

Структурная реорганизация миокарда при COVID-19

С.В. Савченко¹, А.Н. Ламанов¹, Б.И. Айзикович², В.А. Грицингер¹, Н.П. Бгатова³,
Ю.С. Таскаева³, Л.Л. Позднякова⁴, О.М. Шишкова⁴, Я.С. Ульянова⁴, Е.И. Филина⁴

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

³Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

⁴ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1» Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Развитие новой коронавирусной инфекции (COVID-19) не ограничивается поражением органов дыхания. Неблагоприятные исходы у пациентов с COVID-19 могут быть связаны с поражением сердца.

Ц е л ь . Изучение структурных изменений миокарда и молекулярно-биологических характеристик эндотелия кровеносных капилляров при тяжелых формах COVID-19.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Проведен анализ сведений, изложенных в медицинской документации – картах стационарного больного 73 умерших с двухсторонней вирусной полисегментарной пневмонией, вызванной вирусом SARS-CoV-2, а также данных 43 аутопсий пациентов, умерших («острая коронарная смерть») в период с сентября 2020 по июль 2021 г. Выполнена оценка некоторых клиничко-лабораторных данных (объем поражения легких, С-реактивный протеин, тропонин I, D-димер, фракция выброса левого желудочка и др.), структурных изменений миокарда и молекулярно-биологических характеристик (CD31, CD34) эндотелия кровеносных капилляров при тяжелых формах COVID-19.

Р е з у л ь т а т ы . Анализ клиничко-лабораторных данных показал, что снижение сократительной способности миокарда при тяжелых формах COVID-19 в связи с распространенным поражением легких сопровождалось повышением уровня С-реактивного протеина, D-димера, тропонина I и свидетельствовало об остром повреждении миокарда. По данным ЭКГ-контроля и эхокардиографии отмечали нарушение реполяризации и снижение сократительной способности, что сопровождалось снижением фракции выброса на 32 %. Более чем в 70 % случаев на ЭКГ наблюдали различные аритмические нарушения (фибрилляция предсердий и др.).

При световой микроскопии было отмечено наличие сладж-феномена, а также набухания, десквамации и пролиферации эндотелия кровеносных капилляров, образование диапедезных и очаговых кровоизлияний, местами краевое стояние лейкоцитов и их миграция за пределы сосудистого русла. В просвете сосудов наблюдали фибриновые массы. При поляризационной микроскопии, наряду с контрактурами кардиомиоцитов, наблюдали группы клеток с миоцитоллизом и первичным глыбчатым распадом. Во всех наблюдениях был выявлен липофусциноз кардиомиоцитов. При иммуногистохимическом исследовании отмечали выраженное снижение уровня экспрессии белков – маркеров кровеносных сосудов CD31 (PECAM-1) и CD34.

З а к л ю ч е н и е . Проведенный клиничко-морфологический анализ при тяжелых формах при COVID-19 позволил получить новые данные о дистрофических изменениях миокарда и структуры эндотелиоцитов кровеносных капилляров, которые могут быть положены в основу методических подходов для изучения механизмов развития сердечной недостаточности при новой коронавирусной инфекции.

Ключевые слова: COVID-19, миокард, эндотелий, морфология.

Образец цитирования: Савченко С.В., Ламанов А.Н., Айзикович Б.И., Грицингер В.А., Бгатова Н.П., Таскаева Ю.С., Позднякова Л.Л., Шишкова О.М., Ульянова Я.С., Филина Е.И. Структурная реорганизация миокарда при COVID-19 // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(3):91-101. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-3-91-101

Поступила в редакцию 05.08.2024
Прошла рецензирование 29.08.2024
Принята к публикации 02.09.2024

Автор, ответственный за переписку
Савченко Сергей Владимирович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: dr.serg62@yandex.ru

Received 05.08.2024
Revised 29.08.2024
Accepted 02.09.2024

Corresponding author
Sergey V. Savchenko: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: dr.serg62@yandex.ru

Structural reorganization of the myocardium in COVID-19

S.V. Savchenko¹, A.N. Lamanov¹, B.I. Aizikovich², V.A. Gritsinger¹, N.P. Bgatova³, Yu.S. Taskaeva³, L.L. Pozdnyakova⁴, O.M. Shishkova⁴, Ya.S. Ulyanova⁴, E.I. Filina⁴

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetic, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

⁴City Infectious Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . The development of a novel coronavirus infection (COVID-19) is not limited to respiratory damage. Adverse outcomes in patients with COVID-19 may be associated with cardiac damage.

A i m . Study of the structural changes in the myocardium and the molecular biological characteristics of the endothelium of blood capillaries in severe forms of COVID-19.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . An analysis of the medical documentation – inpatient records of 73 deceased with bilateral multisegmental viral pneumonia caused by the SARS-CoV-2 virus, as well as data from 43 autopsies of patients who died (sudden coronary death) between September 2020 to July 2021, was performed. An assessment of some clinical and laboratory data (degree of lung damage; levels of C-reactive protein, troponin I, D-dimer; left ventricular ejection fraction, etc.), structural changes in the myocardium and molecular biological characteristics (CD31, CD34) of the endothelium of blood capillaries in severe forms of COVID-19 was carried out.

R e s u l t s . The analysis of clinical and laboratory data has shown that a decrease in myocardial contractility in severe forms of COVID-19 due to an extensive lung damage was accompanied by an increase in the level of C-reactive protein, D-dimer, troponin I and indicated acute myocardial damage. According to electrocardiography (ECG) monitoring and echocardiography, repolarization disorders and a decrease in myocardial contractility were noted, which was accompanied by a decrease in ejection fraction by 32%. In more than 70% of cases, various arrhythmic disorders (atrial fibrillation, etc.) were observed during ECG.

Light microscopy revealed the presence of sludge phenomenon, as well as swelling, desquamation and proliferation of the endothelium of blood capillaries, formation of diapedetic and focal hemorrhages, in some places leukocyte margination and their migration beyond vascular bed. Fibrin masses were observed in the lumen of blood vessels. Polarization microscopy, along with contractures in cardiomyocytes, revealed groups of cells with myocytolysis and primary granularity. In all observations, lipofuscinosis of cardiomyocytes was detected. Immunohistochemical examination showed a marked decrease in the expression level of CD31 (PECAM-1) and CD34 proteins – markers of blood vessels.

C o n c l u s i o n . The performed clinical and morphological analysis in severe forms of COVID-19 allowed us to obtain new data on degenerative changes in the myocardium and the structure of endothelial cells of blood capillaries, which can be used as a basis for methodological approaches to studying the mechanisms of development of heart failure in a novel coronavirus infection.

Keywords: COVID-19, myocardium, endothelium, morphology.

Citation example: Savchenko S.V., Lamanov A.N., Aizikovich B.I., Gritsinger V.A., Bgatova N.P., Taskaeva Yu.S., Pozdnyakova L.L., Shishkova O.M., Ulyanova Ya.S., Filina E.I. Structural reorganization of the myocardium in COVID-19. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(3):91-101. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-3-91-101

ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе мультидисциплинарного изучения инфекционного заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, установлено, что развитие новой коронавирусной инфекции (COVID-19) не ограничивается поражением органов дыхания [1–4]. Неблагоприятные исходы у пациентов с COVID-19, наряду с поражением легких, могут быть связаны с развитием

INTRODUCTION

At the current stage of multidisciplinary study of the infectious disease caused by the SARS-CoV-2 virus, it has been established that the development of a novel coronavirus infection (COVID-19) is not limited to damage to the respiratory organs [1–4]. Adverse outcomes in patients with COVID-19, along with lung damage, may be associated with the development of complications due to cardiac damage

осложнений, обусловленных поражением сердца [5–8]. Развитие при COVID-19 разнообразной клинической симптоматики, ассоциированное с сердечной недостаточностью, связывают с генерализованным поражением сосудистого русла и развитием прогрессирующих микроциркуляторных расстройств миокарда [9–12]. Получение новых данных о структурных изменениях эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда может быть положено в основу методических подходов для изучения механизмов развития сердечной недостаточности при COVID-19.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение структурных изменений миокарда и молекулярно-биологических характеристик эндотелия кровеносных капилляров при тяжелых формах COVID-19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На первом этапе исследования был проведен анализ данных медицинских документов – карт стационарного больного 73 умерших с двухсторонней вирусной полисегментарной пневмонией, вызванной вирусом SARS-CoV-2, в период с сентября 2020 по июль 2021 г. в ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1» г. Новосибирска. Во всех наблюдениях новая коронавирусная инфекция (COVID-19) у пациентов протекала в тяжелой форме. Инфицирование вирусом SARS-CoV-2 было верифицировано прижизненно с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Пациенты получали лечение в полном соответствии с «Временными клиническими рекомендациями по лечению новой коронавирусной инфекции» (версии 9–11, ноябрь 2020 г. – июль 2021 г.).

Из числа умерших в клинике 56.16 % составили мужчины (41 чел.) и 43.4 % (32 чел.) – женщины. Лиц до 65 лет среди умерших было 63.2 %, старше 65 лет – 36.8 %. У большинства пациентов (79.45 %, 58 чел.) имелись коморбидные заболевания в стадии компенсации, среди которых наиболее частыми были различные формы ишемической болезни сердца, гипертоническая болезнь, сахарный диабет, различной степени ожирение, кардиомиопатии, пиелонефрит и др. Прогрессирующая тяжесть клинических симптомов коррелировала с увеличением площади инфильтративных изменений легких, превышающих 70 %.

Для проведения морфологических исследований была сформирована основная группа, кото-

[5–8]. The development of various clinical symptomatology associated with cardiac insufficiency in COVID-19 is linked with the systemic damage to vascular bed and development of progressive microcirculatory disorders of the myocardium [9–12]. Obtaining new data on structural changes in endothelial cells of myocardial blood capillaries can form the basis for methodological approaches to studying the mechanisms of cardiac insufficiency development in COVID-19.

AIM OF THE RESEARCH

Study of the structural changes in the myocardium and molecular biological characteristics of endothelium of blood capillaries in severe forms of COVID-19.

MATERIALS AND METHODS

At the first stage of the study, the data on medical documents – inpatient records of 73 deceased patients with bilateral multisegmental viral pneumonia caused by the SARS-CoV-2 virus between September 2020 and July 2021 in the Novosibirsk City Infectious Clinical Hospital No. 1 were analyzed. In all observations, in patients was severe novel coronavirus infection (COVID-19). Infection with the SARS-CoV-2 virus was confirmed intra vitam using polymerase chain reaction (PCR). Patients received treatment in full compliance with the Temporary Clinical Guidelines for the Treatment of a Novel Coronavirus Infection (versions 9-11, November 2020 – July 2021).

Of those who died in the hospital, 56.16% were men (41 patients) and 43.4% (32 patients) were women. Among the deceased, 63.2% were under 65 years of age, and 36.8% were over 65 years of age. Most patients (79.45%, 58 people) had well-controlled comorbidities among which the most common were various forms of coronary heart disease, hypertension, diabetes mellitus, varying degrees of obesity, cardiomyopathy, pyelonephritis, etc. The progressive severity of clinical symptoms correlated with an increase in the area of infiltrative changes in the lungs, exceeding 70%.

To perform morphological study, the main group was formed, which consisted of 43 male and female cadavers aged from 39 to 68 years, the average age was 53 ± 5.45 years. During autopsy myocardial fragments from the anterior, lateral, posterior walls of the left ventricle and the septum of the heart of deceased from COVID-19 were collected. The control group consisted of 15 deceased (sudden coronary death), delivered by ambulance, their average age was 47 ± 4.5 years ($p < 0.05$). Myocardial samples

рую составили 43 трупа мужского и женского пола в возрасте от 39 до 68 лет, средний возраст 53 ± 5.45 года. На аутопсии осуществлялся забор фрагментов миокарда из области передней, боковой, задней стенок левого желудочка и перегородки сердца умерших от COVID-19. Группу контроля составили 15 скоропостижно умерших мужчин («острая коронарная смерть»), доставленных машиной скорой помощи, их средний возраст составил 47 ± 4.5 года ($p < 0.05$). Образцы миокарда из трех областей левого желудочка и перегородки были взяты на аутопсии в первые 12 ч после наступления смерти. Критериями включения в контрольную группу были возраст 43–55 лет и наличие на аутопсии начальных поражений венечных артерий атеросклерозом в стадии липоидоза и липосклероза.

При проведении работы с трупным материалом соблюдались требования и условия в соответствии с законодательством РФ и Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Исследование одобрено Комитетом по этике Новосибирского государственного медицинского университета (протокол № 138 от 21.10.2021).

Для световой и поляризационной микроскопии фрагменты фиксировали в 10% забуференном формалине, после чего проводили стандартную проводку материала в гистопроцессоре с последующим заключением в парафин. На ротационном микротоме изготавливали срезы толщиной около 5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. При помощи компьютерной программы Leica QWin (Leica, Германия) на световом уровне оценивали патоморфологические изменения в сердечной мышце при увеличении микроскопа $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$. Для определения альтеративных изменений была выполнена микроскопия в поляризованном свете на микроскопе Leica DM 4000B (Leica, Германия), который был оснащен анализатором и поляризатором. Для селективного выявления фибрина срезы миокарда окрашивали по методике оранжевый-красный-голубой Д.Д. Зербино [13].

Для иммуногистохимического (ИГХ) исследования парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм депарафинизировали в ксилоле и этиловом спирте, производили демаскировку антигенов тканей в цитратном буфере. ИГХ-окрашивание выполняли согласно рекомендациям, изложенным в руководствах по иммуногистохимическим исследованиям и инструкциям фирм-производителей. Использовали антитела: monoclonal

from three regions of the left ventricle and septum were taken during autopsy in the first 12 hours after death. The inclusion criteria for the control group were: age 43–55 years and the presence of initial atherosclerotic lesions of the coronary arteries in the form of lipoidosis and liposclerosis on autopsy.

When working with autopsied specimens, the requirements and conditions of the legislation of the Russian Federation and the Declaration of Helsinki of the World Medical Association were observed. The study was approved by the Ethics Committee of the Novosibirsk State Medical University (protocol No. 138 dated 21.10.2021).

For light and polarization microscopy, the samples were fixed in 10% buffered formalin, following that standard processing in a histoprocessor with subsequent embedding in paraffin was conducted. Sections of 5 μm thickness were made on a rotary microtome and stained with hematoxylin and eosin. Using the Leica QWin computer program (Leica, Germany), pathomorphological changes in the heart muscle were assessed by light microscopy at magnification $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$. To determine alternative changes, polarized light microscopy was applied using a Leica DM 4000B microscope (Leica, Germany), equipped with an analyzer and a polarizer. For selective detection of fibrin, myocardial sections were stained using Martius, scarlet, blue (MSB) method according to D.D. Zerbino [13].

For immunohistochemical (IHC) study, 4–5 μm paraffin sections were deparaffinized in xylene and ethyl alcohol, and tissue antigen retrieval was performed in citrate buffer. IHC staining was performed according to the recommendations of immunohistochemical study guidelines and the manufacturers' manuals. The following antibodies were used: monoclonal mouse antibody CD31 endothelial cell (clone JC70, Cell Marque, USA), monoclonal mouse antibody CD34 endothelial cell (clone QBEnd/10, Cell Marque, USA). CD31 and CD34 expression was assessed quantitatively by counting the volume density of positively stained vascular cells at magnification $\times 400$ using an open test system in 15 fields of view of each preparation. Morphometric assessment was performed using the ImageJ program (Wayne Rasband, USA).

Statistical processing was carried out using licensed Microsoft Office Excel 2010 software (Microsoft, USA) and STATISTICA v. 6 (StatSoft Inc., USA). The results in tables and diagrams for quantitative values of structural and immunohistochemical parameters are presented as the arithmetic mean (M) and standard deviation (SD), for qualitative parameters – as values and percentages. The fig-

mouse antibody CD31 endothelial cell (клон JC70, Cell Marque, США), monoclonal mouse antibody CD34 endothelial cell (клон QBEnd/10, Cell Marque, США). Экспрессию CD31 и CD34 оценивали количественно путем подсчета объемной плотности позитивных клеток сосудов при увеличении $\times 400$ с использованием открытой тестовой системы в 15 полях зрения каждого препарата. Морфометрическая оценка проводилась с помощью компьютерной программы ImageJ (Wayne Rasband, США).

Статистическая обработка была проведена с использованием лицензированного пакета программ Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft, США) и STATISTICA v. 6 (StatSoft Inc., США). Результаты в таблицах и диаграммах для количественных величин структурных и иммуногистохимических показателей представлены в виде средней арифметической величины (М) и стандартного отклонения (SD), для качественных величин – как значения и проценты. Показатели исследования проверялись на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Межгрупповые различия оценивали, используя *U*-критерий Манна – Уитни, при уровне достоверной вероятности 95 % ($p < 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке данных карт стационарного больного у пациентов с тяжелыми формами COVID-19 отмечали обширное поражение легких, превышающее во всех наблюдениях 70 % суммарной площади органов. У всех пациентов было статистически значимое повышение С-реактивного протеина, показатель которого возрастал более чем в 100 раз относительно референсных значений (табл. 1). По мере прогрессирования COVID-19 с повторными цитокиновыми атаками возрастал в несколько раз D-димер, как информативный критерий повреждения эндотелия у пациентов с тяжелыми формами новой коронавирусной инфекции. Было отмечено возрастание более чем в 3 раза тропонина I, что свидетельствовало об остром повреждении миокарда. Информативным показателем снижения сократительной способности миокарда левого желудочка явились данные эхокардиографического исследования, при котором отмечали снижение фракции выброса левого желудочка на 32 %. По данным ЭКГ-контроля функциональной деятельности сердца у всех пациентов отмечали нарушение реполяризации. Более чем в 70 % слу-

ures obtained were checked for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov test. Differences between groups were assessed using the Mann-Whitney *U*-test at a 95% confidence level ($p < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

When evaluating the inpatient records of individuals with severe COVID-19, extensive lung damage was noted, exceeding 70% of the total organ area in all cases. All patients had a statistically significant increase in the C-reactive protein level which was higher more than 100 times relative to the reference values (Table 1). As COVID-19 progressed with repeated cytokine storms, D-dimer increased several times as an informative criterion for endothelial damage in patients with severe COVID-19. An increase in troponin I by more than 3 times was registered, which indicated acute myocardial damage. An informative marker of a decrease in left ventricular myocardial contractility were echocardiographic (ECG) findings, namely a decrease in left ventricular ejection fraction by 32%. According to the ECG monitoring data, all patients showed impaired repolarization. In more than 70% of cases, various arrhythmic disorders were observed on the ECG, among which atrial fibrillation was predominant. In every third case, persistent resistant arterial hypotension was observed with average blood pressure values less than 50 mm Hg, despite the use of vasopressors, which was associated with a decrease in myocardial contractility and peripheral vascular resistance.

Light microscopy has revealed that the development of severe COVID-19 in patients with fatal outcome was accompanied by acute impairment of blood circulation. Paresis and congestion of veins, spasm of intramural coronary arteries with vertical extension of endothelial cells into the vessel lumen, stasis of erythrocytes, in some places, with a phenomenon of sludge (Fig. 1, A, B), were observed. Endothelial cells of blood capillaries were extremely swollen (Fig. 1, C). The presence of diapedetic and focal hemorrhages was noted, formation of which was associated with impaired vascular permeability. Leukostasis in the lumen of vessels, occasionally leukocyte margination and their migration outside the vascular bed were found. The appearance of fibrin masses in the lumen of vessels was observed, which was due to the process of intravascular thrombus formation. Fibrin clots were stained in various colors – Martius yellow, scarlet, blue and their shades, which made it possible to judge the age of thrombi formation [13].

The described pathohistological changes were accompanied by myocardial ischemia (Fig. 1, D) and

Таблица 1. Характеристика клинико-функциональных и лабораторных показателей у пациентов с тяжелой формой COVID-19**Table 1.** Clinical, functional and laboratory parameters in patients with severe COVID-19

Показатель Parameter	Нормальные значения Reference values	Тяжелые формы COVID-19 Severe COVID-19
С-реактивный протеин (мг/л) C-reactive protein (mg/l)	0–5	137.03*
Тропонин I (нг/мл) / Troponin I (ng/ml)	0–1	3.7*
D-димер (нг/мл) / D-dimer (ng/ml)	250	420*
Поражение легких (%) / Lung damage area (%)	–	73.1*
Фракция выброса левого желудочка (%) Left ventricular ejection fraction (%)	55–70	43.5*

* $p < 0.05$ при сравнении с нормальными значениями. $p < 0.05$ in comparison with the reference values.

чаев на ЭКГ наблюдали различные аритмические нарушения, среди которых превалировала фибрилляция предсердий. В каждом третьем случае наблюдали стойкую резистентную артериальную гипотонию, при которой средние показатели АД были менее 50 мм рт. ст., несмотря на использование вазопрессорных препаратов, что было связано со снижением сократительной способности миокарда и периферического сосудистого сопротивления.

При световой микроскопии было отмечено, что развитие тяжелых форм новой коронавирусной инфекции (COVID-19) у пациентов с летальным исходом сопровождалось острыми нарушениями кровообращения. Наблюдали парез и полнокровие вен, спазм интрамуральных артерий с вертикальным вытягиванием эндотелиоцитов в просвет сосуда, стазы эритроцитов, местами с явлением сладж-феномена (рис. 1, А, В). Эндотелиальные клетки кровеносных капилляров были резко набухшими (рис. 1, С). Отмечали наличие диапедезных и очаговых кровоизлияний, образование которых было связано с нарушением проницаемости сосудистой стенки. В просвете сосудов были обнаружены лейкостазы, местами краевое стояние лейкоцитов и их миграция за пределы сосудистого русла. Наблюдали появление в просвете сосудов фибриновых масс, что было обусловлено процессом внутрисосудистого тромбообразования. Фибриновые тромбы были окрашены в различные цвета – оранжевый, красный, фиолетовый и их оттенки, что позволяло судить о давности образования тромбов [13].

Описанные патогистологические изменения сопровождались ишемией мышцы сердца (рис. 1, D) и образованием острых очаговых повреждений миокарда, выявляемых при поля-

the formation of acute focal myocardial damage detected by polarization microscopy. In patients who died from severe COVID-19, multiple segmental cardiomyocyte contractures, as well as contractures of grades I, II and III, were recorded in the myocardium. At least 2–3 contractures in one field of view were observed, which were most often detected in the subendocardial layers of the myocardium of the left ventricle. Along with contractures, single cardiomyocytes or small groups of cells with myocytolysis or primary granulation were visible. In addition, lipofuscinosis in the form of small lipid inclusions in individual groups of cardiomyocytes was detected. Lipofuscinosis, as well as all the abovementioned pathomorphological changes, were present in all cases of COVID-19 and were associated with degenerative changes of the myocardium.

The revealed features of endothelial damage in COVID-19 correlated with the data of IHC which was carried out to determine the expression level of the blood vessel markers – CD31 (PECAM-1) and CD34 proteins. Endothelial cells of myocardial blood vessel in severe COVID-19 were characterized by a pronounced decrease in the level of the blood vessel markers expression – CD31 (PECAM-1) and CD34 proteins (Table 2).

The results obtained are consistent with the literature data that the inflammatory response in COVID-19 is an important factor in the development of severe microcirculatory disorders, accompanied by endothelial cell alteration, endothelial-mesenchymal transition, endothelial dysfunction and endothelial destruction, with the presence of detectable circulating endothelial cells [13–15].

Thus, the analysis of clinical and laboratory data showed that a decrease in myocardial contractility in severe forms of COVID-19 is associated with an increase in the level of C-reactive protein, D-dimer,

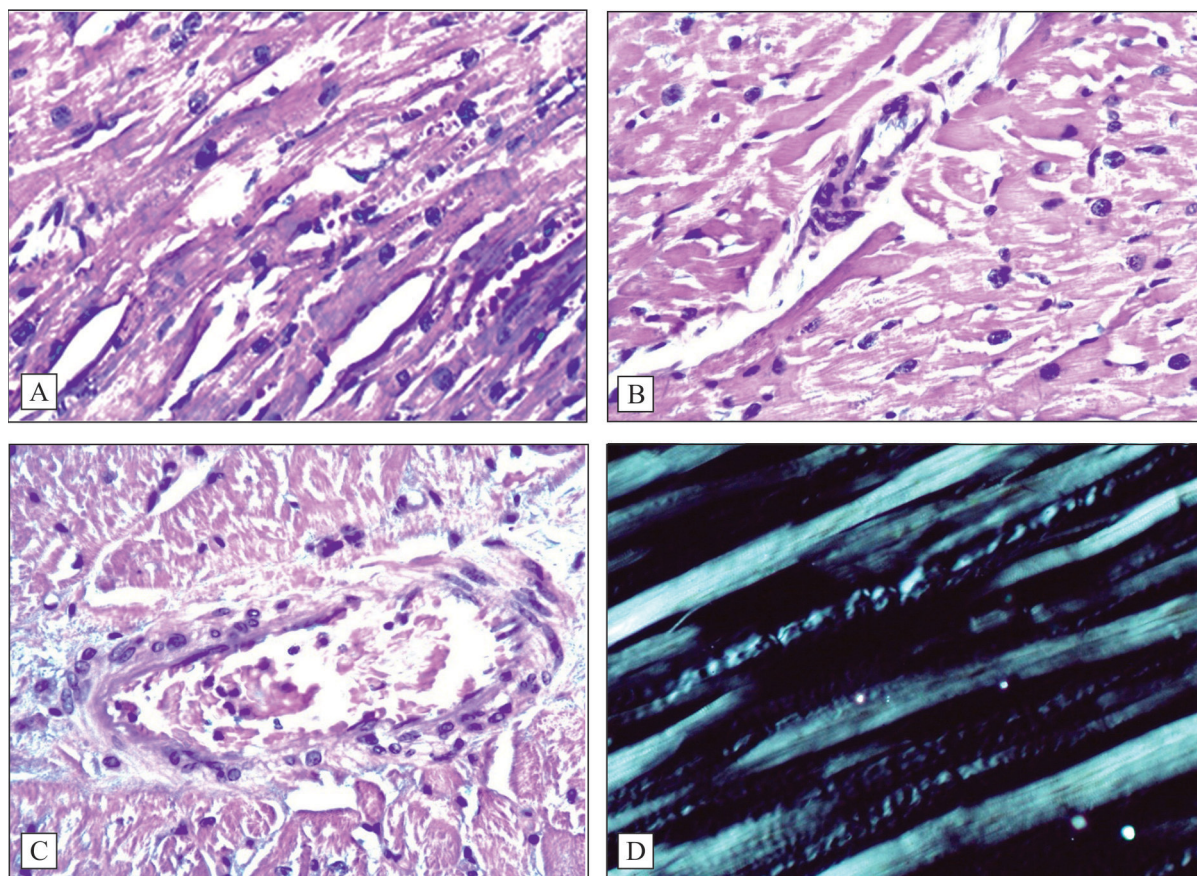


Рис. 1. Морфология миокарда у пациентов с COVID-19: А – агрегация, сладжирование эритроцитов в капиллярах, отек стромы миокарда. Увеличение (ув.) $\times 200$. Окраска гематоксилином и эозином; В – эндотелиоциты спазмированной артерии в виде частоккола, отек стенки сосуда, десквамация эндотелия, метахромазия и продольное расщепление кардиомиоцитов, отек стромы. Ув. $\times 100$. Окраска гематоксилином и эозином; С – отек стенки артерии, набухание эндотелия, эндотелиоциты в виде частоккола, в просвете – клетки белой крови, фибриновые массы. Ув. $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином; D – контрактуры III степени и глыбчатый распад кардиомиоцитов. Ув. $\times 200$. Поляризационная микроскопия

Fig. 1. Myocardial morphology in patients with COVID-19: A – aggregation, sludge formation of erythrocytes in capillaries, edema of the myocardial stroma. Magnification $\times 200$. Hematoxylin and eosin staining; B – endothelial cells of the stenotic artery in the form of a picket fence, edema of the vessel wall, endothelial desquamation, metachromasia and longitudinal splitting of cardiomyocytes, stromal edema. Magnification $\times 100$. Hematoxylin and eosin staining; C – edema of the artery wall, swelling of the endothelium, endothelial cells in the form of a picket fence, in the lumen – white blood cells, fibrin masses. Magnification $\times 400$. Hematoxylin and eosin staining; D – grade III contractures and granularity of cardiomyocytes. Magnification $\times 200$. Polarization microscopy

ризационной микроскопии. У пациентов, умерших от тяжелых форм COVID-19, было отмечено наличие в миокарде множественных сегментарных контрактур кардиомиоцитов, а также контрактур I, II и III степени. Наблюдали не менее 2–3 контрактур в одном поле зрения, которые чаще выявляли в субэндокардиальных слоях миокарда левого желудочка сердца. Наряду с контрактурами, просматривались единичные кардиомиоциты или небольшие группы клеток с миоцитолизисом или первичным глыбчатым распадом. Кроме того, был выявлен липофусциноз в виде мелких жировых включений в отдель-

тропонин I, which indicated acute myocardial damage. An informative indicator of the decrease in contractility of the left ventricular myocardium were the echocardiography and ECG monitoring data.

In addition, in severe forms of COVID-19, structural changes in the myocardium were characterized by acute circulatory disorders, focal hemorrhages, edema, desquamation and proliferation of the endothelium of blood vessels, as well as the formation of acute focal myocardial damage and lipofuscinosis of cardiomyocytes, which is associated with endothelial dysfunction and is accompanied by a decrease in the left ventricular myocardial contractility. In severe

Таблица 2. Иммуногистохимическое исследование: объемная плотность (Vv, %) CD31 и CD34 кровеносных сосудов миокарда у пациентов с COVID-19 и в группе контроля (M ± SD)**Table 2.** Immunohistochemical study: volume density (Vv, %) of CD31 and CD34 in myocardial blood vessels in patients with COVID-19 and in the control group (M ± SD)

Показатель / Parameter	Контрольная группа / Control group	Основная группа / Main group
CD31	4.11 ± 1.59	1.69 ± 1.33*
CD34	6.12 ± 1.78	2.35 ± 2.00*

* $p < 0.0005$ при сравнении с контрольной группой. $p < 0.0005$ in comparison with the control group.

ных группах кардиомиоцитов. Липофусциноз, так же как и все вышеуказанные патоморфологические изменения, был представлен во всех наблюдениях COVID-19 и был связан с дистрофическими изменениями миокарда.

Выявленные особенности поражения эндотелия при COVID-19 коррелировали с данными, полученными при проведении ИГХ-исследования, которое проводилось с целью определения уровня экспрессии белков – маркеров кровеносных сосудов CD31 (PECAM-1) и CD34. Эндотелиоциты кровеносных сосудов миокарда при тяжелом течении COVID-19 характеризовались выраженным снижением уровня экспрессии белков – маркеров кровеносных сосудов CD31 (PECAM-1) и CD34 (табл. 2).

Полученные результаты согласуются с данными литературы о том, что воспалительная реакция при COVID-19 является важным фактором развития выраженных микроциркуляторных расстройств, сопровождающихся альтерацией эндотелиоцитов, эндотелиально-мезенхимальным переходом, эндотелиальной дисфункцией и эндотелиальной деструкцией, с наличием выявляемых циркулирующих эндотелиальных клеток [13–15].

Таким образом, анализ клинико-лабораторных данных показал, что снижение сократительной способности миокарда при тяжелых формах COVID-19 связано с повышением уровня С-реактивного протеина, D-димера, тропонина I, что свидетельствовало об остром повреждении миокарда. Информативным показателем снижения сократительной способности миокарда левого желудочка явились данные эхокардиографического исследования и ЭКГ-контроля.

Кроме того, при тяжелых формах COVID-19 структурные изменения миокарда характеризовались острыми расстройствами кровообращения, очаговыми кровоизлияниями, отеком, десквамацией и пролиферацией эндотелия кровеносных сосудов, также образованием

формы COVID-19, changes in the molecular characteristics of the endothelium of myocardial blood capillaries – a decrease in the expression of CD31 (by 2.4 times, $p < 0.0005$) and CD34 (by 2.6 times, $p < 0.0005$), which reflects the developing impairments in the intercellular interaction of endothelial cells and is associated with progressive endothelial dysfunction in a novel coronavirus infection.

CONCLUSION

The obtained data on degenerative changes in the myocardium and the structure of endothelial cells of blood capillaries are a morphological substantiation for cardiac symptomatology in severe forms of COVID-19 and can be used as a basis for methodological approaches to studying mechanisms of development of heart failure in a novel coronavirus infection.

Financing. The research was carried out within the framework of the state assignment No. NFWNR-2022-0012 of the Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

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

острых очаговых повреждений миокарда и липофусцинозом кардиомиоцитов, что связано с эндотелиальной дисфункцией и сопровождается снижением сократительной способности мышцы левого желудочка сердца. При тяжелых формах COVID-19 были выявлены изменения молекулярных характеристик эндотелия кровеносных капилляров миокарда в виде снижения экспрессии маркеров CD31 (в 2.4 раза, $p < 0.0005$) и CD34 (в 2.6 раза,

$p < 0.0005$), что отражает развивающиеся нарушения межклеточного взаимодействия эндотелиоцитов и связано с прогрессирующей при новой коронавирусной инфекции дисфункции эндотелия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные о дистрофических изменениях миокарда и структуры эндотелиоцитов кровеносных капилляров являются морфологическим обоснованием кардиальной симптоматики при тяжелых формах COVID-19 и могут быть положены в основу методических подходов для изучения механизмов развития сердечной

недостаточности при новой коронавирусной инфекции.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № NFWNR-2022-0012 Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Guo T., Fan Y., Chen M. et al. Cardiovascular implications of fatal outcomes of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) // *JAMA Cardiol.* 2020;5(7):811-818. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1017.
- Italia L., Tomasoni D., Bisegna S. et al. COVID-19 and heart failure: from epidemiology during the pandemic to myocardial injury, myocarditis, and heart failure sequelae // *Front. Cardiovasc. Med.* 2021;8:713560. DOI: 10.3389/fcvm.2021.713560.
- Liu P.P., Blet A., Smyth D., Li H. The science underlying COVID-19: implications for the cardiovascular system // *Circulation.* 2020;142(1):68-78. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047549.
- Shi S., Qin M., Shen B. et al. Association of cardiac injury with mortality in hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China // *JAMA Cardiol.* 2020;5(7):802-810. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.0950.
- Рыбакова М.Г., Карев В.Е., Кузнецова И.А. Патологическая анатомия новой коронавирусной инфекции COVID-19. Первые впечатления // *Архив патологии.* 2020;82(5):5-15. DOI: 10.17116/patol12020820515.
- Arévalos V., Ortega-Paz L., Rodríguez-Arias J.J. et al. Myocardial injury in COVID-19 patients: association with inflammation, coagulopathy and in-hospital prognosis // *J. Clin. Med.* 2021;10(10):2096. DOI: 10.3390/jcm10102096.
- Basso C., Leone O., Rizzo S. et al. Pathological features of COVID-19-associated myocardial injury: a multi-centre cardiovascular pathology study // *Eur. Heart J.* 2020;41(39):3827-3835. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa66431.
- Roquetaillade C., Chousterman B.G., Tomasoni D. et al. Unusual arterial thrombotic events in Covid-19 patients // *Int. J. Cardiol.* 2021;323:281-284. DOI: 10.1016/j.ijcard.2020.08.103.
- Ackermann M., Verleden S.E., Kuehnel M. et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19 // *N. Engl. J. Med.* 2020;383(2):120-128. DOI: 10.1056/NEJMoa2015432.
- Goshua G., Pine A.B., Meizlish M.L. et al. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study // *Lancet*

REFERENCES

- Guo T., Fan Y., Chen M. et al. Cardiovascular implications of fatal outcomes of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol.* 2020;5(7):811-818. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1017.
- Italia L., Tomasoni D., Bisegna S. et al. COVID-19 and heart failure: from epidemiology during the pandemic to myocardial injury, myocarditis, and heart failure sequelae. *Front. Cardiovasc. Med.* 2021;8:713560. DOI: 10.3389/fcvm.2021.713560.
- Liu P.P., Blet A., Smyth D., Li H. The science underlying COVID-19: implications for the cardiovascular system. *Circulation.* 2020;142(1):68-78. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047549.
- Shi S., Qin M., Shen B. et al. Association of cardiac injury with mortality in hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol.* 2020;5(7):802-810. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.0950.
- Rybakova M.G., Karev V.E., Kuznetsova I.A. Anatomical pathology of novel coronavirus (COVID-19) infection. First impressions. *Archive of Pathology.* 2020;82(5):5-15. DOI: 10.17116/patol12020820515. (In Russ.)
- Arévalos V., Ortega-Paz L., Rodríguez-Arias J.J. et al. Myocardial injury in COVID-19 patients: association with inflammation, coagulopathy and in-hospital prognosis. *J. Clin. Med.* 2021;10(10):2096. DOI: 10.3390/jcm10102096.
- Basso C., Leone O., Rizzo S. et al. Pathological features of COVID-19-associated myocardial injury: a multi-centre cardiovascular pathology study. *Eur. Heart J.* 2020; 41(39):3827-3835. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa66431.
- Roquetaillade C., Chousterman B.G., Tomasoni D. et al. Unusual arterial thrombotic events in Covid-19 patients. *Int. J. Cardiol.* 2021;323:281-284. DOI: 10.1016/j.ijcard.2020.08.103.
- Ackermann M., Verleden S.E., Kuehnel M. et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. *N. Engl. J. Med.* 2020;383(2):120-128. DOI: 10.1056/NEJMoa2015432.
- Goshua G., Pine A.B., Meizlish M.L. et al. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study. *Lan-*

- Haematol. 2020;7(8):e575-e582. DOI: 10.1016/S2352-3026(20)30216-7.
11. Iba T., Connors J.M., Levy J.H. The coagulopathy, endotheliopathy, and vasculitis of COVID-19 // *Inflamm. Res.* 2020;69(12):1181-1189. DOI: 10.1007/s00011-020-01401-6.
 12. Xu S.W., Ilyas I., Weng J.P. Endothelial dysfunction in COVID-19: an overview of evidence, biomarkers, mechanisms and potential therapies // *Acta Pharmacol. Sin.* 2023;44(4):695-709. DOI: 10.1038/s41401-022-00998-0.
 13. Саенко А.В. Оценка состояния фибрина для определения давности механической травмы // Актуальные вопросы теории и практики судебной медицины. М., 1998. С. 71–72.
 14. Guervilly C., Burtsey S., Sabatier F. et al. Circulating endothelial cells as a marker of endothelial injury in severe COVID-19 // *J. Infect. Dis.* 2020;222(11):1789-1793. DOI: 10.1093/infdis/jiaa528.
 15. Mancuso P., Gidaro A., Gregato G. et al. Circulating endothelial progenitors are increased in COVID-19 patients and correlate with SARS-CoV-2 RNA in severe cases // *J. Thromb. Haemost.* 2020;18(10):2744-2750. DOI: 10.1111/jth.15044.
- cet Haematol.* 2020;7(8):e575-e582. DOI: 10.1016/S2352-3026(20)30216-7.
11. Iba T., Connors J.M., Levy J.H. The coagulopathy, endotheliopathy, and vasculitis of COVID-19. *Inflamm. Res.* 2020;69(12):1181-1189. DOI: 10.1007/s00011-020-01401-6.
 12. Xu S.W., Ilyas I., Weng J.P. Endothelial dysfunction in COVID-19: an overview of evidence, biomarkers, mechanisms and potential therapies. *Acta Pharmacol. Sin.* 2023;44(4):695-709. DOI: 10.1038/s41401-022-00998-0.
 13. Saenko A.V. (1998). Assessment of fibrin to determine the duration of mechanical injury. In *Current Issues in the Theory and Practice of Forensic Medicine*. Moscow. P. 71–72. (In Russ.)
 14. Guervilly C., Burtsey S., Sabatier F. et al. Circulating endothelial cells as a marker of endothelial injury in severe COVID-19. *J. Infect. Dis.* 2020;222(11):1789-1793. DOI: 10.1093/infdis/jiaa528.
 15. Mancuso P., Gidaro A., Gregato G. et al. Circulating endothelial progenitors are increased in COVID-19 patients and correlate with SARS-CoV-2 RNA in severe cases. *J. Thromb. Haemost.* 2020;18(10):2744-2750. DOI: 10.1111/jth.15044.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Савченко Сергей Владимирович – врач – судебно-медицинский эксперт и патологоанатом, д-р мед. наук, профессор кафедры судебной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-8525-5883.

Ламанов Алексей Николаевич – врач – судебно-медицинский эксперт и патологоанатом, ассистент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-3495-1491.

Айзикович Борис Исаевич – д-р мед. наук, профессор кафедры фундаментальной медицины ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательских государственный медицинский университет», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-2724-6273.

Грицингер Валентина Александровна – врач – судебно-медицинский эксперт, канд. мед. наук, старший преподаватель кафедры судебной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-4119-3569.

Бгатова Наталия Петровна – д-р биологических наук, профессор, заведующий лабораторией ультраструктурных исследований Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-4507-093X.

Таскаева Юлия Сергеевна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории ультра-

ABOUT THE AUTHORS

Sergey V. Savchenko – Forensic Physician and Pathologist, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Forensic Medicine, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-8525-5883.

Alexey N. Lamanov – Forensic Physician and Pathologist, Assistant, Department of Forensic Medicine, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-3495-1491.

Boris I. Aizikovich – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Fundamental Medicine, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2724-6273.

Valentina A. Gritsinger – Forensic Physician and Pathologist, Cand. Sci. (Med.), Senior Lecturer, Department of Forensic Medicine, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-4119-3569.

Natalia P. Bgatova – Dr. Sci. (Bio.), Professor, Head, Laboratory of Ultrastructural Research, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-4507-093X.

Yulia S. Taskaeva – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Ultrastructural Research, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-2812-2574.

Larisa L. Pozdnyakova – Cand. Sci. (Med.), Chief Physician, City Infectious Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia.

траструктурных исследований Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-2812-2574.

Позднякова Лариса Леонидовна – канд. мед. наук, главный врач ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия.

Шишкова Ольга Михайловна – канд. мед. наук, заведующий патологоанатомическим отделением ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия.

Ульянова Яна Сергеевна – канд. мед. наук, заместитель главного врача по медицинской части ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия.

Филина Елена Ивановна – канд. мед. наук, заведующий диагностическим отделением ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия.

Olga M. Shishkova – Cand. Sci. (Med.), Head, Pathological Anatomy Department, City Infectious Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia.

Yana S. Ulyanova – Cand. Sci. (Med.), Deputy Chief Physician for Medical Affairs, City Infectious Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia.

Elena I. Filina – Cand. Sci. (Med.), Head, Diagnostic Department, City Infectious Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia.

