

Метаболическая коррекция сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза в остром периоде черепно-мозговой травмы у крыс

Г. А. Бояринов^{1*}, О. Д. Соловьева¹, Е. И. Яковлева¹, Л. В. Бояринова¹, А. В. Дерюгина²

¹ Приволжский исследовательский медицинский университет,
Россия, 603950, ГСП-470, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1

² Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского,
Россия, 603950, ГСП-20, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23

Metabolic Correction of Primary Hemostasis in the Acute Phase of Traumatic Brain Injury

Gennady A. Boyarinov^{1*}, Olga D. Solovyova¹, Elena I. Yakovleva¹,
Larisa V. Boyarinoва¹, Anna V. Deryugina²

¹ Privolzhsky Research Medical University,
10/1 Minin and Pozharsky Square, GSP-470, 603950 N. Novgorod, Russia

² N. I. Lobachevsky Nizhny Novgorod National Research State University,
23 Gagarin Av., GSP-20, 603950 Nizhny Novgorod, Russia

Для цитирования: Г. А. Бояринов, О. Д. Соловьева, Е. И. Яковлева, Л. В. Бояринова, А. В. Дерюгина. Метаболическая коррекция сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза в остром периоде черепно-мозговой травмы у крыс. *Общая реаниматология*. 2021; 17 (1): 57–68. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-1-57-68> [На русск. и англ.]

For citation: Gennady A. Boyarinov, Olga D. Solovyova, Elena I. Yakovleva, Larisa V. Boyarinoва, Anna V. Deryugina. Metabolic Correction of Primary Hemostasis in the Acute Phase of Traumatic Brain Injury. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (1): 57–68. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-1-57-68> [In Russ. and Engl.]

Резюме

Цель исследования — изучить влияние этилметилгидроксипиридина на ультраструктурные изменения эндотелиоцитов синусоидных капилляров (СК) печени и сосудисто-тромбоцитарное звено системы гемостаза в остром периоде черепно-мозговой травмы (ЧМТ).

Материалы и методы. В посттравматическом периоде (ПТП) ЧМТ на 36 аутобредных крысах-самках исследовали динамику изменения ультраструктуры эндотелиоцитов СК печени методом электронной микроскопии и определяли количество тромбоцитов на гемоанализаторе. В течение 12 сут. в опытной группе ($n=18$) животным внутрибрюшинно вводили этилметилгидроксипиридин в дозе 8,0 мг/кг массы тела в сутки, а в контрольной группе ($n=18$) — физиологический раствор натрия хлорида в том же объеме.

Результаты. Введение этилметилгидроксипиридина в ПТП уменьшало повреждение микроворсинок эндотелиоцитов, гепатоцитов и звездчатых ретикулоэндотелиоцитов в пространстве Диссе, тогда как в контрольной группе в этот период обнаруживали их выраженную редукцию. В отличие от контрольной группы, у животных опытной группы не выявили тромбоцитопению в 1-, 3- и 7-е сутки после травмы, отметили статистически значимое увеличение числа тромбоцитов, относительно исходных данных, достигшее наибольшей величины к 12-м суткам после травмы.

Заключение. Внутрибрюшинное введение этилметилгидроксипиридина крысам в раннем ПТП сдерживало повреждающее действие формирующихся после ЧМТ вторичных факторов на эндотелиоциты синусоидов печени и потребление тромбоцитов.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма; эндотелий; синусоидные капилляры печени; тромбоциты; этилметилгидроксипиридин; мексикор

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов и финансовой заинтересованности в проведении данного исследования.

Summary

The aim of the study was to investigate the effect of ethylmethylhydroxypyridine on the ultrastructural alterations in endothelial cells of liver sinusoidal capillaries (SC) and primary hemostasis in the acute phase of traumatic brain injury (TBI).

Materials and methods. Ultrastructural endothelial cell changes were studied in 36 female outbred rats in the acute phase of TBI using electron microscopy, and the platelet count was determined using a blood analyzer. The experimental group ($n=18$) animals received intraperitoneal injections of ethylmethylhydroxypyri-

Адрес для корреспонденции:

Геннадий Андреевич Бояринов*
E-mail: boyarin46@mail.ru

Correspondence to:

Gennady A. Boyarinov*
E-mail: boyarin46@mail.ru

dine at the dose of 8.0 mg/kg per day for 12 days, and the control group ($n=18$) rats were administered with normal saline solution at the same dose.

Results. Administration of ethylmethylhydroxypyridine in the early post TBI period reduced microvilli damage in endothelial, hepatic and stellate cells in the Disse space, whereas in the control group a significant decrease of these cells counts was detected. In contrast to the control group, the experimental group animals did not demonstrate thrombocytopenia on the days 1, 3, and 7 after injury. There was a significant increase in the platelet count compared with the baseline values, which was highest on day 12 after injury.

Conclusion. Intraperitoneal administration of ethylmethylhydroxypyridine in rats in early post TBI period inhibited the TBI-associated damaging effect of secondary factors on liver sinusoid endothelial cells and platelet consumption.

Keywords: *traumatic brain injury; endothelium; hepatic sinusoidal capillaries; platelets; ethylmethylhydroxypyridine; mexicor*

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest or competing financial interests.

DOI:10.15360/1813-9779-2021-1-57-68

Введение

К настоящему времени показана существенная роль эндотелиоцитов в патогенезе различных заболеваний терапевтического и хирургического профиля [1–5]. Монослой эндотелиальных клеток является гигантским паракринным органом массой 1,5–1,8 кг, вырабатывающим огромное количество биологически активных веществ. Отдельные исследователи утверждают, что эндотелий сосудов считается одним из органов-мишеней при развитии критических состояний. Дисфункция эндотелия выявляется уже на ранних стадиях болезни [6]. Это связано с тем, что эндотелиальные клетки благодаря своему расположению между циркулирующей кровью и тканями первыми подвержены воздействию из сосуда патогенных факторов, приводящих к дисрегуляции гомеостатического баланса, лежащего в основе большинства витальных функций сосудистого эндотелия. Ранее нами были выявлены повреждения эндотелия при черепно-мозговой травме (ЧМТ) в миокарде [7, 8], что позволяет предположить неспецифический характер этих изменений при критических состояниях в других органах. Клиническими исследованиями установлено, что сопровождающие сочетанную ЧМТ вторичные факторы повреждения мозга (артериальная гипотензия, гипоксия, ацидоз, повышенное образование свободных радикалов, эндотоксемия и др.) являются в то же время неспецифическими факторами изменения функционально-структурного состояния тромбоцитов и эндотелиоцитов и вследствие этого вызывают активацию сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза [9, 10].

В этой связи не вызывает сомнения, что устранение дисфункции эндотелия служит наилучшим способом сдерживания развития типичных для того или иного критического состояния патогенетических факторов, которые провоцируют повреждение эндотелия. Это означает, что при ЧМТ представляется крайне

Introduction

Currently, an essential role of endothelial cells in the pathogenesis of various internal and surgical diseases has been widely recognized [1–5]. Endothelial cell monolayer is a huge paracrine organ weighing 1.5–1.8 kg and producing a large quantity of biologically active substances. Some researchers consider vascular endothelium one of the target organs in critical illness. Endothelial dysfunction can be detected in the early stages of the illness [6]. Endothelial cells located between the circulating blood and tissues are the first to be exposed to pathogenic factors causing disturbance of homeostatic balance regulating most vital functions of the vascular endothelium. We have previously identified myocardial endothelial damage in TBI [7, 8], which suggests the nonspecific nature of such changes in other organs during critical illness. Clinical studies have shown that the TBI-associated secondary factors of brain damage such as hypotension, hypoxia, acidosis, elevated free radicals, endotoxemia, etc. are also capable of altering function and structure of platelets and endothelial cells which results in activation of primary hemostasis [9, 10].

In this regard, correction of endothelial dysfunction is undoubtedly the best way to inhibit the specific pathogenetic factors, which provoke endothelial damage. Thus, correction of free-radical processes, hypoxia, endotoxemia, arterial hypotension and other secondary factors of brain damage might contribute to survival post-TBI. So far, there have been no specific agents for the correction of endothelial dysfunction, although many of the drugs used in cardiovascular and surgical diseases can improve endothelial dysfunction [1, 2, 11, 12]. One of such medications is ethylmethylhydroxypyridine (marketed under the trade name Mexicor) [13], which has antioxidant and antihypoxic effects.

Based on the literature data on factors of endothelial damage developing in critical illness, the aim of the study was to examine the effect of ethylmethylhydroxypyridine on ultrastructural changes in endothelial cells of liver sinusoidal capillaries and primary hemostasis during the acute phase of TBI.

важной коррекция свободнорадикальных процессов, гипоксии, эндотоксемии, артериальной гипотензии и других вторичных факторов повреждающих головной мозг. До сих пор специфических средств для коррекции эндотелиальной дисфункции нет, но многие из существующих препаратов, применяющихся при сердечно-сосудистых и хирургических заболеваниях, уже сегодня позволяют корректировать эндотелиальную дисфункцию [1, 2, 11, 12]. Современным препаратом, обладающим антиоксидантным и противогипоксическим действием, является этилметилгидроксипиридин (международное непатентованное название препарата, торговое название – мексикор) [13].

С учетом литературных данных о формирующихся в процессе развития критических состояний факторах, повреждающих эндотелий, целью исследования явилось изучение влияния этилметилгидроксипиридина на ультраструктурные изменения эндотелиоцитов синусоидных капилляров печени и сосудисто-тромбоцитарное звено системы гемостаза в остром периоде ЧМТ.

Материал и методы

Исследование выполнили на двух группах белых аутбредных крысах-самках, массой 180–200 г, по 18 крыс в каждой группе. Содержание животных и проводимые с ними манипуляции осуществляли в соответствии с нормативными документами, представленными в руководстве «Guide for care and use of laboratory animals. ILAR publication, 1996, National Academy Press» и требованиями Приказа Минздрава России № 267 от 19.06.03 «Об утверждении правил лабораторной практики в Российской Федерации». Животных фиксировали на планшете, ЧМТ моделировали путем падения груза с высоты 80 см массой 100 г на теменно-затылочную область головы. Воздействие механической энергии вызывало сотрясение и ушиб головного мозга, формирование эпидуральных и субдуральных гематом [14]. В опытной группе крысам после ЧМТ в течение 12 дней внутрибрюшинно 2 раза в день вводили этилметилгидроксипиридин (мексикор, ООО «ЭкоФармИнвест», г. Москва) в дозе 8,0 мг/кг в сутки, а в контрольной – физиологический раствор натрия хлорида — в таком же объеме. Введение препарата осуществляли через 1 час после нанесения животным ЧМТ. Забор крови у животных опытной и контрольной групп осуществляли из подъязычной вены перед началом эксперимента (исходные данные), на 1-е, 3-и, 7-е и 12-е сутки после травмы и определяли количество тромбоцитов на гематологическом анализаторе Abacus (Австрия). На 3-и, 7-е и 12-е сутки с момента нанесения ЧМТ на фоне внутрибрюшинного наркоза тиопенталом натрия (100 мг/кг) осуществляли декапитацию крыс и через срединный лапаротомный доступ иссекали печень у 6 животных каждой группы в отмеченные временные интервалы времени. Аналогичные анестезиологические и хирургические манипуляции выполнили у 5 ложноопериро-

Materials and Methods

The study was performed on two groups of white outbred female rats weighing 180–200 g, 18 rats in each group. Animal handling and maintenance were performed in accordance with the regulatory documents presented in the «Guide for care and use of laboratory animals», ILAR publication, 1996, National Academy Press, and requirements outlined in the Order of Ministry of Health of Russia № 267 from 19.06.2003 «On approval of rules of laboratory practice in the Russian Federation». Animals were immobilized on a board, the injury was modeled by dropping a weight of 100 g from a height of 80 cm onto parieto-occipital region of the head. The impact of mechanical energy caused brain concussion and contusion associated with formation of epidural and subdural hematomas [14]. In the experimental group, rats were injected intraperitoneally with ethylmethylhydroxypyridine (Mexicor, LLC «EcoPharmInvest», Moscow), two times daily at a dose of 8.0 mg/kg for 12 days after TBI, whereas rats from the control group were administered with the same volume of the normal saline. The drug was administered one hour after the traumatic injury. Blood samples were taken from the sublingual vein of experimental and control animals before the experiment (baseline data), on 1, 3, 7, and 12 days after injury, and platelet count was determined using blood analyzer (Abacus, Austria). Decapitation and liver removal from 6 animals of each group were done on days 3, 7, and 12 days after trauma using intraperitoneal anesthesia with sodium thiopental (100 mg/kg). Similar anesthetic and surgical manipulations were performed in 5 sham-operated rats. Liver biopsy specimens were placed in 2.5% glutaraldehyde solution followed by post-fixation with 1% osmic acid solution, dehydration in alcohols of increasing strength, and embedded in epoxy resin mixture (Araldite and Epon 812). The ultrathin sections were prepared on ultramicrotome by Leica Microsystems (Austria), examined on electron microscope Morgagni 268D (FEI USA), photographed using video camera MegaView III and studied for structural changes of liver sinusoidal capillaries (SC). Sinusoidal microcirculation was analyzed in 10 randomly selected vision fields in each animal, the area of a single vision field was 78 μm^2 . All SCs were counted and taken as 100%. The percentage of SCs containing fine amorphous osmiophilic material and free-floating erythrocytes, or aggregates of erythrocytes, platelets and membrane fragments, or reduced content of amorphous osmiophilic material, as well as sinusoids containing no amorphous osmiophilic material and blood cells was determined.

Statistical analysis was performed using Microsoft Excel and Statistica 6.0 software. The data were presented as $M \pm m$, where M is the arithmetic mean, m is the standard error of the mean. The Shapiro–Wilk's method was used to test the parameter distribution. The significance of differences in the samples was assessed using Student's test. Differences of mean values were considered significant at $P < 0.05$.

Results and Discussion

Three days after the TBI, endothelial layer alteration in liver SCs was detected in the control group: endothelial cell cytoplasm was electron-

ванных крыс. Биоптаты печени помещали в 2,5% раствор глутарового альдегида с последующей дофиксацией 1% раствором осмиевой кислоты, дегидратацией в спиртах возрастающей крепости и заключали в смесь эпоксидных смол (аралдит и эпон 812). Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме фирмы Leica Microsystems (Австрия), просматривали на электронном микроскопе Morgagni 268D (фирмы FEI, США), фотографировали с помощью видеокамеры MegaView III и изучали структурные изменения синусоидных капилляров (СК) печени. Анализ микроциркуляции в синусоидах проводили в 10-и случайно выбранных полях зрения у каждого животного; площадь одного поля зрения составляла 78 мкм². Подсчитывали все СК, принимая их за 100%. Из этого количества микрососудов определяли процент СК, в просвете которых выявляли тонкодисперсный аморфный осмиофильный материал и свободно лежащие эритроциты; агрегаты эритроцитов, тромбоцитов и мембранные фрагменты; сниженное содержание аморфного осмиофильного материала и синусоиды, не содержавшие аморфный осмиофильный материал и форменные элементы крови.

Статистическую обработку данных выполнили с помощью программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. Результаты представили в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, m — стандартная ошибка среднего. Для проверки гипотезы о характере распределения исследуемых параметров применяли метод Шапиро–Уилка. Изучение статистических закономерностей в выборках осуществляли с применением критерия Стьюдента. Различия средних величин признавали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Через 3-е суток после ЧМТ в контрольной группе животных выявили альтерацию эндотелиального слоя СК печени: цитоплазма эндотелиоцитов была электронно-прозрачной, наблюдали участки ее набухания и отека. В эндотелиоцитах выявили множество пиноцитозных пузырьков, отдельные вакуоли, значительное содержание лизосом (рис. 1, *a, b*). Ядра эндотелиоцитов содержали гетерохроматин, отмечали небольшое набухание нуклеоплазмы, инвагинацию кардиолецммы. Митохондрии были в основном набухшие или вакуолизированные. В звездчатых макрофагах выявили клеточный детрит. В некоторых участках пространство Диссе было расширено, микроворсинки частью редуцированы. В просвете 32% СК находились свободно лежащие эритроциты и тонкодисперсный осмиофильный аморфный материал, а в 36% микрососудов — макро- и микроагрегаты эритроцитов; в отдельных СК — мембранные структуры, микроагрегаты эритроцитов с нейтрофилами и эритроцитами (рис. 1, *b*, рис. 2). В 24% СК имели место коагуляция и уменьшение осмиофильного аморфного материала, а в 8% случаев — просветы микрососудов не содержали осмиофильный материал, что указывало на отсутствие в них циркуляции (феномен no-reflow).

transparent, areas of swelling and edema were observed. Numerous pinocytotic vesicles, scattered vacuoles, significant number of lysosomes were detected in endothelial cells (Fig. 1, *a, b*). The nuclei of endothelial cells contained heterochromatin, there were a slight swelling of the nucleoplasm and nuclear membrane invaginations. Mitochondria were mostly swollen or vacuolated. Stellate macrophages showed cellular detritus. In some areas the space of Disse was enlarged, microvilli were partially reduced. The lumen of 32% of SCs contained free red blood cells and finely dispersed osmiophilic amorphous material, while 36% of microvessels contained macro- and microaggregates of red blood cells; some SCs contained membrane structures, microaggregates of erythrocytes with neutrophils (Fig. 1, *b*, Fig. 2). Coagulation and reduction of osmiophilic amorphous material occurred in 24% of SCs, and in 8% of cases the lumen of microvessels did not contain osmiophilic material, indicating the no-reflow phenomenon.

On day 3 after the TBI, the SC endothelium in experimental group animals exhibited normal appearance and contained numerous pinocytotic vesicles, mitochondria, scattered vacuoles and lysosomes (Fig. 1, *c*). Areas of swelling were also observed. The space of Disse was dilated in some places. Enlargement of microvilli was noted. Numerous primary and secondary lysosomes were found in stellate macrophages. Free-floating red blood cells and finely dispersed amorphous osmiophilic material were found in the lumen of 58% SC (Fig. 1, *d*), red blood cell microaggregates, neutrophils, and monocytes were found in 14% of capillaries. Coagulation and reduction of osmiophilic amorphous material were detected in the lumen of 28% SCs (Fig. 2).

On day 7 post TBI, the alterations of the SC endothelial cells in the control group animals were more significant compared to day 3: along with endothelial cells with clear cytoplasm, the cells with dark cytoplasm were found more commonly (Fig. 3, *a, b*); the number of pinocytotic vesicles increased, lipid droplets appeared. In some cases, edema, depletion, loosening and disintegration of the endothelial layer were detected. Mitochondrial swelling and destruction were observed. Nuclei had slight invaginations and contained heterochromatin. The cytoplasm of stellate macrophages was filled with cellular detritus. The space of Disse was dilated, and microvilli were reduced. Red blood cell aggregation, erythrocyte, neutrophils, and platelet aggregates (Fig. 3, *a*), and membrane structures were detected in the lumen of 36% of sinusoids. Only 24% of capillaries contained free-floating red blood cells and finely dispersed osmiophilic amorphous material. Lymphocytes, monocytes, platelets along with erythrocytes were detected in sinusoids. Reduced content of osmiophilic amorphous mate-

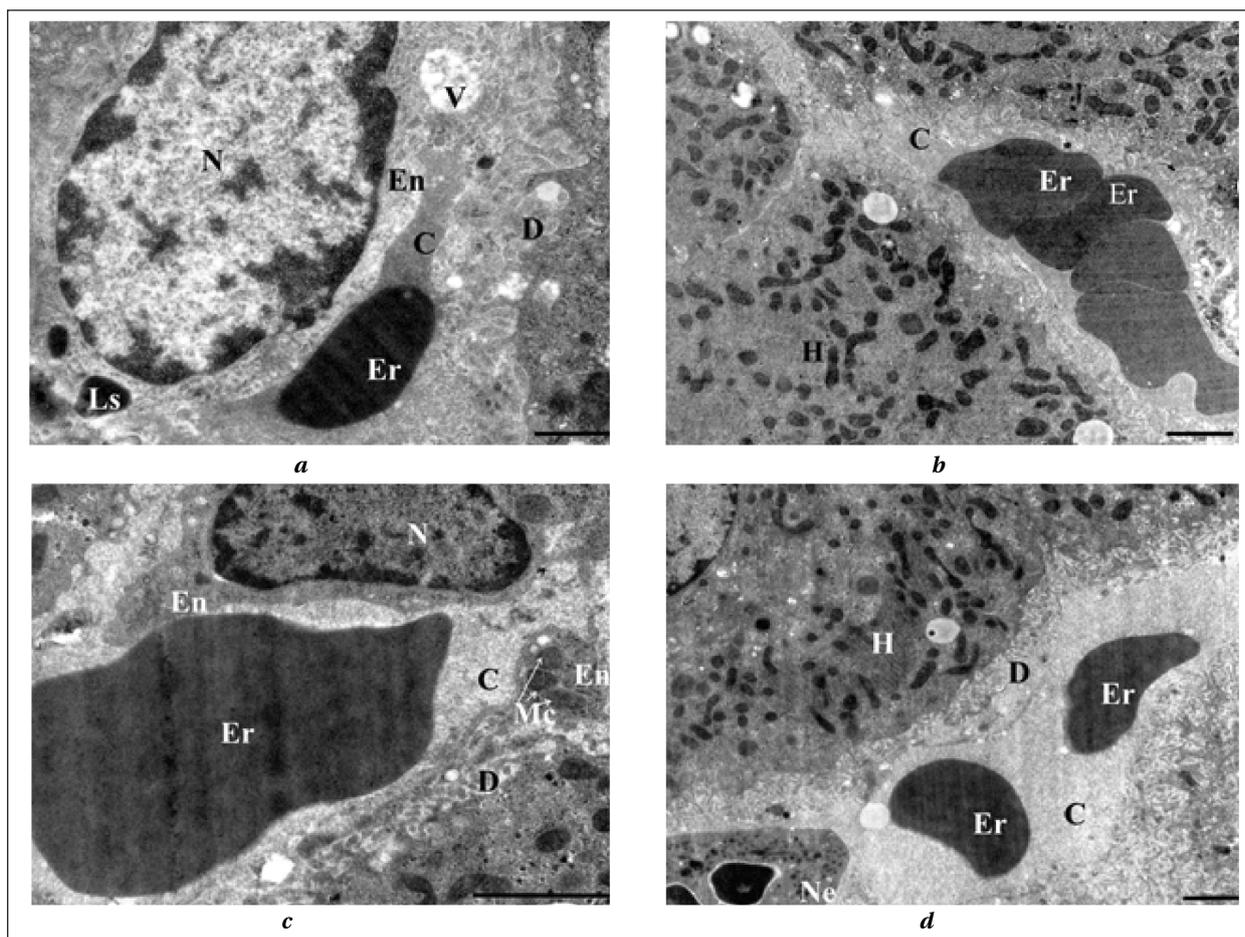


Рис. 1. Ультраструктура синусоидных капилляров печени крыс на 3-и сутки посттравматического периода.

Fig. 1. The ultrastructure of liver sinusoidal capillaries of rats on day 3 post TBI.

Note. Control group — *a, b*; experimental group — *c, d*. Large-scale segment: *a* — 1 micron; *b, c, d* — 2 microns. Magnification: *a* — $\times 14000$; *b, d* — $\times 5600$; *c* — $\times 11000$. C — lumen of sinusoidal capillaries; Er — erythrocyte; En — endothelium; N — nucleus; V — vacuole; Ls — lysosome; Mc — mitochondria; D — Disse space; Ne — neutrophil; H — hepatocyte.

Примечание. Контрольная группа — *a, b*; опытная группа — *c, d*. Масштабный отрезок: *a* — 1 мкм; *b, c, d* — 2 мкм. Увеличение: *a* — $\times 14000$; *b* — $\times 5600$; *c* — $\times 11000$; *d* — $\times 5600$. C — просвет синусоидных капилляров; Er — эритроцит; En — эндотелий; N — ядро; V — вакуоль; Ls — лизосома; Mc — митохондрия; D — пространство Диссе; Ne — нейтрофил; H — гепатоцит.

В опытной группе животных на 3-и сутки после ЧМТ эндотелий СК был обычного вида, содержал большое количество пиноцитозных везикул, митохондрии, единичные вакуоли, лизосомы (рис. 1, *c*). Встречали зоны его набухания. Пространство Диссе местами было расширено. Отмечали увеличение микроворсинок. В звездчатых макрофагах находились многочисленные первичные и вторичные лизосомы. В просвете 58% СК обнаружили свободно лежащие эритроциты и тонкодисперсный осмиофильный аморфный материал (рис. 1, *d*), в 14% микрососудов — микроагрегаты эритроцитов, нейтрофилы, моноциты. В просвете 28% СК выявили коагуляцию и уменьшение осмиофильного аморфного материала (рис. 2).

На 7-е сутки ПТП в контрольной группе повреждения эндотелиальных клеток СК были более выраженными по отношению к 3-им сут-

rial was found in 28% of SCs (Fig. 3, *b*). Dark blood plasma was detected in some sinusoids. The number of SCs that did not contain osmiophilic material and blood cells increased by 4% and amounted to 12% in comparison with the day 3 post TBI.

In experimental animals on day 7 post TBI, hepatic SC endothelium had normal appearance, with clear cytoplasm in some areas. Focal endothelial swelling was detected. The cytoplasm contained a significant number of coated vesicles, pinocytotic vesicles, as well as lysosomes, cisterns of granular endoplasmic reticulum, and scattered vacuoles (Fig. 3, *c, d*). The nuclei of many endothelial cells had membrane invaginations, contained nucleoli, which in some cases were displaced peripherally; mitochondria were mostly swollen. Stellate macrophages contained primary and secondary lysosomes (Fig. 3, *d*). Numerous microvilli were noted in the space of Disse (Fig. 3, *c*). Free-floating red blood cells and

кам: наряду с эндотелиоцитами со светлой цитоплазмой чаще выявляли клетки с темной цитоплазмой (рис. 3, *a, b*); увеличилось содержание пиноцитозных пузырьков, появились липидные капли. В некоторых случаях выявили отек, истощение, разрыхление и нарушение целостности эндотелиальной выстилки. Отмечали набухание и деструкцию МХ. Ядра были с небольшими инвагинациями, содержали гетерохроматин. Цитоплазма звездчатых макрофагов была наполнена клеточным детритом. Пространство Диссе расширено, обнаружили редукцию микроворсинок. В просвете 36% синусоидов определяли агрегацию эритроцитов, микроагрегаты эритроцитов с нейтрофилами, тромбоцитами (рис. 3, *a*), мембранные структуры. Только 24% капилляров содержали свободно лежащие эритроциты и тонкодисперсный осмиофильный аморфный материал. Наряду с эритроцитами в синусоидах выявили лимфоциты, моноциты, тромбоциты. Снижение содержания осмиофильного аморфного материала обнаружили в 28% СК (рис. 3, *b*). В некоторых синусоидах определяли темную плазму крови. Число СК, не содержащих осмиофильный материал и форменных элементы крови, увеличилось на 4% и по отношению к 3-м суткам ПТП составляло 12%.

У опытных животных на 7-е сутки ПТП эндотелий СК печени был обычного вида, местами имел светлую цитоплазму. Обнаружили локусы его набухания. В цитоплазме находились значительное количество окаймленных везикул, пиноцитозных пузырьков, а также лизосомы, цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулула, единичные вакуоли (рис. 3, *c, d*). Ядра многих эндотелиоцитов имели инвагинации кариолеммы, содержали ядрышки, в части наблюдений ядрышко было эктапировано к кариолемме; митохондрии большей частью набухшие. Звездчатые макрофаги содержали первичные и вторичные лизосомы (рис. 3, *d*). В пространстве Диссе отмечали многочисленные микроворсинки (рис. 3, *c*). В просвете 52% СК печени определяли свободно лежащие эритроциты и тонкодисперсный осмиофильный аморфный материал. Наряду со свободными эритроцитами 23% синусоидных гемокapилляров содержали микроагрегаты эритроцитов с нейтрофилами и тромбоцитами. Снижение содержания осмиофильного аморфного материала обнаружили в 25% СК.

Через 12 суток после ЧМТ в контрольной группе эндотелий СК печени был как обычного вида, так и с участками набухания. Ядро содержало гетерохроматин (рис. 4, *a*). Цитоплазма эндотелиоцитов светлая, в ней выявили митохондрии, лизосомы, окаймленные микровезикулы, отдельные вакуоли. В 79% СК имело место

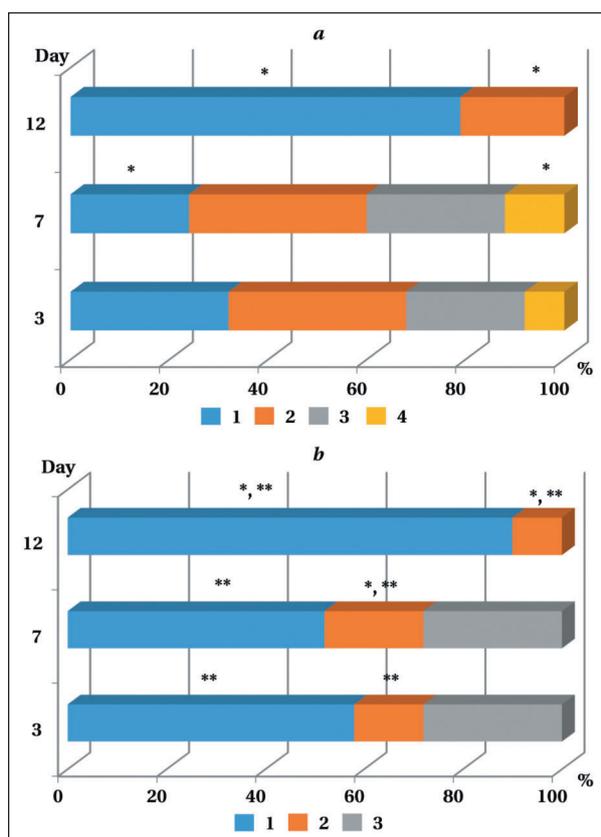


Рис. 2. Процентное соотношение СК печени в контрольной (*a*) и опытной (*b*) группах в зависимости от их внутрисосудистого содержимого на 3-и, 7-е и 12-е сутки посттравматического периода.

Fig. 2. The percentage of sinusoidal capillaries in the liver of the control group (*a*) and experimental group (*b*) animals in relation to their intravascular content on days 3, 7, and 12 of the post-traumatic period.

Note. The percentage of capillaries, the lumen of which contained: 1 — finely dispersed amorphous osmiophilic material and free red blood cells; 2 — aggregates of blood cells and membrane structures; 3 — reduced amorphous osmiophilic material; 4 — no amorphous osmiophilic material and blood cells. * — significant differences vs day 3 at different stages of the study in the control and experimental groups, $P < 0.05$; ** — significant differences vs control group, $P < 0.05$.

Примечание. Процентное содержание капилляров, в просвете которых было выявлено следующее: 1 — тонкодисперсное аморфное осмиофильное вещество и свободные эритроциты; 2 — агрегаты форменных элементов крови и мембранных структур; 3 — небольшое количество аморфного осмиофильного материала; 4 — отсутствие аморфного осмиофильного материала и клеток крови. * — значимые различия относительно 3 суток на этапах исследования в контрольной и опытной группах, $p < 0,05$; ** — значимые различия относительно контрольной группы, $p < 0,05$.

finely dispersed osmiophilic amorphous material were detected in the lumen of 52% of hepatic SCs. Microaggregates of red blood cells with neutrophils and platelets were revealed in 23% of sinusoid capillaries. Decreased content of osmiophilic amorphous material was found in 25% of SCs.

Twelve days after the TBI, the hepatic SC endothelium in the control group had areas of normal appearance and areas of swelling. The nuclei con-

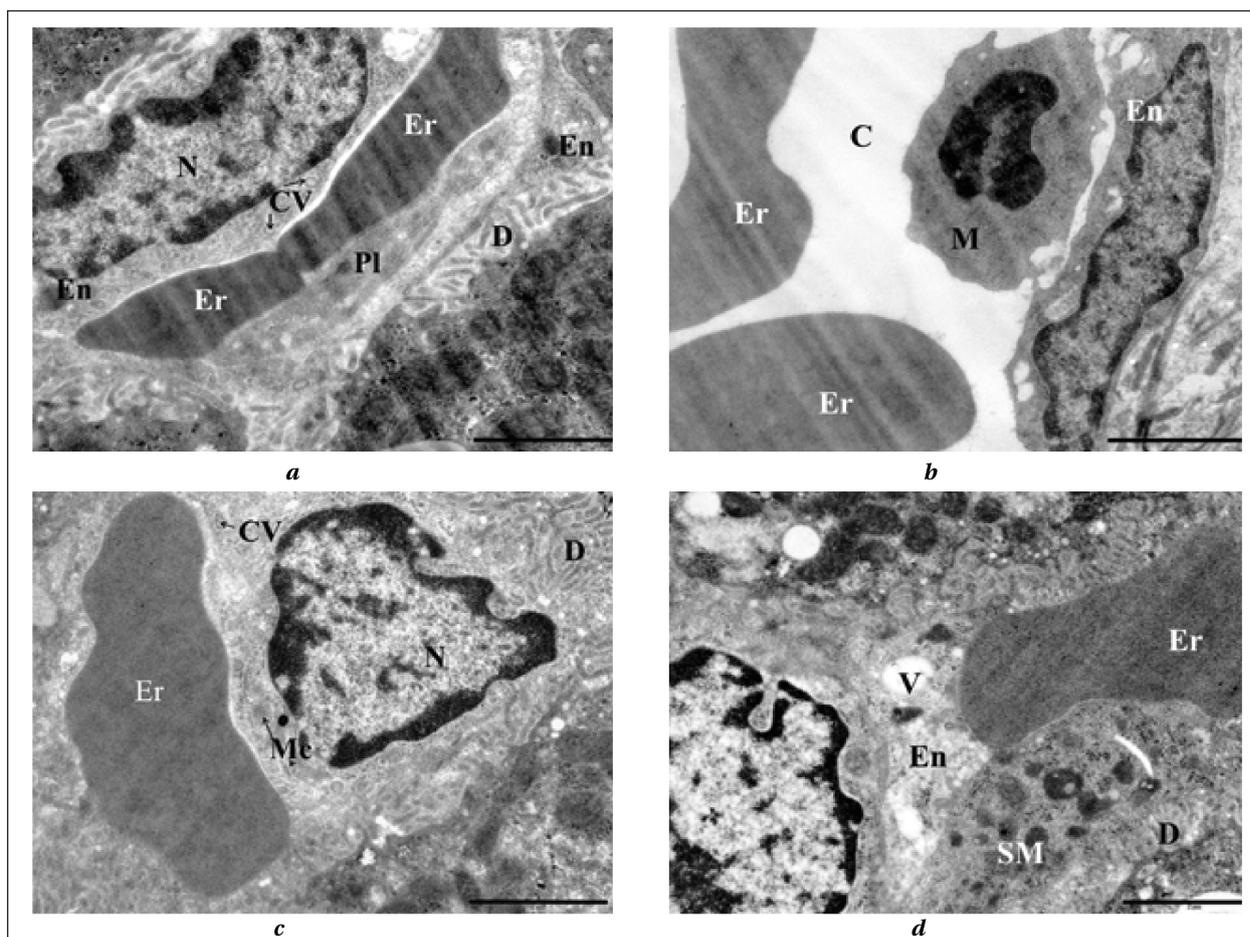


Рис. 3. Ультраструктура синусоидных капилляров печени крыс на 7-е сутки посттравматического периода.

Fig. 3. The ultrastructure of sinusoidal liver capillaries of white outbred rats on day 7 post TBI.

Note. Control group — *a, b*; experimental group — *c, d*. Large-scale segment: 2 microns. Magnification: *a, b, c, d* — $\times 11000$. C — lumen of sinusoidal capillaries; Er — erythrocyte; En — endothelium; D — the space of Disse; N — nucleus; V — vacuole; Pl — platelet; CV — coated vesicle; M — monocyte; Mc — mitochondria; SM — stellate macrophage.

Примечание. Контрольная группа — *a, b*; опытная группа — *c, d*. Масштабный отрезок: 2 мкм. Увеличение: *a, b, c, d* — $\times 11000$. C — просвет синусоидных капилляров; Er — эритроцит; En — эндотелий; D — пространство Диссе; N — ядро; V — вакуоль; Pl — тромбоцит; CV — окаймленная везикула; M — моноцит; Mc — митохондрия; SM — звездчатый макрофаг.

восстановление кровотока, в 21% обнаружены макро- и микроагрегаты эритроцитов, пузыри, клеточный детрит и тромбоциты (рис. 4, *b*).

У животных опытной группы на 12-е сутки ППП эндотелий СК печени определялся светлым, содержал митохондрии, окаймленные везикулы, пиноцитозные пузырьки, вакуоли; ядра большей частью были с ядрышками (рис. 4, *c*). Небольшие участки эндотелия были набухшими. В пространстве Диссе отмечали многочисленные микроворсинки. В 90% СК выявили восстановление кровотока (рис. 4, *d*), в 10% обнаружили микроагрегаты эритроцитов, а также единичные нейтрофилы, и эозинофилы.

Исследование содержания тромбоцитов у крыс контрольной группы через сутки после ЧМТ, по сравнению с исходными данными, показало статистически значимое снижение их количества, с максимальным уменьшением показателя на 7-е сутки и восстановлением до

tained heterochromatin (Fig. 4, *a*). Cytoplasm of endothelial cells was clear and contained mitochondria, lysosomes, coated microvesicles, and scattered vacuoles. Blood flow was restored in 79% of SCs, whereas macro- and microaggregates of erythrocytes, vesicles, cellular detritus and platelets were found in 21% of SC (Fig. 4, *b*).

On day 12 post TBI, the hepatic SC endothelium was clear, contained mitochondria, coated vesicles, pinocytotic vesicles, vacuoles; most nuclei had nucleoli (Fig. 4, *c*) in the experimental group. Small areas of the endothelium were swollen. Numerous microvilli were found in the space of Disse. Blood flow recovery was detected in 90% of the SCs (Fig. 4, *d*); in 10%, erythrocyte microaggregates, as well as single neutrophils and eosinophils, were detected.

One day after the TBI, the platelet count significantly decreased compared with the baseline, with the maximum reduction seen on the day 7,

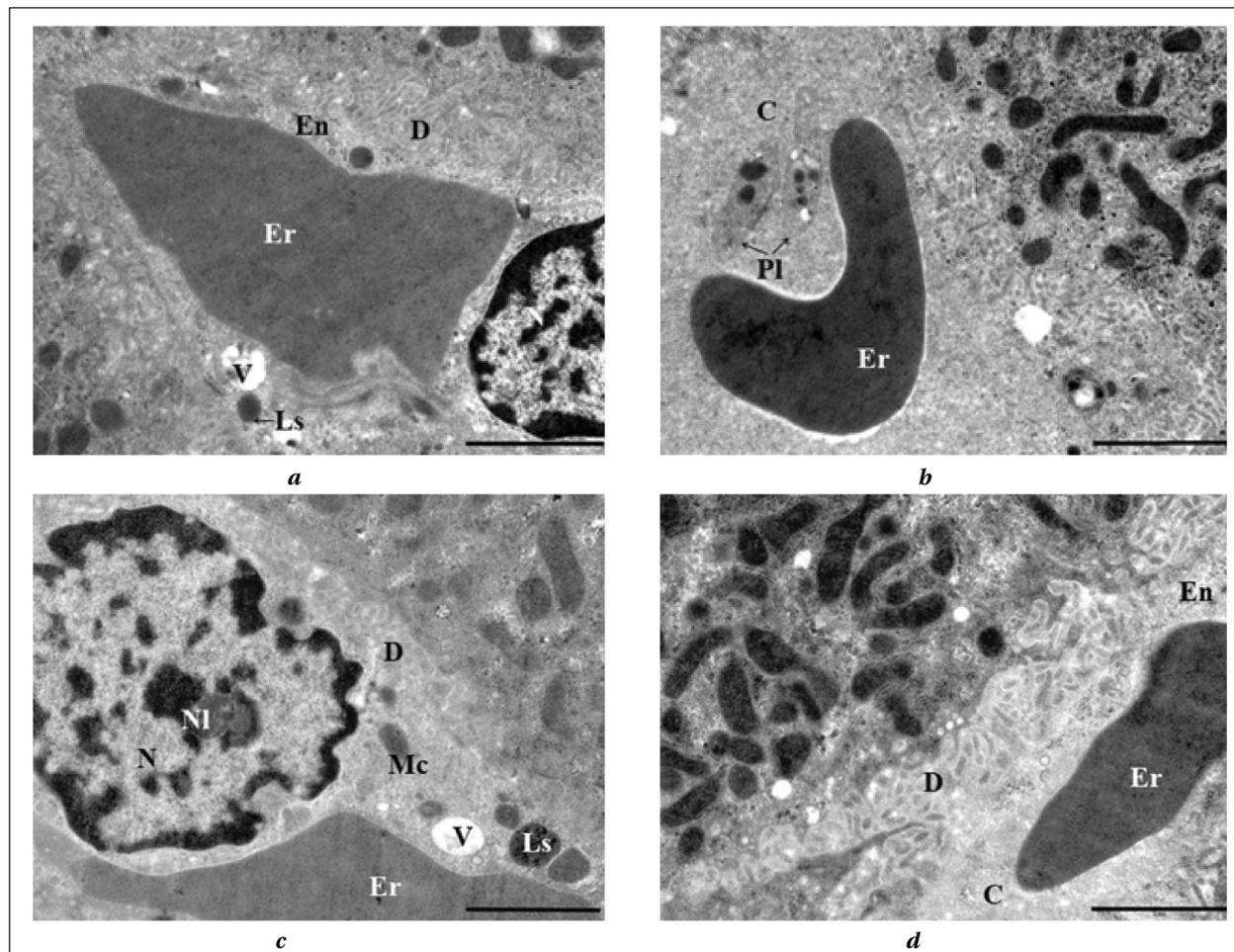


Рис. 4. Ультраструктура синусоидных капилляров печени белых аутбредных крыс на 12-е сутки посттравматического периода.

Fig. 4. The ultrastructure of sinusoidal liver capillaries of rats on day 12 of the post TBI.

Note. Control group — *a, b*; experimental group — *c, d*. Large-scale segment: 2 microns. Magnification: *a, b, c, d* — $\times 11000$. C — lumen of sinusoidal capillaries; Er — erythrocyte; En — endothelium; D — the space of Disse; N — nucleus; NI — nucleolus; Ls — lysosome; V — vacuole; Pl — platelet.

первоначальных значений только на 12-е сутки (рис. 5). Сопровождающая острый период ЧМТ тромбоцитопения отражает потребление тромбоцитов в активно протекающих процессах сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза [15]. Следует отметить, что у животных, которые в течение всего ПТП получали этилметилгидроксипиридин, не выявляли тромбоцитопению в 1-е, 3-и и 7-е сутки после травмы, в отличие от контрольной группы. На всех этапах исследования в опытной группе отмечали статистически значимое постепенное увеличение числа тромбоцитов, относительно исходных данных, достигающее наибольшей величины к 12-м суткам после травмы.

Повышение содержания тромбоцитов в сосудистом русле в остром периоде ЧМТ свидетельствует о том, что этилметилгидроксипиридин способствует вовлечению в общий кровоток дополнительных тромбоцитов.

and recovered to the baseline values only on day 12 (Fig. 5). The thrombocytopenia accompanying the acute phase of TBI reflects platelet consumption in activated primary hemostasis [15]. Notably, in animals that received ethylmethylhydroxypyridine throughout the post TBI period, no thrombocytopenia was detected on days 1, 3 and 7 after injury, in contrast to the control group. At all stages of the study, there was a significant gradual increase in the platelet count, compared to the baseline, reaching the highest value by day 12 after injury, in the experimental group.

Increased platelets in the bloodstream during the acute phase of TBI demonstrate that ethylmethylhydroxypyridine promotes recruiting more platelets into the circulation.

Electron microscopy of hepatic SC and intrasinusoidal changes in the control group showed significant microcirculatory disturbances on day 3 after a focal brain injury, which worsened on day 7. The increasing level of secondary brain injury fac-

Оценка результатов электронно-микроскопического исследования СК печени и внутрисинусоидальных изменений в контрольной группе позволяет заключить, что при локальной травме мозга на 3-и сутки ПТП определяются выраженные нарушения микроциркуляции, которые усугубляются на 7-е сутки. Вероятно, нарастающие по интенсивности действия вторичные факторы повреждения мозга, циркулируя в сосудистом русле, постоянно воздействуют на эритроциты, тромбоциты и эндотелиальные клетки синусоидных капилляров печени и приводят к их повреждению и дисфункции [10, 16]. Выявленное в эндотелии синусоидных капилляров большое количество пиноцитозных пузырьков и многочисленных включений свидетельствует о напряженной работе защитно-регуляторной функции эндотелиальных механизмов в поддержании постоянства состава крови и внутриклеточной среды гепатоцитов [17]. Определяемая гетерогенность клеток эндотелия, очевидно, изменяет просвет синусоидов печени, и вследствие этого нарушается транссинусоидный кровоток и интенсивность гематотканевого обмена [18]. В эндотелии появляются вакуоли и липидные капли. Накопление липидных капель в цитоплазме свидетельствует о переходе эндотелиоцитов с углеводного на преимущественно жировой обмен [17]. Морфологические проявления в виде отека, сглаживания эндотелиальной выстилки, истончения, разрыхления и нарушения целостности эндотелиоцитов свидетельствуют об истощении компенсаторно-приспособительных процессов в клетках [19, 20]. Наполнение клеточного детрита звездчатыми макрофагами свидетельствует об активном осуществлении ими фагоцитарной функции. Расширение пространства Диссе сопровождается редукцией микроворсинок. Цитоплазматические выросты гепатоцитов, эндотелиоцитов и звездчатых ретикулоэндотелиоцитов служат для выведения продуктов метаболизма, регулируют кровоток, участвуют в обеспечении гомеостаза. При локальной травме мозга микроворсинки, разрушаясь, попадают в синусоидное пространство и подвергаются протеолизу [21]. Выявленные вышеперечисленные ультраструктурные изменения эндотелия синусоидов печени в контрольной группе крыс являются морфологической основой снижения его антитромбогенного потенциала и внутрисинусоидальных нарушений микроциркуляции.

Формирующаяся эндотелиальная дисфункция сопровождается экспрессией индукторов агрегации тромбоцитов: тромбоксана А₂, фактора активации тромбоцитов и АДФ [22]. К другим факторам, повышающим агрегацион-

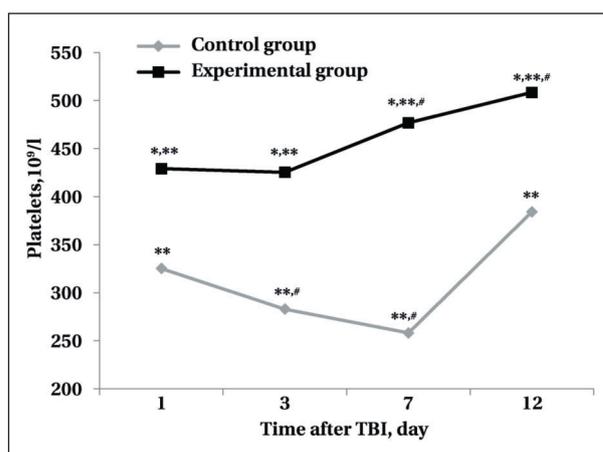


Рис. 5. Динамика количества тромбоцитов у крыс сравниваемых групп после черепно-мозговой травмы. Fig. 5. Changes in the platelet count of animals in the compared groups after traumatic brain injury.

Note. * — significant differences vs control group, $P < 0.05$; ** — significant differences vs baseline values (before exposure), $P < 0.05$; # — significant differences vs day 1 at different stages of the study in the control and experimental groups, $P < 0.05$. Platelet count in rats before the drug exposure was $374.00 \pm 9.81 \times 10^9/l$.

Примечание. * — значимые различия относительно контрольной группы, $p < 0,05$. ** — значимые различия относительно значений, полученных до воздействия, $p < 0,05$; # — значимые различия относительно значений, полученных на различных стадиях исследования в день 1, $p < 0,05$. Содержание тромбоцитов у крыс до воздействия препарата составляло $374,00 \pm 9,81 \times 10^9/l$.

tors in the bloodstream could persistently affect red blood cells, platelets and endothelial cells of the liver sinusoid capillaries and cause their damage and dysfunction [10, 16]. The large number of pinocytic vesicles and numerous inclusions detected in the endothelium of sinusoid capillaries prove the intense protective and regulatory activity of endocytic mechanisms which maintain blood homeostasis and stability of intracellular content of hepatocytes [17]. The heterogeneity of endothelial cells evidently modifies the diameter of liver sinusoids, causing impaired transsinusoidal blood flow and inhibiting the blood-tissue metabolism [18]. Vacuoles and lipid droplets appear in the endothelium. Accumulation of lipid droplets in cytoplasm indicates the transition of endothelial cells from carbohydrate to predominantly fat metabolism [17]. Morphological changes such as edema, endothelial flattening, thinning, loosening and disturbance of endothelial cell integrity demonstrate loss of cellular compensation and adaptation [19, 20]. Appearance of cellular detritus in stellate macrophages evidences their active involvement into phagocytosis. Dilatation of the space of Disse is accompanied by reduction of microvilli. Cytoplasmic protrusions of hepatocytes, endothelial and stellate cells serve to eliminate metabolic waste products, regulate blood flow, and participate in homeostasis maintenance. In focal brain injury, the

ную активность тромбоцитов при ЧМТ, относят увеличение в крови содержания тромбина, адреналина, норадреналина, серотонина, иммунных комплексов и медиаторов воспаления [10, 11, 23]. Все эти факторы, развивающиеся в ПТП, вызывают в контрольной группе животных прогрессирующую тромбоцитопению в первые 7 суток после травмы мозга. Анализируя представленные выше данные можно заключить, что острый период ЧМТ характеризуется активацией сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза и нарушением микроциркуляции в синусоидах печени.

Анализ результатов в сравниваемых группах показал, что введение этилметилгидроксипиридина крысам в раннем ПТП сдерживает повреждающее действие формирующихся после ЧМТ вторичных патогенных факторов на эндотелиоциты синусоидов печени и потребление тромбоцитов. Ранее в эксперименте нами было показано, что внутрибрюшинное введение этилметилгидроксипиридина крысам, перенесшим ЧМТ, снижало концентрацию малонового диальдегида и агрегацию эритроцитов, увеличивало их электроотрицательность и повышало в них содержание 2,3 дифосфоглицерата (2,3ДФГ) [24, 25]; восстанавливало микроциркуляцию и структурно-функциональную целостность эндотелия микрососудов миокарда [8]. В клинике установлено, что внутривенное введение этилметилгидроксипиридина в посттравматическом периоде пациентам с тяжелой сочетанной ЧМТ предупреждало формирование вторичных факторов повреждения головного мозга: гипоксию, окислительный стресс, эндотоксемию, артериальную гипотензию и др. [13, 26].

Выявленные в ПТП менее выраженные нарушения структурно-функциональной целостности эндотелия синусоидов печени, а также уменьшение в их просвете агрегатов клеток крови у крыс, получавших этилметилгидроксипиридин, по сравнению с контрольной группой свидетельствует о сохранении у них более высокого антитромбогенного потенциала эндотелиоцитов. Это подтверждается отсутствием тромбоцитопении у животных, получавших этот препарат после травмы. Введение этилметилгидроксипиридина в ПТП уменьшало повреждение микроворсинок эндотелиоцитов, гепатоцитов и звездчатых ретикулоэндотелиоцитов в пространстве Диссе, тогда как в контрольной группе в этот период обнаруживалась их выраженная редукция. Благоприятное действие препарата на эндотелиоциты, тромбоциты и микроциркуляцию синусоидных капилляров печени обусловлено тем, что он в своем составе содержит эмоксипин и сукцинат, влияющие на окислительный и энергетический метаболизм клеток [13, 27–29]. Эмокс-

destroyed microvilli get into the sinusoidal space and undergo proteolysis [21]. The above-mentioned ultrastructural changes in hepatic sinusoid endothelium in the control group underlie reduced antithrombotic potential and intrasinusoidal microcirculatory disorders.

The developing endothelial dysfunction is accompanied by increased expression of platelet aggregation inducers such as thromboxane A₂, platelet activation factor and ADP [22]. Other factors inducing platelet aggregation in TBI include increased blood levels of thrombin, adrenaline, norepinephrine, serotonin, immune complexes and inflammatory mediators [10, 11, 23]. All these factors caused progressive thrombocytopenia in the control group of animals during the first 7 days after TBI. Analyzing the data presented above, we concluded that activation of primary hemostasis and impaired microcirculation in the liver sinusoids develops during the acute phase of TBI.

Analysis of the study groups showed that administration of ethylmethylhydroxypyridine to rats in early post TBI period inhibited the damaging effect of secondary abnormal factors on liver sinusoid endothelial cells and platelet consumption. Earlier in a series of experiments we showed that intraperitoneal injection of ethylmethylhydroxypyridine in rats after TBI reduced malondialdehyde concentration and erythrocyte aggregation, increased RBC electrical negativity and 2,3 diphosphoglycerate (2,3-DPG) concentration [24, 25], restored microcirculation and structural and functional integrity of myocardial microvascular endothelium [8]. Clinical investigations demonstrated that intravenous injection of ethylmethylhydroxypyridine in patients post severe combined TBI prevented the development of secondary brain damage factors such as hypoxia, oxidative stress, endotoxemia, arterial hypotension, etc. [13, 26].

Less severe disturbances of hepatic sinusoid endothelium structure and function, as well as reduced blood cell aggregates in the capillary lumen in rats treated with ethylmethylhydroxypyridine, compared with the control group, indicate maintained higher antithrombotic potential of endothelial cells. This is confirmed by lack of thrombocytopenia in animals receiving this drug after injury. Administration of ethylmethylhydroxypyridine in post TBI period reduced damage to microvilli of endothelial, hepatic and stellate cells in the space of Disse, whereas the control group showed their marked decrease during this period. Emoxipine and succinate, the ingredients of ethylmethylhydroxypyridine affecting the oxidative and energy metabolism of cells, are responsible for the beneficial effect of the drug on endothelial cells, platelets and microcirculation in the liver sinusoid capillaries [13, 27–29]. Emoxipine stabilizes membranes of endothelial cells, platelets, and red blood cells and

сипин стабилизирует мембраны эндотелиоцитов, тромбоцитов, эритроцитов и восстанавливает их функциональную активность за счет антиоксидантного действия [8, 24]. Сукцинат повышает энергетический потенциал в клетках, активируя дыхательную цепь митохондрий реализацией феномена быстрого окисления янтарной кислоты сукцинатдегидрогеназой [27], улучшает доставку кислорода тканям вследствие положительного действия на гемодинамику [26] и увеличения синтеза 2,3ДФГ в эритроцитах [24].

Заключение

Применение мексикора у крыс в ПТП благодаря его антиоксидантным и противогипоксическим свойствам уменьшает образование вторичных факторов, вызванных ЧМТ, и вследствие этого ограничивает их повреждающее действие на эндотелиоциты синусоидов печени и тромбоциты, а также оказывает благоприятное метаболическое действие (восстанавливает про- и антиоксидантный баланс, повышает энергетический потенциал клеток) непосредственно на эндотелиоциты, тромбоциты, эритроциты и в результате этого сдерживает активацию сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза и нарушения микроциркуляции в микрососудах печени. Полученные результаты позволяют рассматривать этилметилгидроксипиридин как патогенетически обоснованный препарат профилактики и коррекции нарушений ультраструктуры эндотелиоцитов и микроциркуляции синусоидных капилляров печени и сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза в остром периоде

Литература

1. Котовицкова Е.Ф., Бувевич Е.И., Сьюлжжина Е.Н., Тарасова И.Н., Верещагин Е.И., Попова Л.А. Эндотелиальная дисфункция и гемостаз при остром инфаркте миокарда до и на фоне лечения тромбовазимом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2011; 1: 150–156. DOI: 10.20538/1682-0363-2011-1-150-156
2. Коновалова Е.Д., Черноморцева Е.С., Корокин М.В., Покровская Т.Г., Котельникова Л.В., Лесовая Ж.С., Дудина Э.Н., Лопатин Д.В., Денис Т.А. Коррекция эндотелиальной дисфункции комбинацией 1-норвалина и мексидола. *Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация*. 2012; 4–1 (123): 175–181.
3. Мельникова Ю. С., Макарова Т. П. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических болезней. *Казанский медицинский журнал*. 2015; 4: 659–665. DOI: 10.17750/KMJ2015-659
4. Бокерия Л.А., Таскина В.Ю. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе расстройств мозгового кровообращения при фибрилляции предсердий. *Клиническая физиология кровообращения*. 2013; 3: 46–56.
5. Поройский С.В., Воронков А.В., Тюренков И.Н., Бульчева О.С., Самойлова О.С. Эндотелиальная дисфункция в хирургии – современный взгляд на проблему. *Вестник ВолГМУ*. 2011; 3(39): 13–17.
6. Винник Ю.С., Юрьева М.Ю., Теплякова О.В., Салмина А.Б., Третьякова Н.Г. Значение эндотелиальной дисфункции в патогенезе локальной холодовой травмы. *РМЖ, Медицинское обозрение*. 2014; 22(31): 2204–2206
7. Бояринов Г.А., Дерюгина А.В., Зайцев Р.Р., Бояринова Л.В., Яковлева Е.И., Соловьева О.Д., Никольский В.О., Галкина М.В., Мартусевич А.А. Морфологические изменения в кровеносных микрососудах миокарда при экспериментальной черепно-мозговой травме. *Общая реаниматология*. 2016; 12(2): 20–29. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-20-29
8. Бояринов Г.А., Дерюгина А.В., Яковлева Е.И., Зайцев Р.Р., Шумилова А.В., Бугрова М.Л., Бояринова Л.В., Филиппенко Е.С., Соловьева О.Д. Фармакологическая коррекция микроциркуляции у

restores their function due to antioxidant effect of the drug [8, 24]. Succinate increases the energy potential in cells by activating the mitochondrial respiratory chain via the rapid oxidation of succinic acid by succinate dehydrogenase [27], improves oxygen delivery to tissues by stimulating the hemodynamics [26] and increases 2,3-DPG production in red blood cells [24].

Conclusion

The use of ethylmethylhydroxypyridine, possessing antiradical and anti-hypoxic properties, in post-TBI rats reduces the secondary TBI-associated factors and limits their damaging effect on liver sinusoidal endothelial cells and platelets. The drug exerts a favorable direct metabolic effect on endothelial cells, platelets, red blood cells by restoring pro- and antioxidant balance and increasing cell energy potential, which results in inhibition of primary hemostasis activation and improved hepatic microcirculation. These findings suggest that ethylmethylhydroxypyridine could be used for the prevention and correction of disorders of endothelial cell ultrastructure and hepatic sinusoidal capillary microcirculation, as well as the primary hemostasis disturbances in the acute phase of TBI. There is a need for further investigation of pharmacological agents with anti-hypoxic and antiradical properties for the correction of endothelial dysfunction in critical illness.

ЧМТ, а также определяют необходимость дальнейшего изучения фармакологических средств с противогипоксическими и антиоксидантными свойствами для коррекции эндотелиальной дисфункции при критических состояниях.

References

1. Kotovshchikova Y.F., Buevich Y.I., Syulzhina Y.N., Tarasova I.N., Vereschagin Y.I., Popova L.A. Endothelial dysfunction and hemostasis in acute myocardial infarction before and after Trombovazim therapy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2011; 10 (1): 150–156. [In Russ.] DOI: 10.20538/1682-0363-2011-1-150-156
2. Konovalova E.D., Chernomortseva E.S., Korokin M.V., Pokrovskaya T.G., Kotelnikova L.V., Lesovaya Zh.S., Dudina E.N., Lopatin D.V., Denis T.A. Correction of endothelial dysfunction with a combination of 1-norvaline and mexidol. *Nauchnye ведомosti. Seriya Meditsina. Farmatsiya*. 2012; 4–1 (123): 175–181. [In Russ.].
3. Mel'nikova Yu.S., Makarova T.P. Endothelial dysfunction as the key link of chronic diseases pathogenesis. *Kazanskij meditsinskij zhurnal*. 2015; 4: 659–665 [In Russ.]. DOI: 10.17750/KMJ2015-659
4. Bokeriya L.A., Taskina V.Yu. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of disorders of cerebral circulation in atrial fibrillation. *Klinicheskaya fiziologiya krovoobrashcheniya*. 2013; 3: 46–56. [In Russ.].
5. Poroykiy S.V., Voronkov A.V., Turenkov I.N., Bulicheva O.S., Samojlova O.S. endothelial dysfunction in surgery- a contemporary approach to the problem. *Vestnik VolGMU*. 2011; 3 (39): 13–17 [In Russ.].
6. Vinnik Yu. S., Yuryeva M. Yu., Teplyakova O. V., Salmina A. B., Tretyakova N. G. The significance of endothelial dysfunction in the pathogenesis of local cold trauma. *RMZh, Meditsinskoje obozrenie*. 2014; 22 (31): 2204–2206 [In Russ.].
7. Boyarinov G.A., Deryugina A.V., Zaytsev R.R., Boyarinova L.V., Yakovleva E.I., Soloveva O.D., Nikolskiy V.O., Galkina M.V., Martusevich A.A. Morphological Changes in Myocardial Blood Microvessels in Experimental Craniocerebral Injury. *Obschaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2016; 12 (2): 20–29 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-20-29
8. Boyarinov G.A., Deryugina A.V., Yakovleva E.I., Zaitsev R.R., Shumilova A.V., Bugrova M.L., Boyarinova L.V., Filippenko E.S., Solovyova O.D. Pharmacological correction of microcirculation in rats with traumatic brain injury. *Tsitologiya* 2016; 58 (8): 610–617.

- крыс, перенесших черепно-мозговую травму. *Цитология*. 2016; 58 (8): 610–617.
9. Чурляев Ю.А., Редкокаша Л.Ю. Роль сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза в развитии легочных осложнений при тяжелой черепно-мозговой травме. *Общая реаниматология*. 2006; 11 (4): 22–25. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-4-22-25.
 10. Бояринов Г.А., Бояринова Л.В., Дерюгина А.В., Соловьева О.Д., Зайцев Р.Р., Мошинина Е.В., Шуμιлова А.В. Роль вторичных факторов повреждения мозга в активации сосудисто-тромбоцитарного гемостаза при черепно-мозговой травме. *Общая реаниматология*. 2016; 12 (5): 42–51. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-5-42-51.
 11. Войнов А.Ю., Голевцова З.Ш., Семченко В.В. Гемостаз и сосудистый эндотелий при тяжелой черепно-мозговой травме. *Бюлл. СО РАМН*. 2002; 3: 35–44.
 12. Шапкин Ю.Г., Стекольников Н.Ю., Гамзатова П.К., Мамедова М.М. Возможности коррекции эндотелиальной дисфункции при глубоких отморожениях конечностей. *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки*. 2017; 9: 106–109.
 13. Бояринова Л.В., Бояринов Г.А., Военнов О.В., Зайцев Р.Р., Матюшкова Е.А., Соловьева О.Д., Мошинина Е.В. Лабораторный контроль эффективности антигипоксической терапии мексикором у больных с сочетанной черепно-мозговой травмой. *Современная лаборатория*. 2013; 2: 45–48.
 14. Цымбалюк В.И., Кочин О.В. Экспериментальное моделирование черепно-мозговой травмы. *Украинский нейрохирургический журнал*. 2008; 2: 10–12.
 15. Решетняк В.И., Журавель С.В., Кузнецова Н.К., Писарев В.М., Клычничкова Е.В., Сюткин В.Е., Решетняк Т.М. Система гемостаза в норме и при трансплантации печени (обзор). *Общая реаниматология*. 2018; 14 (5): 58–84. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-5-58-84
 16. Азеев Ф.Т. Коррекция эндотелиальной дисфункции – ключ к успеху лечения сердечно-сосудистых заболеваний. *Журнал сердечная недостаточность*. 2003; 4 (1): 54–60.
 17. Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В. Микроциркуляция. М.: «Медицина». 1975; 456.
 18. Решетняк В.И., Маев И.В., Решетняк Т.М., Журавель С.В., Писарев В.М. Заболевания печени и гемостаз (обзор) Часть II. Холеостатические заболевания печени и гемостаз. *Общая реаниматология*. 2019; 15 (6): 80–93. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-6-80-93
 19. Шилов А.В., Мнихович М.В., Калинин Р.Е., Сучков И.А., Кактурский Л.В., Рудницкий С.В., Нечаев Л.В. Морфологические изменения стенки сосудов при эндотелиальной дисфункции. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2017; 6 (2): 115–121. DOI: 10.18499/2225-7357-2017-6-2-115-121.
 20. Воробьева Е.Н., Шумахер Г.И., Хорева М.А., Осипова И.В. Дисфункция эндотелия – ключевое звено в патогенезе атеросклероза. *Российский кардиологический журнал*. 2010; 2: 84–91.
 21. Козлов В.И., Мельман Е.П., Нейко Е.М., Шутка Б.В. Гистофизиология капилляров. СПб.: «Наука», 1994; 234.
 22. Решетняк В.И., Маев И.В., Решетняк Т.М., Журавель С.В., Писарев В.М. Заболевания печени и гемостаз (обзор) Часть I. Нехолеостатические заболевания печени и гемостаз. *Общая реаниматология*. 2019; 15 (5): 74–87. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-5-74-87
 23. Семченко В.В., Войнов А.Ю., Голевцова З.Ш., Говорова Н.В., Щербачков П.Н. Гемостаз и сосудистый эндотелий при черепно-мозговой травме. Омск-Надьям: Омская областная типография; 2003: 168.
 24. Дерюгина А.В., Крылов В.Н., Шуμιлова А.В., Филиппенко Е.С., Бояринова Л.В., Соловьева О.Д. Использование мексикора для коррекции функциональных показателей эритроцитов крови крыс при моделировании черепно-мозговой травмы. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2015; 78 (8): 14–17. DOI: 10.30906/0869-2092-2015-78-8-14-17
 25. Deryugina A.V., Shumilova A.V., Filippenko E.S., Galkina Y.V., Simutis I.S., Boyarinov G.A. Functional and biochemical parameters of erythrocytes during mexicor treatment in posttraumatic period after experimental blood loss and combined traumatic brain injury. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017; 164 (1): 26–29. DOI: 10.1007/s10517-017-3918-4
 26. Бояринова Л.В., Бояринов Г.А., Соловьева О.Д., Военнов О.В., Зайцев Р.Р., Матюшкова Е.А. Коррекция активности свободнорадикального окисления мексикором у больных с сочетанной черепно-мозговой травмой. *Вестник интенсивной терапии*. 2014; 6: 43–46.
 27. Михин В.П., Григорьева Т.А., Цуканова Ю.А. Дисфункция сосудистого эндотелия у больных артериальной гипертензией на фоне сахарного диабета и возможность ее коррекции мексикором. *Фарматека. Кардиология/неврология*. 2008; 169 (15): 1–4.
 28. Михин В.П., Покровский М.В., Гуреев В.В., Чернова О.А., Алимченко Ю.В., Богословская Е.Н. Эффективность отечественного миокардиального цитопротектора и его фармакодинамика при острой ишемии миокарда: клинические результаты и экспериментальные модели. *Российский кардиологический журнал*. 2011; 2: 37–42.
 29. Серов Л.Н., Смирнов Л.Д., Шапошникова Г.И., Гуранова Н.Н. Клинико-экспериментальное исследование противоишемической и гиполлипидемической активности мексикора. *Клинические исследования лекарственных средств в России*. 2004; 1: 24–28.
 9. Churlyayev Yu.A., Redkokasha L.Yu. Role of Thrombocytic-Vascular Hemostasis in the Development of Pulmonary Complications in Severe Brain Injury. *Obschaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2006; 2 (4): 22–25. [In Russ.] DOI: 10.15360/1813-9779-2006-4-22-25
 10. Boyarinov G.A., Boyarinova L.V., Deryugina A.V., Solov'eva O.D., Zaytsev R.R., Voyennov O.V., Moshnina E.V., Shumilova A.V. Role of Secondary Brain Damage Factors in Activation of VascularPlatelet Hemostasis in Traumatic Brain Injury. *Obschaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2016; 12 (5): 42–51. [In Russ.] DOI: 10.15360/1813-9779-2016-5-42-51
 11. Voynov A.Yu., Golevtsova Z.Sh., Semchenko V.V. Hemostasis and vascular endothelium in severe traumatic brain injury. *Bull. SO RAMN*. 2002; 3: 35–44.
 12. Shapkin Yu.G., Stekolnikov N.Yu., Gamzatova P.K., Mamedova M.M. Correction of endothelial dysfunction in patients with severe frostbite injures. *Sovremennaya nauka: aktual'nye problemy teorii i praktiki. Seriya: Estestvennye i tekhnicheskie nauki*. 2017; 9: 106–109 [In Russ.].
 13. Boyarinova L.V., Boyarinov G.A., Voennov O.V., Zaitsev R.R., Matyushkova E.A., Solov'eva O.D., Moshnina E.V. Laboratory control of the effectiveness of antihypoxic therapy with mexicor in patients with combined traumatic brain injury. *Sovremennaya laboratoriya*. 2013; 2: 45–48 [In Russ.].
 14. Tsybalyuk V.I., Kochin O.V. Experimental modeling of head injury. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2008; 2: 10–12 [In Ukrainian].
 15. Reshetnyak V.I., Zhuravel S.V., Kuznetsova N.K., Pisarev V.M., Klych-nikova E.V., Syutkin V.E., Reshetnyak T.M. The System of Blood Coagulation in Normal and in Liver Transplantation (Review). *Obschaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2018; 14 (5): 58–84. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-5-58-84
 16. Ageev F.T. Correction of endothelial dysfunction – the key to the success of treatment of cardiovascular diseases. *Zhurnal serdechnaya nedostatochnost'* 2003; 4 (1): 54–60 [In Russ.].
 17. Chernukh A.M., Alexandrov P.N., Alekseev O.V. Microcirculation. M.: «Meditsina». 1975; 456. [In Russ.].
 18. Reshetnyak V.I., Maev I.V., Reshetnyak T.M., Zhuravel S.V., Pisarev V.M. Liver Disease and Hemostasis (Review) Part 2. Cholestatic Liver Disease and Hemostasis. *Obschaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2019; 15(6): 80–93. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-6-80-93
 19. Shilov A.V., Mnikhovich M.V., Kalinin R.E., Suchkov I.A., Kakturskiy L.V., Rudnitskiy S.V., Nechaev L.V. Morphological Changes in the Wall of Vessels in Endothelial Dysfunction. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2017; 6 (2): 115–121. [In Russ.]. DOI: 10.18499/2225-7357-2017-6-2-115-121
 20. Vorobyeva E.N., Shumakher G.I., Khoreva M.A., Osipova I.V. Endothelial dysfunction – a key factor in atherosclerosis pathogenesis. *Russian Journal of Cardiology*. 2010; (2): 84–91. [In Russ.].
 21. Kozlov V.I., Melman E.P., Neiko E.M., Shutka B.V. *Histophysiology of capillaries*. St. Petersburg: «Nauka», 1994; 234. [In Russ.].
 22. Reshetnyak V.I., Maev I.V., Reshetnyak T.M., Zhuravel S.V., Pisarev V.M. Liver Diseases and the Hemostasis (Review) Part 1. Non-Cholestatic Diseases of the Liver and Hemostasis. *Obschaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2019; 15 (5): 74–87. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-5-74-87
 23. Semchenko V. V., Voynov A. Yu., Golevtsova Z. Sh., Govorova N. V., Shcherbakov P. N. Hemostasis and vascular endothelium in cranio-cerebral trauma. Omsk-Nadyam: Omsk Regional Printing House; 2003: 168. [In Russ.].
 24. Deryugina A.V., Krylov V.N., Shumilova A.V., Filippenko E.S., Boyarinova L.V., Solovyova O.D. Using mexicor to correct the functional parameters of red blood cells in rats with traumatic brain injury model. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2015; 78 (8): 14–17. [In Russ.]. DOI: 10.30906/0869-2092-2015-78-8-14-17
 25. Deryugina A.V., Shumilova A.V., Filippenko E.S., Galkina Y.V., Simutis I.S., Boyarinov G.A. Functional and biochemical parameters of erythrocytes during mexicor treatment in posttraumatic period after experimental blood loss and combined traumatic brain injury. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017; 164 (1): 26–29 [In Russ.]. DOI: 10.1007/s10517-017-3918-4
 26. Boyarinova L.V., Boyarinov G.A., Solov'eva O.D., Voennov O.V., Zaytsev R.R., Matyushkova E.A. Correction of the activity of free radical oxidation by mexicor in patients with combined craniocerebral trauma. *Vestnik intensivnoy terapii*. 2014; 6: 43–46 [In Russ.].
 27. Mikhin V.P., Grigorieva T.A., Tsukanova Yu.A. Vascular endothelial dysfunction in patients with arterial hypertension on the background of diabetes mellitus and the possibility of its correction with mexicor. *Farmateka. Kardiologiya/nevrologiya*. 2008; 169 (15): 1–4. [In Russ.].
 28. Mikhin V.P., Pokrovskiy M.V., Gureev V.V., Chernova O.A., Alimenko Yu.V., Bogoslovskaya E.N. Domestic myocardial cytoprotector effectiveness and its pharmacodynamics in acute myocardial ischemia: clinical results and experimental models. *Russian Journal of Cardiology*. 2011; (2): 37–42. [In Russ.].
 29. Serov L.N., Smirnov L.D., Shaposhnikova G.I., Guranova N.N. Clinical and experimental study of anti-ischemic and hypolipidemic activity of mexicor. *Klinicheskie issledovaniya lekarstvennykh sredstv v Rossii*. 2004; 1: 24–28. [In Russ.].

Received 08.05.20

Поступила 03.07.20