



ФАКТОР ФОН ВИЛЛЕБРАНДА КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ СОСУДОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ДВИГАТЕЛЬНЫХ НАГРУЗКАХ

Безденежных А.В., Гришина Н.И.

Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия, e-mail: natom311@gmail.com

Для цитирования:

Безденежных А.В., Гришина Н.И. Фактор фон Виллебранда как показатель эндотелиальной дисфункции сосудов щитовидной железы при двигательных нагрузках. Морфологические ведомости. 2021;29(3):537. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2021.29\(3\).537](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2021.29(3).537)

Резюме. Изучение структурно-функциональных особенностей щитовидной железы является предметом интереса как для клиницистов, так и для представителей фундаментальной медицинской науки, что связано с распространенностью заболеваний этого органа. Одной из причин нарушения тиреоидного статуса является эндотелиальная дисфункция, вызванная стрессом или физическими нагрузками. Под влиянием мышечной деятельности в сосудистом русле щитовидной железы происходит расширение просвета сосудов, набухание базальной мембраны с дистрофическими изменениями эндотелиоцитов, нарушения гемодинамики по типу перивенулярных и перикапиллярных геморрагий, степень этих изменений связана с параметрами двигательных нагрузок. Одним из критериев оценки эндотелиальной дисфункции сосудов может служить оценка активности фактора фон Виллебранда. Не существует единой точки зрения на использование плазматической (системной) или тканевой (местной) фракции фактора для оценки состояния сосудистого русла. Цель исследования - оценка состояния сосудистого русла щитовидной железы собак при различных видах двигательной активности с использованием иммуногистохимического метода определения внутрисосудистой фракции фактора фон Виллебранда. Объектом измерений стали поперечные срезы различных топографических зон центральной части правой доли органа у 16 контрольных и 67 экспериментальных собак-самцов, получавших однократные и многократные мышечные нагрузки при динамическом контроле частоты сердечных сокращений. Во всех анализируемых звеньях сосудистого русла выявлялась реакция с антителами к фактору в эндотелиальном слое, субэндотелиальном пространстве и лишь в единичных наблюдениях - в мышечном слое сосудов. Показано, что физические нагрузки оказывали влияние на выраженность экспрессии фактора сосудистой стенки щитовидной железы, при этом однократные тренировки в большей степени вызвали разнонаправленную реакцию артерий и вен в центре, эффекты многократных локализовались в микроциркуляторном русле преимущественно на периферии. При анализе полученных результатов показано, что более информативным критерием оценки являются не абсолютные значения экспрессии фактора, зависящие от вида сосудов, а коэффициент отношения площади иммуногистохимической реакции к площади стенки сосуда, отражающий избирательную активность эндотелия и определяющийся кратностью и длительностью воздействия.

Ключевые слова: щитовидная железа; фактор Виллебранда; иммуногистохимия; сосуды; двигательная активность

Статья поступила в редакцию 18 февраля 2021

Статья принята к публикации 12 ноября 2021

THE WILLEBRAND FACTOR AS AN INDICATOR OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION OF THE THYROID VESSELS UNDER MOTOR LOADS

Bezdenzhnykh AV, Grishina NI

Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia, e-mail: natom311@gmail.com

For the citation:

Bezdenzhnykh AV, Grishina NI. The Willebrand factor as an indicator of endothelial dysfunction of the thyroid vessels under motor loads. Morfologicheskie Vedomosti - Morphological newsletter. 2021;29(3):537. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2021.29\(3\).537](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2021.29(3).537)

Summary. The study of the structural and functional features of the thyroid gland is a subject of interest for both clinicians and representatives of fundamental medical science, which is associated with the prevalence of diseases of this organ. One of the causes of thyroid dysfunction is endothelial dysfunction caused by stress or exercise. Under the influence of muscular activity in the vascular bed of the thyroid gland, the lumen of the vessels expands, the basement membrane swells with dystrophic changes in endothelial cells, circulatory disorders of the type of perivenular and pericapillary hemorrhages, the degree of these changes is associated with the parameters of motor loads. One of the criteria for assessing vascular endothelial dysfunction can be the assessment of the activity of von Willebrand factor. There is no single point of view on the use of the plasma (system) or tissue (local) fraction of the factor to assess the state of the vascular bed. The aim of the study was to assess the state of the vascular bed of the thyroid gland in dogs with various types of motor activity using the immunohistochemical method for determining the intramural fraction of the von Willebrand factor. The objects of measurements were cross sections of different topographic zones of the central part of the right lobe of the organ in 16 control and 67 experimental male dogs, who received single and multiple muscular loads with dynamic control of heart rate. In all analyzed links of the vascular bed, a reaction with antibodies to the factor was detected in the endothelial layer, subendothelial space, and only in a few cases - in the muscular layer of the vessels. It was shown that physical activity influenced the expression of the factor of the vascular wall of the thyroid gland, while single training to a greater extent caused a multidirectional response of the arteries and veins in the center, whereas they by multiple trainings ones were localized in the microvasculature bed mainly in the periphery. When analyzing the results, it was shown that a more informative assessment criterion is not the absolute values of the factor expression, depending on the type of vessels, but the ratio of the square of the immunohistochemical reaction to the area of the vessel wall, reflecting the selective activity of the endothelium and determined by the frequency and duration of loads.

Key words: thyroid gland; von Willebrand factor; immunohistochemistry; blood vessel; motor activity

Article received 18 February 2021

Article accepted 12 November 2021

Введение. Актуальность изучения сосудистого русла щитовидной железы (далее - ЩЖ) не вызывает сомнений, что связано с распространенностью заболеваний органа, одним из способов формирования аутириоидного статуса органа является двигательная активность [1]. Под влиянием мышечной деятельности в сосудистом русле ЩЖ происходят внутрисосудистые (расширение просвета сосудов), сосудистые (набухание базальной мембраны с дистрофическими изменениями эндотелиоцитов) и внесосудистые изменения (нарушения гемодинамики по типу перивенулярных и перикапиллярных геморрагий) [2-3], степень этих изменений связана с параметрами двигательных нагрузок. Критерием оценки состояния сосудов органа может служить фактор фон Виллебранда (далее - фВ) определяемый иммуногистохимическим (далее - ИГХ) методом.

фВ – многофункциональный мультимерный гликопротеин плазмы крови, являющийся биомаркером сосудистого повреждения в тканях ЩЖ [4]. Выделяют две фракции фВ: тканевой (местный), который синтезируется эндотелиоцитами и хранится в тельцах Вайбеля-Паладе [5], и плазматический (системный), синтезирующийся мегакариоцитами костного мозга, который локализуется в α -гранулах тромбоцитов [6]. Системный фВ постоянно циркулирует в плазме крови в небольшом количестве в ответ на сосудистую травму он связывается с тромбоцитами или субэндотелиальными элементами мембраны. Тканевой фВ в участке повреждения сосуда объединяется с фактором свертывания крови VIII [7].

Ряд авторов считают, что в качестве маркера эндотелиальной дисфункции более целесообразно использовать плазматическую фракцию фВ, поскольку состояние экстравакулярной иммунореактивности линейно не коррелирует с выраженностью гистологических признаков повреждения сосудов [8]. Другие исследователи считают более объективным критерием реакцию тканевого (внутристеночного) фВ, так как эндотелиоциты с признаками экзоцитоза более объективно

отражают локальные адаптационные изменения сосудистого русла [9].

Цель исследования - оценить состояние сосудистого русла ЩЖ собак в ответ на различные виды двигательной активности на основании иммуногистохимического анализа внутристеночной фракции фВ.

Материалы и методы исследования. Животные (собаки-самцы возраста от 1,5 до 2-х лет) содержались в виварии на стандартном рационе питания сроком не менее одного месяца, при этом фиксировалась продолжительность светового дня, температура окружающей среды. Контрольная группа представлена 16 животными, средняя частота сердечных сокращений (далее - ЧСС в группе составляла $125 \pm 6,92$ уд/мин).

Экспериментальные группы получали однократные и многократные нагрузки (бег на ленте тредмила со скоростью 15 км/час) при динамическом контроле ЧСС. Однократные нагрузки представлены тремя видами воздействий: 1) тренирующего характера – 8 животных, время бега $27,76 \pm 4,67$ мин, ЧСС $205 \pm 10,15$ уд/мин; 2) стартового характера – 11 собак, время бега $8,25 \pm 0,73$ мин при ЧСС $201 \pm 13,47$ уд/мин; 3) предельными нагрузками – 12 животных $73,14 \pm 14,97$ мин, ЧСС $191 \pm 6,41$ уд/мин. Многократные воздействия были в виде циклов тренировок, каждый из которых состоял из тренирующих индивидуально дозированных двигательных нагрузок и стартовых нагрузок и представлены тремя группами. Первая группа (12 животных) – общее количество нагрузок цикла $23,25 \pm 0,66$ – среднее время бега при тренировке $45,64 \pm 1,83$ мин, ЧСС $169 \pm 1,85$ уд/мин. Во второй группе (10 собак) – общее количество нагрузок $55,50 \pm 2,45$ моделировали последовательно три цикла воздействий – среднее время бега $64,02 \pm 3,4$ мин при ЧСС $168 \pm 2,35$ уд/мин. В третьей группе у 11 животных формировали четыре цикла (общее количество нагрузок $70,54 \pm 2,52$), время бега составило $71,3 \pm 2,56$ мин при средней ЧСС $173,59 \pm 2,56$ уд/мин.

Исследования на животных проведены в соответствии с приказами Минвуза СССР № 742 от 13.11.84 «Об утверждении

правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.85 «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных», положениями Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986). Проведение исследования одобрено решением локального этического комитета № 313 от 21.12.18. Взятие материала осуществляли под внутривенным общим комбинированным наркозом (2% ромитар, золетил-50) и управляемым внешним дыханием в стандартное время суток – 10-12 часов дня.

Исследования проводили на поперечном срезе центральной части правой доли ЩЖ, материал фиксировали в 10% нейтральном формалине с последующей спиртовой проводкой по стандартной гистологической методике и заливкой в парафин-целлоидиновые блоки. Для иммуногистохимического анализа эндотелия сосудистого русла, согласно рекомендациям [10], использовали поликлональные антитела (FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Von Willebrand Factor, Ready-to-Use Unconjugated, Dako Omnis, Швеция). Парафин-целлоидиновые серийные срезы ЩЖ толщиной 3 мкм на предметных стеклах, обработанных L-полизином (Германия) очищали от парафина в ксилоле и спиртах. Для удаления целлоидина использовалась дополнительная обработка в этоксиэтан-этанол 1:1 и 100% этаноле по 15 мин. Для блокирования эндогенной пероксидазы срезы помещали на 10 мин в 3% раствор H_2O_2 . Идентификация антигенов к фВ требовала предварительной обработки 0,1% трипсином с 0,1% кальцием хлоридом на фосфатно-солевом (далее – PBS) буфере с pH=7,6 в течение 1 мин. После обработки предметные стекла помещали в буфер PBS (pH=7,6) с добавлением 0,05% твина-20. Затем срезы обрабатывались бычьим сывороточным альбумином, чтобы предотвратить окрашивание фона, а затем инкубировали в течение 1 часа с первичными антителами при комнатной температуре в увлажненной камере. Предметные стекла промывали в течение 3-4 мин в PBS и инкубировали 20 мин с

биотинилированными связанными антителами и 30 мин с метящим реагентом пероксидазы сопряженным со стрептавидином (LSAB+Detection System DAKO, Швеция). После промывания пероксидазная метка была обнаружена с помощью 3,3 диаминобензидина (далее -DAB) в течение 1-3 мин, контрастно окрашена гематоксилином Майера и препарат заключен в бальзам. DAB давал коричневую окраску выявляемых структур. Негативный контроль проводили, используя идентичную методику, но при этом не включая первичное антитело и не добавляя стрептавидин-биотиновый комплекс.

Оценивали площадь эндотелия сосудов ЩЖ, позитивного к фВ ($мкм^2$) не менее чем в 40 полях зрения (окуляр $\times 10$, объектив $\times 40$) с помощью C-Mount адаптера камеры DS-Fi1 микроскопа Nikon ECLIPSE 90i+DIH-M при перемещении по всей площади среза. Характеристика сосудистого русла включала оценку качественных признаков: наполненность эритроцитами (признаки гиперемии), экспрессию фВ относительно стенки сосуда (внутрисосудистая и внутрисстеночная локализация), топографическое расположение сосудов на срезе относительно геометрического центра (центр, периферия, промежуточная зона) [11], дифференцировку вида сосудов (артерии, вены, сосуды микроциркуляторного русла, рис. 1). Объектом количественных измерений являлась внутрисстеночная фракция фВ. Для ее идентификации на оцифрованных срезах в графическом редакторе GIMP 2.10.221 выделялся сосуд и удалялось внутрисосудистое содержимое. В программе ImageJ после геометрической (с разрешением 0,09 $мкм/пиксел$ изображения, 2560x1920 пикселей) и фотометрической калибровки проводили измерения абсолютных значений: площади, занимаемые сосудом (S_v , $мкм^2$), стенкой сосуда с иммунологической реакцией фВ+ (S_{fwB} , $мкм^2$), длины эндотелия (Perim, $мкм$). Рассчитывали относительную площадь (S_{fwB}/S_v), проводили оценку нормальности распределения, и в связи с ее отсутствием для каждой выборки вычисляли медиану (Me) и квартили (Q1, Q3), проводили сравнение показателей исследуемых

групп при помощи непараметрического U-критерий Манна – Уитни и корреляции

Спирмена, достоверными считали различия при уровне $p < 0,05$.

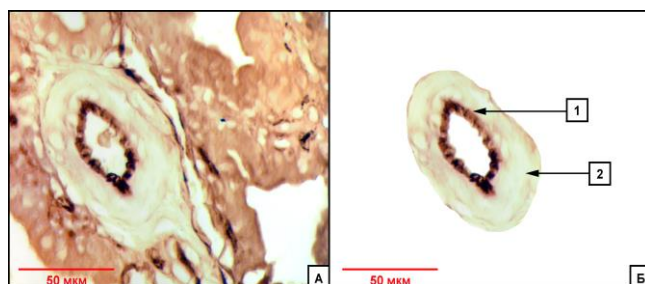


Рис. 1. Артериола ЦЖ у животного контрольной группы при оценке ИГХ-реакции на фВ до (А) и после обработки (Б) в графическом редакторе. Обозначения: 1 - эндотелий интимы с позитивной реакцией на фВ, 2 - стенка сосуда. Окр.: гематоксилином. Ув.: $\times 400$.

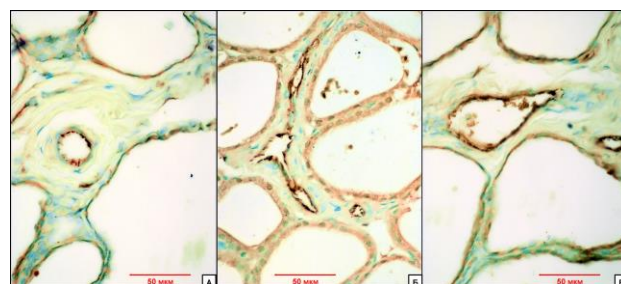


Рис. 2. ИГХ-реакция на фВ в сосудах ЦЖ у животных экспериментальных групп. Обозначения: А - артериола, Б - сосуды микроциркуляции, В - венола. Окр.: гематоксилином. Ув.: $\times 400$.

Результаты исследования и обсуждение. Локальная экспрессия фВ+ является универсальным показателем эндотелиальной дисфункции [3, 9] однако при физических нагрузках как правило изучаются титры антител в плазме крови (внутрисосудистая фракция) [4, 12]. Исходя из цели исследования, мы исследовали внутривенную фракцию фВ. Во всех анализируемых звеньях сосудистого русла нами выявлена экспрессия с антителами к фВ в эндотелиальном слое, субэндотелиальном пространстве и лишь в единичных наблюдениях - в мышечном слое сосудов. Мы не обнаружили ее в адвентиции и периваскулярной соединительной ткани. Это положение справедливо лишь в отношении крупных сосудов (артерий и вен), в сосудах микроциркуляторного русла (далее - МЦР) она наблюдалась в том числе в экстраваскулярном пространстве и внеклеточном матриксе (рис. 2).

ИГХ-окрашивание с использованием антител к внутривенной фракции фВ+ в контрольной группе в артериях встречалась в 23,51%, в сосудах МЦР 21,12%, в венах 55,38%. При однократных тренирующих двигательных нагрузках реакция к фВ в артериях составила 19,8%, в МЦР - 26,96%, в венах 53,24%. При стартовых нагрузках возрастала в артериях до 24,08% и в МЦР до 34,97%, в венах уменьшалась до 40,95%. При воздействии нагрузок предельного характера она снижалась

в артериях до 17,33%, но увеличивалась в МЦР до 24,16% и в венах до 58,51%. При многократных нагрузках 1 и 2 группы реакция к фВ+ снижалась в артериях соответственно до 17,27% и до 5,53%, в венах до 44,78% и 47,99%, напротив, в МЦР увеличивалась до 37,95% и 46,48%. В группе многократных нагрузок № 3 реакция к фВ снижалась в артериях до 16,95%, но повышалась в сосудах МЦР до 25,54% и в венах до 57,51%.

Таким образом, бег животных оказывал влияние на выраженность экспрессии фВ сосудистой стенки ЦЖ, при этом однократные тренировки в большей степени вызывали разнонаправленную реакцию артерий и вен в центре среза, а многократные локализовались в МЦР преимущественно на периферии и при этом крупные сосуды затрагивались в меньшей степени.

В ЦЖ всех исследуемых групп фВ чаще всего выявлялся в стенке вен (51%), в сосудах МЦР (31%) и реже - в артериях (18%). При однократных и многократных воздействиях вовлечены сосуды МЦР. Площадь реакции фВ+ в МЦР увеличена во всех экспериментальных группах и не зависит от продолжительности бега. Реакция фВ в артериальном русле достигает максимальных значений в группе с однократными стартовыми нагрузками (минимальное время бега), у остальных экспериментальных групп она была ниже, чем в

контроле. В венозной части сосудистого русла бóльшие значения реакции фВ характерны для однократных предельных нагрузок и многократных с самым продолжительным бегом, для остальных экспериментальных групп она была ниже,

чем в контроле. Уровень тиреоидных гормонов и концентрация внутрисосудистой фракции фВ согласно исследованию ряда авторов [13-14] оказывают влияние на локальный кровоток провоцируя венозную тромбоэмболию.

Таблица 1

Площадь стенки сосудов щитовидной железы с иммуногистохимической реакцией к фактору Виллебранда (мкм²) и отношение площади реакции к площади сосудов при различных режимах двигательной активности, Me(Q1-Q3)

Группы	Площадь	Отношение площади реакции к площади сосудов
Контроль (n=16)	2497 (1080-5109)	0,18 (0,11-0,26)
Тренирующие нагрузки (n=8)	1929 (806-4262) ##	0,14 (0,08-0,24) #
Стартовые нагрузки (n=12)	1319 (562-3247) #	0,24 (0,13-0,41) #*
Предельные нагрузки (n=14)	1699 (806-4058) #	0,11 (0,06-0,18) #
Многократные 1 (n=12)	957 (411-2569) #	0,17 (0,08-0,34)*
Многократные 2 (n=10)	1041 (361-3414) #	0,17 (0,06-0,36)
Многократные 3 (n=11)	1823 (695-4389) #	0,18 (0,10-0,29)

Примечания: # - отличия от контроля, $p \leq 0,01$; ## - отличия от контроля, $p \leq 0,02$; * - попарного сравнения между группами «однократные стартовые» и «многократные 1», $p \leq 0,01$.

Полученные результаты показывают, что средняя площадь сосудистой стенки ЩЖ с реакцией к фВ под воздействием двигательной активности всех экспериментальных групп достоверно ниже, чем в контроле (табл. 1).

Универсальной реакцией на двигательную активность является вовлеченность сосудистого русла ЩЖ, при этом закономерным является достоверное снижение абсолютных значений реакции фВ для всех экспериментальных групп [12]. Это может быть связано с тем, что физические нагрузки запускают механизмы стабилизации сосудистого гомеостаза эндокринного органа на привнесенный фактор. Выявленное уменьшение экспрессии фВ может быть связано и с другими причинами, такими, как экстраэндотелиальная экстракция фВ и захват соединительной ткани из циркулирующей плазмы, эндцитоз макрофагами, связывание с фактором свертывания крови, тромбоцитами и последующей агрегации тромбоцитов на субэндотелиальный коллаген [3, 15].

Абсолютные значения реакции фВ+ с нашей точки зрения не в полной мере отражают избирательную активность

эндотелия, так как зависят от вида сосудов. Более информативным критерием оценки экспрессии является использование коэффициента отношения площади экспрессии фВ к площади стенки сосуда. Исследования показали, что достоверные отличия коэффициента выявлены только при однократных нагрузках (табл. 1). При действии тренирующих и предельных нагрузках этот показатель уменьшался ($p < 0,01$), при стартовых нагрузках с самым непродолжительным временем бега отмечалось достоверное увеличение выраженности ИГХ-окрашивания фВ до 0,24.

Таким образом, уменьшение или увеличение этого показателя связано со степенью вовлеченности эндотелия сосуда в ответ на характер воздействия. Тренирующие нагрузки ($27,76 \pm 4,67$ мин) оказывали небольшое уменьшение отношения площади реакции к площади сосудов, самые продолжительные тренировки ($73,14 \pm 14,97$ мин) приводили к ее наименьшим значениям, что возможно обусловлено выбросом фВ в сосудистое русло или другими причинами его инактивации. Наиболее выраженные изменения характерны для стартовых нагрузок, которые при самом непродолжительном

времени бега ($8,25 \pm 0,73$ мин) предъявляют высокие требования к сосудистому обеспечению.

Относительная площадь реакции фВ в ответ на многократные нагрузки второй ($55,50 \pm 2,45$ нагрузки) и третьей ($70,54 \pm 2,52$ нагрузки) групп составила 0,17 и 0,18 соответственно и практически не отличалось от контрольной группы. По нашему мнению, это соотношение отражает адаптацию сосудистой стенки к многократно повторяющемуся сигналу от 47 до 132 дней эксперимента.

Демонстративна и показательна роль цикла тренирующих нагрузок на состояние сосудистой стенки. При попарном сравнении групп Me(Q1–Q3) с однократными стартовыми нагрузками 0,24(0,13–0,41) и «многократными 1» 0,17(0,08–0,34) выявлены достоверные отличия относительной площади реакции фВ. Так, однократные стартовые воздействия вызывали наиболее значимую реакцию эндотелия сосудов (табл. 1), а привнесения этих же параметров бега после цикла тренирующих нагрузок (группа «многократные 1») не оказывали влияние на состояние сосудов и практически не отличались от показателей контроля. Таким образом, цикл тренирующих нагрузок оказывал стабилизирующий эффект на сосуды ЩЖ.

Корреляционные связи между показателями SfwB и Perim закономерны и

прогнозируемы для всех групп ($p < 0,05$) и составляют от 0,72 до 0,89. Для контроля у всех экспериментальных групп была прослежена сильная значимая корреляция между SfWB и Sv ($r_s = 0,7-0,9$), что позволяет подтвердить зависимость площади вовлеченного эндотелия и типа реагирующих сосудов (артерий, вен, сосудов МЦР).

Заключение. В результате исследования установлено, что степень выраженности иммуногистохимической реакции к фактору Виллебранда обусловлена параметрами двигательной активности, зависит от зоны органа (центр или периферия) и типа сосудов щитовидной железы (артерии, вены, микроциркуляторное русло). Во всех экспериментальных группах экспрессия внутрисстеночной фракции фактора Виллебранда выявлена в эндотелиальном слое и субэндотелиальном пространстве венозного отдела сосудистого русла, что связано с особенностью выведения гормонов щитовидной железы в системный кровоток. Абсолютные значения реакции на фактор Виллебранда являются недостаточно информативным критерием оценки состояния сосудистого русла щитовидной железы. Более объективным, с нашей точки зрения, является показатель относительной площади реакции к площади сосуда.

Литература References

1. Bezdenezhnyh AV, Radaev AA, Fedotov VD, Miroshnichenko VV. Harakteristika follikulyarnykh tirocitov shchitovidnoy zhelezy pri razlichnykh rezhimakh dvigatel'noy aktivnosti. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2018;4. In Russian. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27883> (10.09.2018)
2. Gagnano F, Sperlongano S, Golia E, Natale F, Bianchi R, Crisci M, Fimiani F, Pariggiano I, Diana V, Carbone A, Cesaro A, Concilio C, Limongelli G, Russo M, Calabro P. The role of von Willebrand factor in vascular inflammation: from pathogenesis to targeted therapy. Mediators of Inflammation. 2017;5620314:13. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/5620314>
3. Chernova EV. Faktor Villebranda. Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta imeni I.I. Mechnikova. 2018;10(4):73–80. In Russian. DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov201810473-80>
4. Krogh AKH, Legind P, Kjeldgaard-Hansen M, Bochsén L, Kristensen AT. Exercise induced hypercoagulability, increased von Willebrand factor and decreased thyroid hormone concentrations in sled dogs. Acta Veterinaria Scandinavica. 2014;56:11. DOI: 10.1186/1751-0147-56-11

5. Suhorukova EG, Kirik OV, Korzhevskij DE. Vyavlenie telec Vejbelya-Palade pri pomoshchi immunocitohimicheskoy reakcii na faktor Willebranda i konfokal'noj lazernoj mikroskopii. *Morfologiya*. 2018;1(153):71–75. In Russian
6. Gurina OYu, Gurin YaV, Pavlovich ER, Cyplenkova VG. Izuchenie specificheskikh telets Vejbelya-Palade v endoteliocitah pri reparativnom angiogeneze. *Voprosy morfologii XXI veka. Vyp. 2. Sbornik nauchnykh trudov, posvyashchennyj 80-letiyu so dnya rozhdeniya Aleksey Andreevicha Klishova. Pod redakciej R.K. Danilova, S.V. Kostyukevicha, I.A. Odincovoj. Saint-Petersburg, 2010. S. 104-107. In Russian*
7. Kiouptsi K, Reinhardt C. Physiological Roles of the von Willebrand Factor-Factor VIII Interaction. In: Hoeger U, Harris J (eds). *Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins. Subcellular Biochemistry. Cham.: Springer, 2020. P. 94. DOI: 10.1007/978-3-030-41769-7_18*
8. Brott DA, Katein A, Thomas H, Lawton M, Montgomery RR, Richardson RJ, Loudon CS. Evaluation of von Willebrand Factor and von Willebrand Factor Propeptide in Models of Vascular Endothelial Cell Activation, Perturbation, and/or Injury. *Toxicologic Pathology*. 2014;42(4):672–683. DOI: 10.1177/0192623313518664
9. Chumasov EI, Petrova ES, Korzhevskij DE. Strukturnye i funktsionalnye osobennosti endoteliya sosudov serdca polovozrelykh krysov po dannym immunogistohimicheskogo issledovaniya. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkulyaciya*. 2019;18(2):70-77. In Russian DOI: 10.24884/1682-6655-2019-18-2-70-77
10. Korzhevskij DE, Kirik OV, Karpenko MN. Teoreticheskie osnovy i prakticheskoe primenenie metodov immunogistohimii: rukovodstvo. S-Pb: SpecLit, 2014. 119s. In Russian
11. Bezdenezhnykh AV, Petrova NI. Metodika topicheskoy diagnostiki morfologicheskikh parametrov shchitovidnoy zhelezy. *Morfologiya*. 2000;4(114):91–94. In Russian
12. Van Loon JE, Sonneveld MAH, Praet SFE, de Maat MPM, Leebeek FWG. Performance related factors are the main determinants of the von Willebrand factor response to exhaustive physical exercise. *PLOS ONE*. 2014;9(3):1-8. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091687>
13. Bano A, Chaker L, de Maat MPM, Atiq F, Kavousi M, Franco OH, Mattace-Raso FUS, Leebeek FWG, Peeters RP. Thyroid Function and Cardiovascular Disease: The Mediating Role of Coagulation Factors, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2019;104(8):3203-3212. DOI:10.1210/jc.2019-00072
14. Elbers LPB, Fliers E, Cannegieter SC. The influence of thyroid function on the coagulation system and its clinical consequences. *Journal of thrombosis and haemostasis*. 2018;16:634–645. DOI: 10.1111/jth.13970
15. Kalinin RE, Suchkov IA, Korotkova NV, Mzhavanadze ND. Izuchenie molekulyarnykh mekhanizmov endotelial'noj disfunkcii in vitro. *Geny i kletki*. 2019;14(1):22-32. In Russian. DOI: 10.23868/201903003

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования.

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Бездenezhных Андрей Вячеславович, доцент, кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной анатомии, Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия;
e-mail: natom311@gmail.com

Гришина Наталья Игоревна, студентка педиатрического факультета, Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия;
e-mail: grishinanatalia@gmail.com

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Andrey V. Bezdenezhnykh, Docent, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Normal Anatomy, Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia;
e-mail: natom311@gmail.com

Nataliya I. Grishina, Studentess of the Pediatric Faculty, Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia,
e-mail: grishinanatalia@gmail.com