяющих клинические проявления этого острого пандемически значимого заболевания. К числу осложнений инфекции, требующих раннего назначения противосвёртывающих препаратов, закономерно относят тромботические процессы, которые в критических органах (сердце, головной мозг) при отсутствии достаточного коллатерального кровообращения могут стать причиной смертельных исходов [1]. Результаты многочисленных работ свидетельствуют о том, что ведущее патогенетическое значение в тяжелом течении COVID-19 играют гиперкоагуляционные сдвиги в системе гемостаза, изменение функционального состояния эндотелия и системная дисфункция микроциркуляции [2, 3]. Несмотря на большой интерес в этой области, механизмы активации и повреждения эндотелия при коронавирусной инфекции до сих пор не изучены. Известные данные экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о возможности как прямого повреждения эндотелия вирусом (через взаимодействие с ангиотензин-превращающим ферментом 2-го типа, нейропилином-1 и др.), так и опосредованного – вследствие синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) [4]. Следует отметить, что системная дисфункция эндотелия и микроциркуляции лежит в основе формирования постковидного синдрома, основные последствия которого связаны с высоким риском долгосрочных тромбо-

тических осложнений, вызывающих ишемическое повреждение миокарда и головного мозга [2, 5].

Метаболическая активность эндотелия в норме и при патологии во многом зависит от функционального состояния особых органелл эндотелиоцитов – теллец Вейбеля-Паладе (ТВП), представляющих депо различных веществ, в том числе фактора фон Виллебранда, Р-селектина, эндотелина-1, интерлейкинов (ИЛ-8), ангиопоэтина-2, остеопротегерина, тканевого активатора плазминогена и др. [6]. Процессы накопления перечисленных факторов компартиментализованы в разных фракциях гранул ТВП, а их высвобождение при активации эндотелия опосредовано разными эффекторами, что может говорить о дифференцированном ответе эндотелиоцитов на воздействие различных стимулов [7]. Более 95% содержимого гранул ТВП составляют фактор фон Виллебранда, его пропептид и Р-селектин, играющие важнейшую роль в реализации механизмов гемостаза и воспаления.

На сегодняшний день опубликован ряд работ, подчеркивающих важную роль функциональной активности ТВП в патогенезе эндотелиопатии и гиперкоагуляционного статуса при COVID-19. В клинических исследованиях показано, что повышенные уровни фактора фон Виллебранда, Р-селектина, остеопротегерина и ангиопоэтина-2 (как компонентов секрета ТВП) коррелируют с тяжестью течения и неблагоприятным прогнозом COVID-19 [8]. Наряду с этим, авторы делают акцент на возможности фармакологической коррекции, ограни-

чивающей патологически значимое высвобождение указанных факторов из ТВП с целью предупреждения формирования тромботических осложнений и ССВО [9].

Следует отметить, содержание компонентов ТВП в крови только косвенно отражает функциональное состояние этих органелл, при этом в настоящее время отсутствуют морфологические характеристики ТВП, которые подтверждали бы изменения секреторной активности эндотелия в динамике SARS-CoV-2 инфекции. Принимая во внимание риск цереброваскулярных осложнений COVID-19 в острый период, а также при постковидном синдроме, особую важность приобретают исследования ультраструктурных изменений сосудов головного мозга для расширения знаний о патогенезе эндотелиальной дисфункции и разработки подходов к её фармакологической коррекции.

Цель работы – электронно-микроскопическое исследование кинетики структуры ТВП в эндотелии сосудов неокортекса сирийских хомяков в динамике инфекции SARS-CoV-2.

Материалы и методы исследования

Экспериментальное исследование выполнено на 30 самцах сирийских хомяков в возрасте 4–6 недель, массой тела 80–100 г (питомник ЗАО «НПО «Дом фармации», Ленинградская область). Животные были разделены на 5 групп по 6 особей в каждой: контрольная группа и 4 экспериментальные группы. Сирийских хомяков содержали в условиях вивария с соблюдением основных зооигиенических норм и правил. Исследования проводили в соответствии с требованиями приказа Минздрава России от 01.04.2016 г. №199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Экспериментальная работа одобрена биоэтической комиссией ГНИИИ ВМ МО РФ (протокол № 21 от 23.11.2020 г.).

Экспериментальную модель инфекции воспроизводили посредством интраназального (и/н) введения каждому животному 26 мкл культуры вируса, содержащей SARS-CoV-2 в количестве 4×10^4 ТЦД₅₀/мл [10]. Культуру вируса SARS-CoV-2 выделяли из ПЦР-позитивного материала, полученного от больных COVID-19, и накапливали на культуре клеток почки африканской зеленой марышки (*Chlorocebus sabaues*) Vero (B) («Биолот», Россия), согласно ранее описанным в литературе методикам [11]. На этой же клеточной линии определяли тканевую цитопатическую дозу вируса (ТЦД₅₀/мл) по методу Рида и Менча. Перед заражением хомяков наркотизировали раствором «Золетил 100» в дозе 40 мг/кг внутривентриально. В контрольной группе животным и/н вводили культуральную жидкость, которая не содержала вирус, в аналогичном объёме.

В экспериментальных группах хомяков подвергали эвтаназии посредством передозировки растворов общих анестетиков (растворы препарата «Ксила» (20 мг/мл) и «Золетил 100» (50 мг/мл) в соотношении 1:1

в объёме 1 мл на 1 кг массы тела внутримышечно) на 3-и, 7-е, 14-е и 28-е сутки. После введения анестетиков, обескровливания путем вскрытия брюшной полости и пересечения каудальной полой вены, у животных отбирали материал для исследований.

Для электронно-микроскопического исследования извлеченный мозг рассекали на фронтальные срезы толщиной в 1,0–1,5 мм и префиксировали в охлажденной до 4°C смеси 4% параформальдегида и 0,5% глутарового альдегида, разведенной 0,1 М какодилатным буфером (рН 7,2–7,4). Выделенные фрагменты неокортекса сенсомоторного отдела коры через 1,5–2,0 часа дофиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия (все реактивы – «Sigma-Aldrich», США). Обезжизнили материал в растворах этилового спирта восходящей концентрации и абсолютного ацетона. В процессе дегидратации ткань контрастировали 3,5% раствором уранилацетата в 70% этаноле. Пропитку и заливку смесью аралдитов («Fluka», Швейцария) с ориентацией образцов выполняли под лупой. Полимеризацию проводили в термостате при 37°C и 60°C в течение 3 сут [12]. Ультратонкие срезы (50–60 нм) готовили на ультратоме LKB-III («LKB», Швеция). Регистрацию изменений структуры тканей и их фотофиксацию осуществляли на электронном микроскопе FEI Tecnai G2 Spiti BioTWIN («FEI Company», Нидерланды) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

В ходе исследования было проанализировано около 3000 электронограмм. Электронный микроскоп был предоставлен Центром коллективного пользования федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова» Российской академии наук. Сравнение полученных изображений экспериментальных животных проводили с аналогичными изображениями животных контрольной группы.

Результаты исследования

У животных контрольной группы, а также у животных на фоне экспериментальной SARS-CoV-2 инфекции, в эндотелиоцитах микрососудов головного мозга по характерной структуре выявляли ТВП. На продольных и поперечных срезах этих органелл видно, что они представлены плотно упакованными трубочками (выраженная продольная исчерченность), образованными мультимерами фактора фон Виллебранда. По сравнению с контрольной группой у зараженных животных степень насыщения ТВП тубулярным секретом и размеры телец к 3-м суткам инфекционного процесса были выше, что может быть признаком предрасположенности эндотелия к тромбообразованию (**рис. 1**).

К 7-м суткам течения инфекции прослежены феномены, свидетельствующие о частичной потере ТВП накопленного секрета, вероятно вследствие его экзоцитоза. Отмечено, что крупные ТВП в значительной степени

сохраняли своё содержимое, тогда как более мелкие образования были в большей части опустошены (рис. 2). Этот временной диапазон с учётом созданной модели соответствовал максимуму воспалительных изменений в лёгких и формированию вирусных «фабрик» в нейронах, олигодендроцитах и энделиоцитах головного мозга, что показано в наших предыдущих исследованиях [13, 14]. С учётом приведенных обстоятельств экзоцитоз секрета ТВП соответствует представлениям об их роли в формировании локальной и системной воспалительной реакции, повышению риска тромботических осложнений, обуславливающих ишемические изменения в головном мозге.

На 14-е сутки после заражения сирийских хомяков SARS-CoV-2 в эндотелиоцитах капилляров головного мозга прослеживали накопление секрета в ТВП (рис. 3). При этом обращали внимание на неравномерность размеров тубул, отчетливо наблюдаемую как на поперечных, так и на продольных срезах ТВП. Изменение регулярности структуры тубул может свидетельствовать об изменении функциональных свойств секрета при его накоплении, что требует отдельных исследований.

В более поздние сроки экспериментальной SARS-CoV-2 инфекции (на 28-е сутки исследования) в эндо-

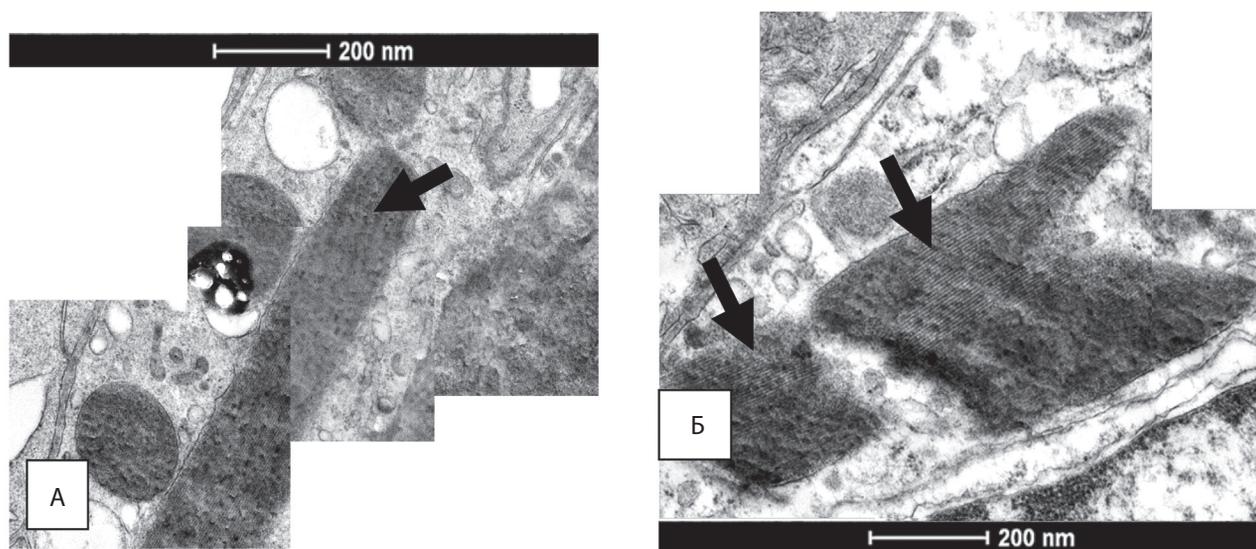


Рис. 1. Наполненные белковым секретом тельца Вейбеля-Паладе (стрелки) в неизмененных эндотелиоцитах капилляра головного мозга контрольных сирийских хомяков (А), а также в отечных эндотелиоцитах через 3 суток после заражения экспериментальных животных SARS-CoV-2 (4×10^4 ТЦД₅₀/мл) (Б). Монтажи электронограмм. Увеличение $\times 60000$.

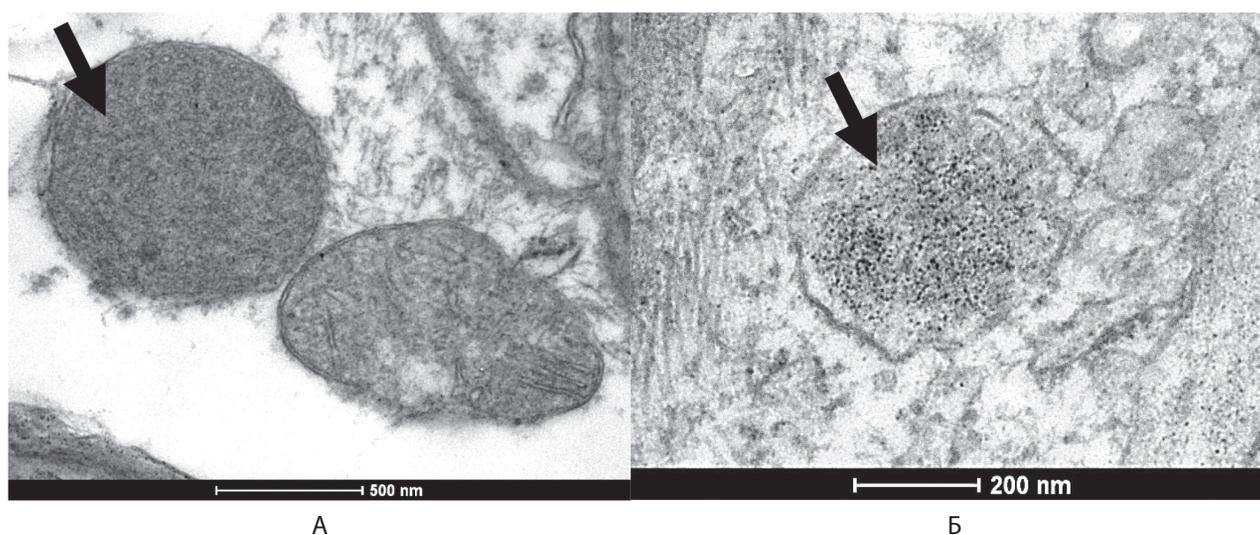


Рис. 2. Полиморфизм вариантов экзоцитоза телец Вейбеля-Паладе (стрелки) в эндотелиоцитах капилляров коры головного мозга сирийского хомяка через 7 суток после заражения SARS-CoV-2 (4×10^4 ТЦД₅₀/мл). Крупные образования (А) сохраняют значительное насыщение секретом, тогда как в мелких структурах (Б) выявляли выраженную дегрануляцию. Электронограммы поперечных срезов телец Вейбеля-Паладе. Увеличения: А – $\times 43000$, Б – $\times 60000$.

тели сосудов неокортекса сирийских хомяков вновь прослежены процессы экзоцитоза ТВП (рис. 4).

Ранее показано, что после 14 суток инфекционного процесса у сирийских хомяков происходит снижение выраженности воспалительных процессов в лёгких и прекращение репликации вируса SARS-CoV-2 в лёгочной паренхиме, тогда как в нейронах неокортекса животных персистирование вируса установлено вплоть до 28 суток эксперимента [13, 14].

Выявленные изменения кинетики структуры телец Вейбеля-Паладе в эндотелии сосудов неокортекса сирийских хомяков в динамике инфекции SARS-CoV-2 в период с 14 по 28 сутки эксперимента могут свидетельствовать о сохраняющемся риске формирования тромботических осложнений в реконвалесцентном периоде. Описанные особенности секреторной активно-

сти эндотелия были характерны только для животных экспериментальной группы и не прослеживались у животных контрольной группы.

Обсуждение

В патогенезе COVID-19 ведущую роль играет активация и повреждение эндотелия сосудов, выражающиеся в развитии эндотелиопатии и гиперкоагуляционного статуса. Известно, что секреторная активность эндотелия во многом зависит от функционального состояния ТВП – уникальных органелл эндотелиоцитов, в гранулах которых компартиментализованы различные биологически активные вещества, принимающие участие в механизмах тромбообразования и воспаления [6]. При этом результаты ряда исследований сви-

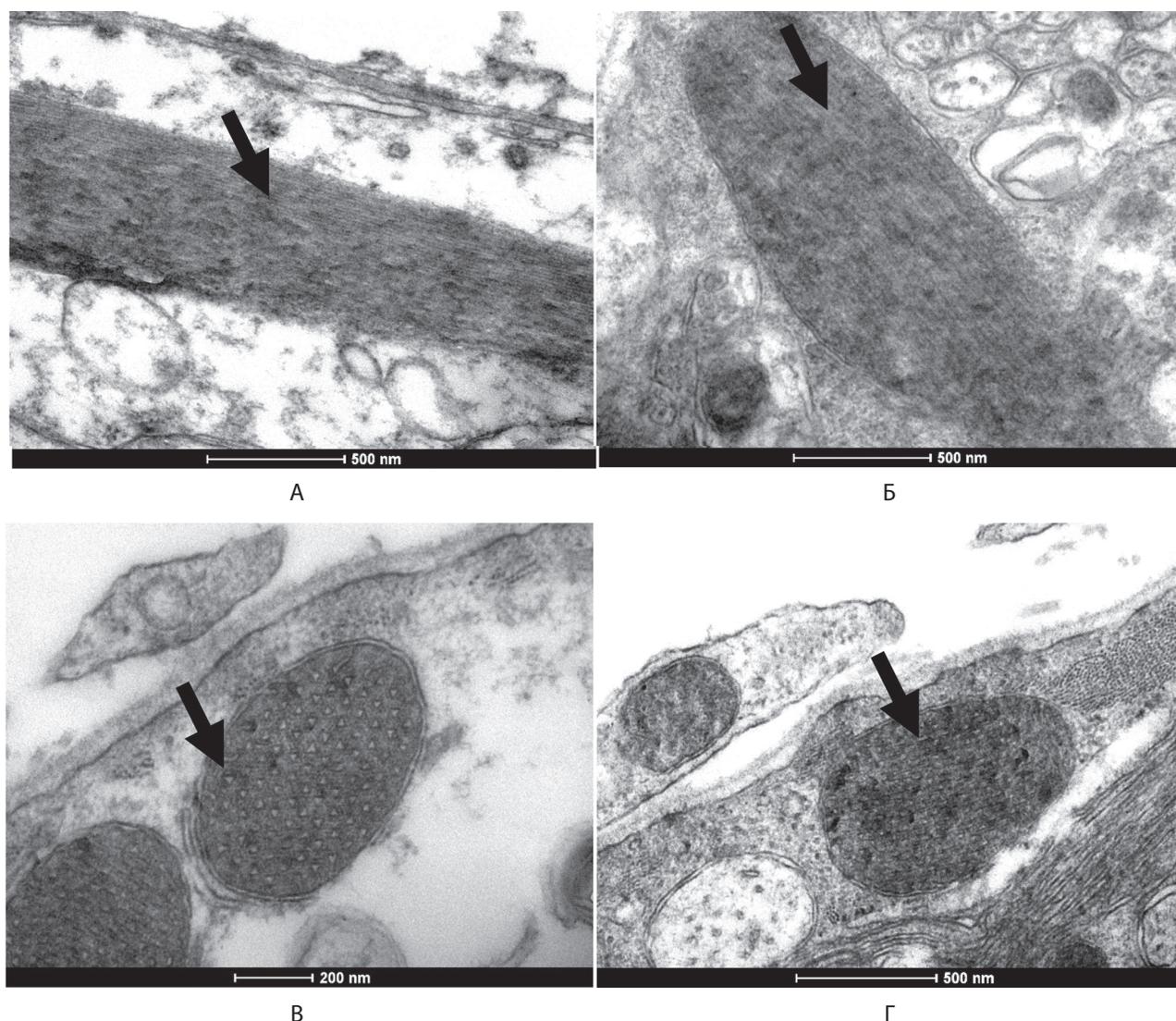


Рис. 3. Крупноглобчатые накопления секрета в тельцах Вейбеля-Паладе (стрелки) в эндотелиоцитах капилляра головного мозга сирийского хомяка через 14 суток после заражения SARS-CoV-2 (4×10^4 ТЦД₅₀/мл). А, Б – электронограммы продольных срезов телец Вейбеля-Паладе, В – электронограмма поперечного и Г – тангенциального срезов телец Вейбеля-Паладе. Увеличения: А – $\times 43000$, Б – $\times 43000$, В – $\times 60000$, Г – $\times 43000$.

детельствуют о том, что ТВП могут быть использованы в качестве мишеней для купирования избыточной активации эндотелия и предотвращения секреции факторов, обладающих тромбогенным потенциалом [9]. Показано, что использование пептида ITF1697 (икрокаптин) в экспериментальных моделях септического шока и различных кардиоваскулярных патологий оказывало эндотелиопротективное действие, которое обуславливало коррекцию нарушений гемостатической и адгезионной функции эндотелия. Выявленные положительные терапевтические эффекты были связаны с торможением высвобождения фактора фон Виллебранда и Р-селектина из активированных ТВП [15, 16]. Результаты недавних исследований позволили расширить возможности таргетного воздействия на секреторную активность ТВП, что стало возможным с открытием специфических белков (в т.ч. HPS6), регулирующих процессы образования и созревания этих органелл [17]. Таким образом, исследование кинетики структуры ТВП, а также целенаправленное воздействие на процессы их экзоцитоза, представляет собой перспективный подход для определения степени выраженности эндотелиальной дисфункции при различных формах патологий с целью предотвращения риска развития тромботических осложнений.

В связи с растущей актуальностью в настоящей работе показана кинетика накопления и высвобождения секрета ТВП в эндотелии сосудов неокортекса сирийских хомяков на фоне заражения вирусом SARS-CoV-2. Определено, что период с 3-х по 7-е сутки инфекционного процесса секреторная активность эндотелиоцитов возрастает, сопровождаясь впоследствии экзоцитозом ТВП, и, следовательно, повышением риска тромбоза сосудов головного мозга. Схожие ультраструктурные характеристики ТВП эндотелиоцитов неокортекса экс-

периментальных животных были зарегистрированы и в более поздние сроки исследования, т.е. к 28-м суткам инфекционного процесса. Результаты предыдущих исследований позволяют предположить, что выявленные изменения секреторной активности эндотелия в неокортексе сирийских хомяков могут быть сопряжены с усилением репродукции вируса с интенсификацией формирования вирусных «фабрик» в нейронах, глиоцитах и эндимиоцитах в указанные сроки [14]. Механизм стимуляции секреторной активности эндотелиоцитов сосудов головного мозга при действии вируса SARS-CoV-2 может быть опосредован белками семейства ГТФаз (в т.ч. Rab-белками). Интересно отметить, что некоторые представители указанного семейства принимают активное участие в процессах проникновения вируса в клетки и транспортировке вирусных частиц во внутренних компартментах. Наряду с этим, активация белков семейства Rab при инфицировании эндотелиоцитов может одновременно запускать механизмы созревания и экзоцитоза ТВП, что затем, вероятнее всего, сопряжено с высвобождением протромбогенных факторов [18, 19].

Результаты проведенного исследования значимы для определения критических периодов, сопровождающихся риском ранних и отсроченных тромботических осложнений в динамике экспериментальной коронавирусной инфекции, а выявленные изменения кинетики структуры ТВП актуальны для изучения механизмов, лежащих в основе формирования эндотелиальной дисфункции как в экспериментальном, так и в клиническом аспекте этой патологии. Полученные данные соответствуют результатам клинических исследований, свидетельствующими об увеличении риска ишемического инсульта в течение 1–4 недель после выздоровления пациентов с COVID-19 [20].

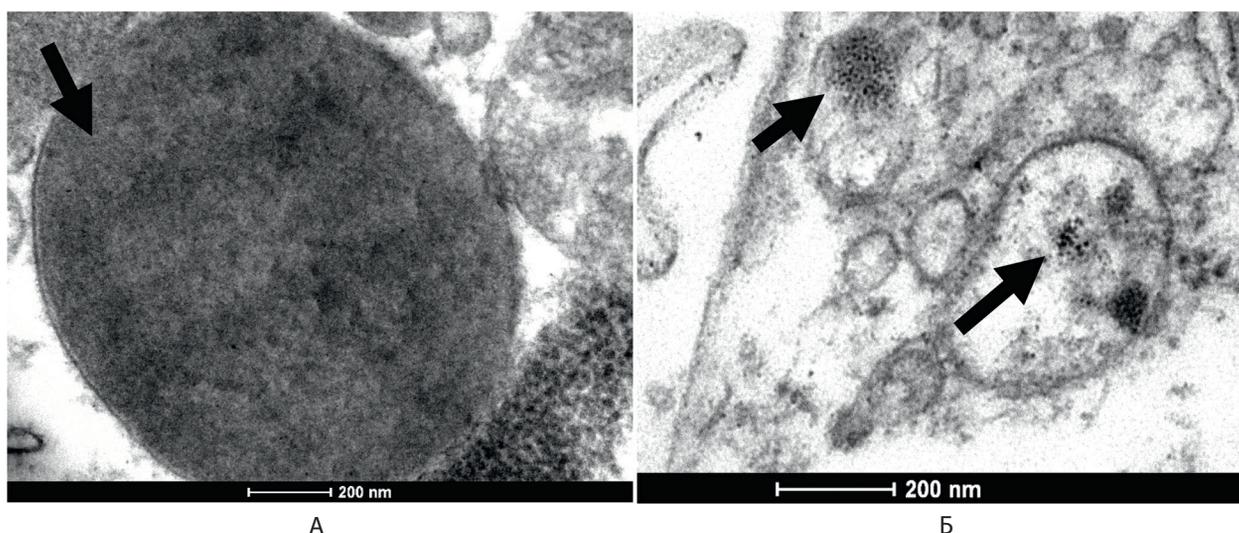


Рис. 4. Тельца Вейбеля-Паладе (стрелки) в эндотелиоцитах капилляров коры головного мозга сирийского хомяка на 28 сут после заражения SARS-CoV-2 (4×10^4 ТЦД₅₀/мл). А – тельца Вейбеля-Паладе, заполненные секретом; Б – экзоцитоз телец Вейбеля-Паладе. Увеличения: А – $\times 60000$, Б – $\times 60000$.

Заключение

Анализ механизмов тромбообразования при COVID-19 и, в частности, тромбоза сосудов головного мозга в острый период заболевания, а также при постковидном синдроме, обусловил интерес к изучению секреторной активности эндотелия микрососудов, морфологическим эквивалентом которой можно принять кинетику структуры ТВП, определяющую условия гиперкоагуляционных изменений. На экспериментальной модели COVID-19 прослежена динамика накопления и экзоцитоза секрета ТВП в эндотелиоцитах сосудов головного мозга, что позволяет выявить риски тромбообразования как в остром периоде заболевания, так и в реконвалесцентном периоде (28 суток) в случае стимулированного экзоцитоза ТВП. Полученные результаты значимы для расширения знаний о патогенезе эндотелиальной дисфункции, определяющей вероятность цереброваскулярных осложнений в критические периоды COVID-19, что представляет особую важность при проведении исследований, направленных на разработку и изучение новых средств терапии данной патологии.

Список литературы

1. Халирахманов А.Ф., Идрисова К.Ф., Гайфуллина Р.Ф., Зинченко С.В., Литвинов Р.И., Шарафеев А.З., Киясов А.П., Ризванов А.А. Патогенез, диагностика и лечение гемостатических нарушений у пациентов с COVID-19. *Acta Naturae*. 2021; 13(2): 79–84. DOI: 10.32607/actanaturae.11182
2. Charfeddine S., Ibn Hadj Amor H., Jdidi J., Torjmen S., Kraiem S., Hammami R., Bahloul A., Kallel N., Moussa N., Touil I., Ghrab A., Elghoul J., Meddeb Z., Thabet Y., Kammoun S., Bouslama K., Milouchi S., Abdessalem S., Abid L. Long COVID 19 Syndrome: Is It Related to Microcirculation and Endothelial Dysfunction? Insights From TUN-EndCOV Study. *Front. Cardiovasc. Med*. 2021; 8: 745758. DOI:10.3389/fcvm.2021.745758
3. Otfi H.M., Adiga B.K. Endothelial Dysfunction in Covid-19 Infection. *Am. J. Med. Sci.* 2022; 363(4): 281–287. DOI: 10.1016/j.amjms.2021.12.010
4. Giordo R., Paliogiannis P., Mangoni A.A., Pintus G. SARS-CoV-2 and endothelial cell interaction in COVID-19: molecular perspectives. *Vasc. Biol.* 2021; 3(1): R15–R23. DOI:10.1530/VB-20-0017
5. Ройтман Е.В. Восстановление функции эндотелия при новой коронавирусной инфекции COVID-19 (обзор литературы). *Медицинский совет*. 2021; (14): 78–86. DOI: 10.21518/2079-701X-2021-14-78-86
6. Авдонин П.П., Цветаева Н.В., Гончаров Н.В., Рыбакова Е.Ю., Труфанов С.К., Цитрина А.А., Авдонин П.В. Фактор Виллебранда в норме и при патологии. *Биологические мембраны*. 2021; 38(4): 237–256. DOI 10.31857/S0233475521040034
7. Nightingale T.D., McCormack J.J., Grimes W., Robinson C., Lopes da Silva M., White I.J., Vaughan A., Cramer L.P., Cutler, D.F. Tuning the endothelial response: differential release of exocytic cargos from Weibel-Palade bodies. *J. Thromb. Haemost.* 2018; 16(9): 1873–1886. DOI:10.1111/jth.14218
8. Karampini E., Fogarty H., Elliott S., Morrin H., Bergin C., O'Sullivan J.M., Byrne M., Martin-Loeches I., Mallon P.W., Curley G.F., Glavey S., Baker R.I., Lavin M., Preston R.J.S., Cheallagh C.N., Ward S.E., O'Donnell J.S. Endothelial cell activation, Weibel-Palade body secretion, and enhanced angiogenesis in severe COVID-19. *Res. Pract. Thromb Haemost.* 2023; 7(2): 100085. DOI: 10.1016/j.rpth.2023.100085
9. Vassiliou A.G., Vrettou C.S., Keskinidou C., Dimopoulou I., Kotanidou A., Orfanos S.E. Endotheliopathy in Acute COVID-19 and Long COVID. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(9): 8237. DOI: 10.3390/ijms24098237
10. Макаренко И.Е., Авдеева О.И., Ванатиев Г.В., Рыбакова А.В., Ходько С.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Возможные пути и

объемы введения лекарственных средств лабораторным животным. *Международный вестник ветеринарии*. 2013; 3: 72–78.

11. Yao P., Zhang Y., Sun Y., Gu Y., Xu F., Su B., Chen C., Lu H., Wang D., Yang Z., Niu B., Chen J., Xie L., Chen L., Zhang Y., Wang H., Zhao Y., Guo Y., Ruan J., Zhu Z., Zhu H. Isolation and Growth Characteristics of SARS-CoV-2 in Vero Cell. *Viol. Sin.* 2020; 35(3): 348–350. DOI:10.1007/s12250-020-00241-2
12. Гайер Г. *Электронная гистохимия*. М.: Мир, 1974. 488 с.
13. Чепур С.В., Алексеева И.И., Владимировна О.О., Мясников В.А., Тюнин М.А., Ильинский Н.С., Никишин А.С., Шевченко В.А., Смирнова А.В. Особенности патологии дыхательной системы у сирийских хомяков (*Mesocricetus auratus*) при инфекции вирусом SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus). *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(6): 442–451. DOI: 10.36233/0507-4088-63
14. Парамонова Н.М., Чепур С.В., Первак М.О., Мясников В.А., Тюнин М.А., Ильинский Н.С., Каневский Б.А., Смирнова А.В. Электронно-микроскопическое исследование неокортекса сирийских хомяков (*Mesocricetus auratus*) при инфекции вируса SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus). *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(5): 403–413. DOI: 10.36233/0507-4088-130
15. Yasuda K., Vasko R., Hayek P., Ratliff B., Bicer H., Mares J., Maruyama S., Bertuglia S., Mascagni P., Goligorsky M.S. Functional consequences of inhibiting exocytosis of Weibel-Palade bodies in acute renal ischemia. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2012; 302(6): F713–F721. DOI:10.1152/ajprenal.00541.2011
16. Bertuglia S., Ichimura H., Fossati G., Parthasarathi K., Leoni F., Modena D., Cremonesi P., Bhattacharya J., Mascagni P. ITF1697, a stable Lys-Pro-containing peptide, inhibits weibel-palade body exocytosis induced by ischemia/reperfusion and pressure elevation. *Mol. Med.* 2007; 13(11-12): 615–624. DOI: 10.2119/2007-00079
17. Lu J., Ma J., Hao Z., Li W. HPS6 Regulates the Biogenesis of Weibel-Palade Body in Endothelial Cells Through Trafficking v-ATPase to Its Limiting Membrane. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2022; 9: 743124. DOI: 10.3389/fcell.2021.743124
18. Naß J., Terglane J., Gerke V. Weibel Palade Bodies: Unique Secretory Organelles of Endothelial Cells that Control Blood Vessel Homeostasis. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2021; 9: 813995. DOI: 10.3389/fcell.2021.813995
19. Babaei G., Zare N., Mihanfar A., Ansari M.H.K. Exosomes and COVID-19: challenges and opportunities. *Comp. Clin. Path.* 2022; 31(2): 347–354. DOI: 10.1007/s00580-021-03311-3
20. Katsoularis I., Fonseca-Rodríguez O., Farrington P., Lindmark K., Fors Connolly A.M. Risk of acute myocardial infarction and ischaemic stroke following COVID-19 in Sweden: a self-controlled case series and matched cohort study. *Lancet.* 2021; 398(10300): 599–607. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00896-5

References

1. Khalirakhmanov A.F., Idrisova K.F., Gajfullina R.F., Zinchenko S.V., Litvinov R.I., Sharafiev A.Z., Kiyasov A.P., Rizvanov A.A. [Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment of Hemostatic Disorders in COVID-19 Patients]. *Acta Naturae*. 2021; 13(2): 79–84. DOI: 10.32607/actanaturae.11182 (in Russian)
2. Charfeddine S., Ibn Hadj Amor H., Jdidi J., Torjmen S., Kraiem S., Hammami R., Bahloul A., Kallel N., Moussa N., Touil I., Ghrab A., Elghoul J., Meddeb Z., Thabet Y., Kammoun S., Bouslama K., Milouchi S., Abdessalem S., Abid L. Long COVID 19 Syndrome: Is It Related to Microcirculation and Endothelial Dysfunction? Insights From TUN-EndCOV Study. *Front. Cardiovasc. Med*. 2021; 8: 745758. DOI:10.3389/fcvm.2021.745758
3. Otfi H.M., Adiga B.K. Endothelial Dysfunction in Covid-19 Infection. *Am. J. Med. Sci.* 2022; 363(4): 281–287. DOI: 10.1016/j.amjms.2021.12.010
4. Giordo R., Paliogiannis P., Mangoni A.A., Pintus G. SARS-CoV-2 and endothelial cell interaction in COVID-19: molecular perspectives. *Vasc. Biol.* 2021; 3(1): R15–R23. DOI:10.1530/VB-20-0017
5. Roitman E.V. [The recovery of endothelial function in novel coronavirus infection COVID-19 (review)]. *Meditsinskiy sovet [Medical Council]*. 2021; (14): 78–86. DOI: 10.21518/2079-701X-2021-14-78-86 (in Russian)
6. Avdonin P.P., Cvetaeva N.V., Goncharov N.V., Rybakova E.Ju., Trufanov S.K., Citrina A.A., Avdonin P.V. [Von Willebrand factor in normal and pathological conditions]. *Biologicheskiye membrany [Biological Membranes]*. 2021; 38(4): 237–256. DOI 10.31857/S0233475521040034 (in Russian)

7. Nightingale T.D., McCormack J.J., Grimes W., Robinson C., Lopes da Silva M., White I.J., Vaughan A., Cramer L.P., Cutler, D.F. Tuning the endothelial response: differential release of exocytic cargos from Weibel-Palade bodies. *J. Thromb. Haemost.* 2018; 16(9): 1873–1886. DOI:10.1111/jth.14218
8. Karampini E., Fogarty H., Elliott S., Morrin H., Bergin C., O'Sullivan J.M., Byrne M., Martin-Loeches I., Mallon P.W., Curley G.F., Glavey S., Baker R.I., Lavin M., Preston R.J.S., Cheallagh C.N., Ward S.E., O'Donnell J.S. Endothelial cell activation, Weibel-Palade body secretion, and enhanced angiogenesis in severe COVID-19. *Res. Pract. Thromb Haemost.* 2023; 7(2): 100085. DOI: 10.1016/j.rpth.2023.100085
9. Vassiliou A.G., Vrettou C.S., Keskinidou C., Dimopoulou I., Kotanidou A., Orfanos S.E. Endotheliopathy in Acute COVID-19 and Long COVID. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(9): 8237. DOI: 10.3390/ijms24098237
10. Makarenko I.E., Avdeeva O.I., Vanatiev G.V., Rybakova A.V., Hod'ko S.V., Makarova M.N., Makarov V.G. [Possible ways and volume of administration of drugs to laboratory animals]. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii [International bulletin of Veterinary Medicine]*. 2013; 3: 72–78. (in Russian)
11. Yao P., Zhang Y., Sun Y., Gu Y., Xu F., Su B., Chen C., Lu H., Wang D., Yang Z., Niu B., Chen J., Xie L., Chen L., Zhang Y., Wang H., Zhao Y., Guo Y., Ruan J., Zhu Z., Zhu H. Isolation and Growth Characteristics of SARS-CoV-2 in Vero Cell. *Virol. Sin.* 2020; 35(3): 348–350. DOI:10.1007/s12250-020-00241-2
12. Gajer G. [*Elektronik gistology*]. Moscow: Mir, 1974. 488 p. (in Russian)
13. Chepur S.V., Alekseeva I.I., Vladimirova O.O., Myasnikov V.A., Tyunin M.A., Ilinskii N.S., Nikishin A.S., Shevchenko V.A., Smirnova A.V. [Specific features of the pathology of the respiratory system in SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus) infected Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*)]. *Voprosy virusologii [Problems of Virology]*. 2021; 66(6): 442–451. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-63> (in Russian)
14. Paramonova N.M., Chepur S.V., Pervak M.O., Myasnikov V.A., Tyunin M.A., Kanevskij B.A., Ilinskii N.S., Smirnova A.V. [An electron microscopic study of neocortex of Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*) infected with SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus)]. *Voprosy virusologii [Problems of Virology]*. 2022; 67(5): 395–402. DOI: 10.36233/0507-4088-130 (in Russian)
15. Yasuda K., Vasko R., Hayek P., Ratliff B., Bicer H., Mares J., Maruyama S., Bertuglia S., Mascagni P., Goligorsky M.S. Functional consequences of inhibiting exocytosis of Weibel-Palade bodies in acute renal ischemia. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2012; 302(6): F713–F721. DOI:10.1152/ajprenal.00541.2011
16. Bertuglia S., Ichimura H., Fossati G., Parthasarathi K., Leoni F., Modena D., Cremonesi P., Bhattacharya J., Mascagni P. ITF1697, a stable Lys-Pro-containing peptide, inhibits weibel-palade body exocytosis induced by ischemia/reperfusion and pressure elevation. *Mol. Med.* 2007; 13(11–12): 615–624. DOI: 10.2119/2007-00079
17. Lu J., Ma J., Hao Z., Li W. HPS6 Regulates the Biogenesis of Weibel-Palade Body in Endothelial Cells Through Trafficking v-ATPase to Its Limiting Membrane. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2022; 9: 743124. DOI: 10.3389/fcell.2021.743124
18. Naß J., Terglane J., Gerke V. Weibel Palade Bodies: Unique Secretory Organelles of Endothelial Cells that Control Blood Vessel Homeostasis. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2021; 9: 813995. DOI: 10.3389/fcell.2021.813995
19. Babaei G., Zare N., Mihanfar A., Ansari M.H.K. Exosomes and COVID-19: challenges and opportunities. *Comp. Clin. Path.* 2022; 31(2): 347–354. DOI: 10.1007/s00580-021-03311-3
20. Katsoularis I., Fonseca-Rodríguez O., Farrington P., Lindmark K., Fors Connolly A.M. Risk of acute myocardial infarction and ischaemic stroke following COVID-19 in Sweden: a self-controlled case series and matched cohort study. *Lancet.* 2021; 398(10300): 599–607. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00896-5

Сведения об авторах:

Чепур Сергей Викторович — доктор медицинских наук, профессор, начальник Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-5324-512X>

Парамонова Наталья Михайловна — старший научный сотрудник научно-исследовательского испытательного центра Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации; научный сотрудник лаборатории молекулярной эндокринологии и нейрхимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова» Российской академии наук; <https://orcid.org/0000-0001-5451-3555>

Тюнин Михаил Александрович — кандидат медицинских наук, заместитель начальника научно-исследовательского испытательного центра Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-6974-5583>

Пугач Виктория Александровна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательского испытательного центра Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0003-4290-350X>

Плужников Николай Николаевич — доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации; <https://orcid.org/0009-0001-5708-4327>

Ильинский Никита Сергеевич — кандидат медицинских наук, заместитель начальника отдела научно-исследовательского испытательного центра Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0001-7406-753X>

Мясникова Ирина Анатольевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательского испытательного центра Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0003-0100-8832>