ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Ламанов Алексей Николаевич

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ КРОВЕНОСНЫХ КАПИЛЛЯРОВ МИОКАРДА ПРИ COVID-19

3.3.2. Патологическая анатомия
1.5.22. Клеточная биология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук, профессор
Савченко Сергей Владимирович
доктор медицинских наук
Айзикович Борис Исаевич

Новосибирск – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ. 4
ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ МИОКАРДА ПРИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (COVID-19) (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ). 13
1.1 Общие сведения о новой коронавирусной инфекции (COVID-19). 13
1.2 Патогенез новой коронавирусной инфекции (COVID-19). 17
1.3 Клинико-лабораторные изменения при развитии тяжелых форм COVID-19. 22
1.4 Гистологические и ультраструктурные особенности миокарда и эндотелия. 30
1.5 Патоморфологические изменения миокарда и эндотелия при COVID-19. . 36
1.6 Современные возможности иммуногистохимического исследования белков-маркеров кровеносных сосудов. 41
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 46
2.1 Объекты исследования. 46
2.2 Критерии включения в диссертационное исследование. 49
2.3 Критерии исключения из диссертационного исследования. 49
2.4 Дизайн исследования. 50
2.5 Методы исследования и оборудование. 50
2.5.1 Световая микроскопия. 50
2.5.2 Поляризационная микроскопия. 51
2.5.3 Иммуногистохимический метод. 52
2.5.4 Электронно-микроскопическое исследование. 52
2.6 Морфометрическое исследование. 53
2.7 Статистический анализ 54
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. 55
3.1 Оценка клинико-лабораторных данных у пациентов с тяжелыми формами COVID-19. 55

3.2 Оценка патоморфологических изменений и молекулярно-биологических характеристик миокарда у пациентов с тяжелыми формами COVID-19. 60
3.2.1 Патоморфологические изменения миокарда у пациентов с тяжелыми формами COVID-19. 60
3.2.2 Патоморфологические изменения миокарда при поляризационной микроскопии у пациентов с тяжелыми формами COVID-19. 69
3.2.3 Ультраструктурная организация эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда при COVID-19. 72
3.2.4 Оценка молекулярно-биологических характеристик эндотелия кровеносных капилляров миокарда при тяжелых формах COVID-19. 82
ВЫВОДЫ. 95
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ. 9
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ. 98
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ. 99
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ. 101
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА. 139

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

На современном этапе мультидисциплинарного изучения инфекционного заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, которое в 2020 году сопровождалось Всемирной пандемией и унесло около 7 миллионов (6 937 349) жизней, было установлено, что развивающаяся патология не ограничивается поражением органов дыхания [143, 224, 226]. Для тяжёлого течения COVID-19 характерно развитие цитокинового шторма, который проявляется формированием васкулярной эндотелиальной дисфункцией, коагулопатией, тромбозами с наличием антител к фосфолипидам, с клинической картиной, напоминающей катастрофический антифосфолипидный синдром [32, 33, 34]. Развиваются выраженные микроциркуляторные расстройства, метаболическая интоксикация и гипоксия, которые приводят к полиорганной недостаточности и летальному исходу [65, 271, 286, 353, 354].

Повреждение эндотелия при COVID-19 получило название SARS-CoV-2 – ассоциированая эндотелиальная дисфункция, которая может быть вызвана как специфическим вирусным действием, так и цитокиновым штормом, которые проявляются эндотелиитом и синдромом гиперкоагуляции с формированием тромботической микроангиопатии лёгких, миокарда, головного мозга, почек и других органов [100, 118, 289, 308].

Известны респираторные осложнения новой коронавирусной инфекции (COVID-19). В тоже время проведёнными исследованиями показано, что неблагоприятные исходы у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, могут быть связаны с развитием осложнений, обусловленных поражением сердца при прямом воздействии самого вируса [112, 128, 154, 341]. При развитии COVID-19 клинически часто наблюдается симптоматика, ассоциированная с острым повреждением сердца. Кардиальные симптомы при COVID-19 могут варьировать от полного отсутствия у пациентов каких-либо изменений, при наличии повышенного уровня тропонина и изменений на ЭКГ и УЗИ, до развития тяжелых

аритмий, острого коронарного синдрома и внезапной сердечной смерти [32, 33, 34, 95, 100, 103, 118, 289, 308, 331, 346].

По мнению Guervilly C. et al. (2020), Mancuso P. et al. (2020), Xu S. et al. (2023) возможным механизмом, приводящим к развитию недостаточности кровообращения при COVID-19 и сопровождавшимся летальными исходами, можно отнести расстройства микроциркуляции и эндотелиальную недостаточность обусловленные изменениям структуры эндотелиальных клеток. [135, 136, 366].

Для понимания патогенеза и особенностей развития различных осложнений при COVID-19, имеет важное значение исследование клеточной локализации SARS-CoV-2 в клетках органов и тканей пациентов, умерших от этой инфекционной патологии [170]. При этом, информативным методом исследования может стать электронная микроскопия при условии соблюдения критерий морфогенеза вируса для корректной интерпретации цитоплазматических структур и вирусных частиц [170, 181, 267, 363].

Проведение комплексного морфологического исследования с изучением гистологических, ультраструктурных и молекулярно-биологических изменений эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда при тяжелых формах COVID-19 может позволить выявить новые механизмы поражения сердца, а также даст возможность разработать пути своевременной профилактики и эффективного лечения тяжелых форм COVID-19 [69].

Степень разработанности темы исследования

Анализ сведений, изложенных в специальной литературе, свидетельствует об отсутствии полноты данных, касающихся структурных изменений кровеносных капилляров миокарда при COVID-19, а также возможности вирусного инфицирования эндотелиоцитов, что является необходимым для более полного понимания механизмов развития микроциркуляторных расстройств, лежащих в основе острого поражения сердца при этом инфекционном заболевании [316, 320]. Это может быть полезным для разработки

кардиопротекции с целью снижения летальности пациентов [132]. Вышеизложенное определило цель и задачи настоящего исследования.

Цель исследования

Изучить патоморфологические изменения и молекулярные биомаркеры эндотелия кровеносных сосудов миокарда, а также ультраструктурную перестройку эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда при тяжелых формах COVID-19.

Задачи исследования

1. Изучить патоморфологические изменения миокарда при тяжёлых формах COVID-19 с нарушением функции левого желудочка сердца.
2. Оценить молекулярно-биологические характеристики эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда при тяжёлых формах COVID-19.
3. Изучить на ультраструктурном уровне возможности выявления морфологических признаков инфицирования эндотелиальных клеток капилляров миокарда вирусом SARS-CoV-2.
4. Исследовать ультраструктурную перестройку эндотелиальных клеток капилляров миокарда при COVID-19.

Научная новизна

Приоритетным является анализ морфологических основ развития дисфункции левого желудочка сердца при тяжелых формах COVID-19 с развитием острых расстройств кровообращения в сердечной мышце, образованием острых очаговых повреждений миокарда, десквамацией и пролиферацией эндотелия капилляров миокарда, а также снижением экспрессии эндотелиальных маркеров CD31 и CD34.

Впервые проведено сравнение выявленных при ультраструктурном анализе аутопсийного материала при COVID-19 морфологических признаков

инфицирования эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда вирусом SARS-CoV-2 с представленными в литературе данными, основанными на изучении культуры клеток Vero E6 при их вирусном инфицировании.

Впервые описаны особенности перстройки эндотелиоцитов, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, с образованием характерных ультраструктурных изменений в виде возрастания объемной плотности мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, рибосом, комплекса Гольджи и липидных включений, наличия в цитоплазме эндотелиоцитов ЭР с застежкой-молнией (zippered endoplasmic reticulum), двумембранных структур и одномембранных вакуолей с вирусными частицами, наличия электроннoплотного материала в цистернах комплекса Гольджи.

Приоритетными явились данные о перестройке структуры внутриклеточной мембраны в цитоплазме эндотелиальных клеток капилляров сердечной мышцы при COVID-19 и образовании двумембранных везикул из эндоплазматического ретикулума для обеспечения синтеза вирусной РНК при COVID-19.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты исследования дают основу для дальнейшего изучения морфологических изменений эндотелиальных клеток капилляров сердечной мышцы при тяжелых формах COVID-19.

Выявленные патоморфологические, ультраструктурные и молекулярно-биологические изменения эндотелиальных клеток капилляров сердечной мышцы позволяют обосновать развитие клинически наблюдаемых симптомов острого повреждения сердца при тяжелых формах COVID-19.

Полученные данные о морфологических признаках инфицирования эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда вирусом SARS-CoV-2, а также ультраструктурной перестройке клетки свидетельствуют о репликации вируса для обеспечения синтеза вирусной РНК при COVID-19.

Данные об особенностях изменений структуры эндотелия кровеносных капилляров миокарда и морфологии мышцы сердца могут быть использованы в

практической работе врачами патологоанатомами и врачами судебно-медицинскими экспертами при проведении аутопсий в случаях COVID-19, а также могут помочь при разработке новых подходов терапии тяжелых форм COVID-19.

Методология и методы диссертационного исследования

В основу диссертационной работы вошло изучение литературы по теме научной работы, использованы принципы системного анализа со статистической обработкой полученных патоморфологических изменений. Для научного исследования были использованы общенаучные, специальные и логические методы научного познания. Изучены данные медицинских карт больных, получавших лечение в стационарных условиях, умерших от COVID-19 (n = 73), проведены световая и поляризационная микроскопия, иммуногистохимическое исследование, электронная микроскопия с изучением ультраструктуры эндотелиоцитов капилляров сердечной мышцы. Работа выполнена с соблюдением правил биоэтики и полностью согласуется с принципами проведения научных исследований.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Морфологические изменения сердечной мышцы и молекулярно-биологические характеристики эндотелия кровеносных капилляров миокарда при тяжёлых формах COVID-19 представлены расстройствами кровообращения с образованием острых очаговых повреждений миокарда, десквамацией и пролиферацией эндотелиальных клеток, а также выраженным снижением экспрессии молекул адгезии (CD31 и CD34).

2. Ультраструктурные признаки инфицирования эндотелиальных клеток капилляров миокарда вирусом SARS-CoV-2 характеризуются наличием вирусных частиц в двухмембранных структурах и в одномембранных клеточных вакуолях цитоплазмы клеток, в просвете кровеносных капилляров и в перикапиллярных пространствах.

3. Ультраструктурные изменения эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда при тяжёлых формах COVID-19 связаны с инфицированием и перестройкой клеток обусловленных репликацией вируса SARS-CoV-2, что сопровождается перестройкой структуры внутриклеточной мембраны эндотелия, образованием двухмембранных везикул возрастанием объёмной плотности мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, рибосом, комплекса Гольджи и липидных включений, а также появлением в цитоплазме эндотелиоцитов эндоплазматического ретикулума с застежкой-молнией (zippered endoplasmic reticulum), двухмембранных структур и одномембранных вакуолей с вирусными частицами, электроннoплотного материала в цистернах комплекса Гольджи.

Степень достоверности

Большая по объему выборка умерших от COVID-19 в количестве 73 пациентов, проведенный анализ всех медицинских карт, а также достаточное количество морфологических исследований на современном диагностическом оборудовании (световая микроскопия, микроскопия с иммуногистохимическим окрашиванием, микроскопия в поляризационном свете, электронная микроскопия и морфометрическое исследование) обеспечивают достоверность полученных результатов. Методы статистической обработки полученных данных соответствуют поставленным целям и задачам, что свидетельствует о достоверности проведенной научной работы. Выполненная работа соответствует паспортам научных специальностей: 3.3.2. Патологическая анатомия и 1.5.22. Клеточная биология.

Апробация работы

Основные результаты диссертационного исследования были доложены: на заседании Новосибирского областного научного общества патологоанатомов (Новосибирск, 2021); на 13-й Международной мультиконференции «Биоинформатика регуляции и структуры генома/системная биология»

(Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology) (Новосибирск, 2022); на межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 120-летию Городской инфекционной клинической больницы № 1 города Новосибирска (Новосибирск, 2024).

Материалы диссертации обсуждены на заседании сотрудников патологоанатомического отделения ФГОУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е. Н. Мешалкина» Минздрава России (Новосибирск, 2022).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Морфологические основы компенсаторно-приспособительных реакций» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2024).

Диссертация выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме: «Изучение закономерностей развития нормальных и патологических процессов в организме при действии факторов экзо- и эндогенной природы: межклеточные и межсистемные взаимодействия при остром и хроническом воспалении, репаративной регенерации, онкогенезе, фиброзировании, дисплазии соединительной ткани; возможности диагностики, профилактики, лечения», номер государственной регистрации 121061500014-3.

Внедрение результатов работы в практику

Результаты, полученные при выполнении диссертационной работы, внедрены в практику работы патологоанатомических отделений ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 1», ФГОУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е. Н. Мешалкина» Минздрава России.

Новые данные по материалам диссертации используются в учебном процессе на кафедре патологической анатомии, на кафедре гистологии,

эмбриологии и цитологии им. проф. М. Я. Субботина и на кафедре инфекционных болезней (педиатрического факультета) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Публикации по теме диссертационного исследования

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 5 статей в научных журналах и изданиях, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 4 статьи в журналах категории К1, входящих в список изданий, распределённых по категориям К1, К2, К3, в том числе 3 статьи в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования CA(pt), Scopus, Web of Science, PubMed и Springe.

Объем и структура диссертации

Диссертационное исследование изложено на 142 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований с их обсуждением, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Диссертационная работа иллюстрирована 3 таблицами и 27 рисунками. Библиография представлена 370 источниками, из которых 289 – в зарубежных изданиях.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проведен анализ научных публикаций по теме, сформулированы цель и задачи исследования, разработан дизайн исследования, проведен забор аутопсийного материала для морфологических исследований. Диссертационное исследование выполнено лично автором.

Автор выражает большую благодарность доктору биологических наук, профессору, заведующей лабораторией ультраструктурных исследований НИИКЭЛ–филиала ИЦиГ СО РАН Наталье Петровне Бгатовой за бесценный опыт совместной работы.

ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ МИОКАРДА ПРИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (COVID-19) (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Общие сведения о новой коронавирусной инфекции (COVID-19)

Эпидемия, вызванная вирусом SARS-CoV-2, началась в китайском городе Ухань в декабре 2019 года, очень быстро распространилась и вызвала Всемирную пандемию новой коронавирусной инфекции – COVID-19 [86]. По данным официальных источников во всем мире было зарегистрировано более 775 миллионов случаев инфицирования SARS-CoV-2. Пандемия COVID-19 унесла более 7 миллионов жизней людей, и рассматривается как одна из самых смертоносных в истории человечества.

Согласно официальным данным сайта Стопкоронавирус.рф, общее количество заболевших COVID-19 в России в конце октября 2023 года составило более 23 млн человек, что составляет 16,6 % от общей популяции проживающих в РФ. Количество погибших пациентов в России с начала пандемии 2019 года насчитывает 400 195 летальных случаев.

SARS-CoV-2 является представителем семейства Coronaviridae, рода Betacoronavirus, подрода Sarbecovirus. Оболочечный вирус SARS-CoV-2 имеет одноцепочечную РНК-позитивную полярность и характерные булавовидные шипы, выявляемые на его поверхности при трансмиссионной электронной микроскопии, придающие общий вид, напоминающий корону. Впервые штамм SARS-CoV-2 был получен от пациентов, имеющих клиническую симптоматику и госпитализированных в городе Ухань Китайской народной республики в декабре 2019 года. Выявленный исходный штамм SARS-CoV-2 в последующем стал референтным геномом полученных в дальнейшем при секвенировании последовательностей [88, 117, 213, 261, 318].

Как было показано дальнейшими проведенными исследованиями, в результате генных мутаций SARS-CoV-2 происходит формирование дочерних

вирусов, генетическая характеристика которых отличается от материнских вирионов. Кроме того, появившиеся новые штаммы коронавируса имеют отличия по скорости распространения, патогенности и клиническим особенностям развития инфекционного заболевания [65, 156, 279, 293, 324, 333].

Всемирной организацией здравоохранения было принято решение обозначения каждого нового штамма SARS-CoV-2 буквами греческого алфавита: альфа, бета, гамма, дельта. Выявление нового штамма SARS-CoV-2 происходило на территории конкретного государства, поэтому, кроме обозначения буквенного варианта штамма, нередко использовался ассоциативный вариант названия, связанный с конкретной страной. Так, генетический штамм альфа, впервые выявленный в Великобритании, стал именоваться британским штаммом, бета – южноафриканским, гамма – бразильским, а дельта – индийским.

По мере появления опыта идентификации штаммов вируса SARS-CoV-2, а также терапии и диагностики новой коронавирусной инфекции было выявлено, что в результате генетической изменчивости вируса отмечается устойчивость к применяемым лекарственным веществам, а также к реакциям иммунной системы.

При инфицировании источником является больной, у которого может и не быть клинических проявлений, например, в инкубационном периоде, или носитель SARS-CoV-2. Инфицирование SARS-CoV-2 происходит преимущественно воздушно-капельным путем при кашле, чихании или в разговоре, реже пылевым и контактно-бытовым путями, например, через контаминированные предметы.

На первых этапах изучения медико-социальной проблемы, обусловленной пандемией COVID-19, было установлено, что возбудитель новой коронавирусной инфекции – вирус SARS-CoV-2 – тропен к эпителию дыхательных путей и вызывает в первую очередь различной степени выраженности поражение легких. При развитии новой коронавирусной инфекции отмечают вариабельность клинической картины поражения легких вплоть до развития тяжелого респираторного дистресс-синдрома [99, 225, 352].

По мере изучения этого инфекционного заболевания было установлено, что развивающаяся патология при COVID-19 не ограничивается поражением органов дыхания. Признаки вирусного поражения, обусловленные инфицированием вирусом SARS-CoV-2, наблюдались в органах системы кровообращения, а также в почках, головном мозге, желудочно-кишечном тракте, глазе, системе гемопоэза [84, 92, 93, 129, 141, 159, 195, 199, 204, 256, 272, 275, 278, 281, 298, 302].

С начала пандемии новой коронавирусной инфекции и изучения клинико-анатомических особенностей этой патологии была высказана версия, согласно которой ключевым звеном патогенеза COVID-19 является системный воспалительный процесс, затрагивающий клетки эндотелия сосудов и приводящий к формированию эндотелиальной дисфункции. Так, Varga Z. et al. (2020) одними из первых провели исследование образцов тканей пациентов, погибших от новой коронавирусной инфекции, и подтвердили наличие распространенного эндотелиита. При проведении авторами электронной микроскопии в эндотелиальных клетках были обнаружены включения вируса SARS-CoV-2 [187].

Развитие тяжелых поражений легких при COVID-19 все чаще связывали с дисфункцией эндотелия, ведущей к микрососудистому и макрососудистому повреждениям [191]. Явления эндотелиита при COVID-19 были выявлены в кровеносных сосудах легких, сердца, почек, мозга, кишечника, и некоторых других органов [153, 295, 308, 358]. При гистологическом исследовании материала, полученного на аутопсии пациентов, умерших от COVID-19, были обнаружены вирусные элементы в эндотелиальных клетках в сочетании с лимфоцитарным эндотелиитом сосудов подслизистого слоя тонкой кишки, а также аналогичные изменения в сосудах легких, сердца, печени и почек [356]. Это позволило ряду авторов сделать вывод о политропности вируса и неоспоримой роли повреждения эндотелия в патогенезе полиорганной дисфункции [172, 245].

В исследовании Bhatagar et all. (2021) на аутопсийном материале была идентифицирована РНК вируса SARS-CoV-2 не только в пневмоцитах и макрофагах легких, в эпителиальных клетках дыхательных путей, но и в

эндотелиальных клетках и стенке сосудов многих органов: легких, сердца, головного мозга, почек, печени и поджелудочной железы, – что могло свидетельствовать о прямом инфицировании клеток эндотелия вирусом [200].

При инфицировании эндотелиальных клеток SARS-CoV-2 происходит их повреждение, при этом снижается антитромботическая активность нормального эндотелия и развивается апоптоз [113, 158]. Hamming et all. (2020) в своем исследовании обнаружили значительные изменения в морфологии инфицированного вирусом эндотелия. Авторами было выявлено, что имело место набухание эндотелиоцитов, были отмечены нарушения межклеточных соединений и гибель клеток у пациентов, умерших от COVID-19 или ОРДС, вызванного инфекцией гриппа А (H1N1). В группе контроля таких изменений обнаружено не было [344].

В работе Magro et all. (2020) с использованием электронной микроскопии было отмечено развитие отека эндотелиоцитов, нарушение и потеря межклеточных соединений и контактов с базилярной мембраной [149]. Было отмечено, что альтерация эндотелия сосудов при COVID-19 связана с воздействием многих факторов. При этом, наряду с прямым повреждающим действием, важную роль в альтерации эндотелиоцитов играет высокий уровень цитокинов, индуцирующих системный эндотелиит, активацию тромбоцитов, адгезию лейкоцитов и снижение биодоступности оксида азота [187, 289]. Это, в определенной степени, объясняет наличие непрямых механизмов эндотелиальной дисфункции в результате системного поражения эндотелия у пациентов с COVID-19 [189].

Появилось все больше данных о том, что эндотелиальная дисфункция является одним из основных звеньев патогенеза COVID-19, и это, в зависимости от степени выраженности, определяет тяжесть заболевания [189].

Таким образом, первоначальное внимание, касающееся нарушений функции дыхания при COVID-19, обусловленных вирусным поражением легких с учетом особенностей патогенеза новой коронавирусной инфекции, стало смещаться в сторону развивающихся нарушений в системе кровообращения. Появились новые клинико-лабораторные и морфологические данные, касающиеся поражения

эндотелия при COVID-19, поэтому многие исследователи обратили внимание на развитие не только пневмонии, но и генерализованного эндотелиита [187, 308, 356].

На современном этапе, учитывая проведенные многочисленные исследования клинической картины, лабораторных данных, а также изучение аутопсийного материала, принято выделять несколько клинических и морфологических масок COVID-19, которые могут протекать при обязательном вовлечении легких. Среди внелегочных форм новой коронавирусной инфекции чаще встречается сердечная [13].

1.2 Патогенез новой коронавирусной инфекции (COVID-19)

При изучении вируса SARS-CoV-2, инфицирование которым приводит к развитию новой коронавирусной инфекции (COVID-19), были выявлены основные механизмы, связанные с проникновением вируса в клетку, и особенности его влияния на организм [97, 233, 247, 289, 344, 345]. Клетки человека, экспрессирующие на своей поверхности ACE2 и TMPRSS2, являются мишенями для SARS-CoV-2. Для проникновения в клетки вирус связывает ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2), экспрессируемый на клетках человека, посредством взаимодействия с трансмембранной сериновой протеазой (TMPRSS2) [97, 289]. При этом ингибирование TMPRSS2 и блокирование ACE2 способствует торможению проникновения вируса в клетку. В экспериментах на трансгенных мышах, экспрессирующих человеческие рецепторы, ингибирование TMPRSS2 блокировало проникновение вируса, снижало тяжесть новой коронавирусной инфекции (COVID-19) и повышало выживаемость [302, 345].

Присутствие ACE2 в эндотелиальных клетках, гладкомышечных клетках и перицитах во многих органах свидетельствует о том, что SARS-CoV-2 после попадания в систему кровообращения может перемещаться по всему организму [344]. Было выявлено, что ACE2 присутствует в венах человека, сонных артериях, он экспрессируется в эндотелиальных клетках, гладкомышечных клетках и макрофагах [106]. Ген ACE2 был обнаружен в пневмоцитах I и II типов,

гладкомышечных клетках в сосудистой сети легких, эпителии бронхов, эпителиальных клетках в легких, сердце, в сонных артериях и венах. Ген ACE2 экспрессировался в эндотелиальных и гладкомышечных клетках, а также в макрофагах, энтероцитах тонкой кишки, яичках и почках [106, 344].

В проведенных исследованиях имеются данные о том, что клетки эндотелия сосудов также имеют на своей поверхности высокую концентрацию ACE2, а также TMPRSS2, по этой причине эндотелиальные клетки могут быть мишенями для инфекции [85, 332]. В подтверждение этому факту в нескольких исследованиях вирус SARS-CoV-2 был обнаружен в эндотелиальных клетках в различных органах и тканях [187, 308]. К тому же коронавирусы могут связываться с остатками ацетилированной сиаловой кислоты на клеточных мембранах, в том числе на мегакариоцитах и клетках эндотелия [246, 327].

Однако, ACE2 нельзя рассматривать лишь как ворота для SARS-CoV-2 [336]. Показано, что многие клинические проявления COVID-19 связаны с подавлением функции ACE2 и последующим накоплением ангиотензина II [336], что ведет к дисфункции эндотелия за счет активации НАДФН-оксидазы [320]. Это подтверждается и результатами исследования, в котором зафиксирована прямая корреляция между тяжестью COVID-19 и уровнем ангиотензина II [184, 291]. Ангиотензин II способен снижать активность синтеза NO в эндотелиальных клетках [103, 188]. Этот эффект опосредован рецептором ангиотензина II типа 1 (AT1), связанным с семейством G-белков Gα12/13, с участием пути RhoA/Rho киназы и активацией митоген-активируемой протеинкиназы p38 [190]. Эти сигнальные каскады способствуют индукции окислительного стресса с активацией НАДФН-оксидазы и образованием активных форм кислорода [104]. Повышенный уровень ангиотензина II стимулирует выработку фосфодиэстераз, разрушающих цГМФ, что приводит к снижению биодоступности цГМФ и вызывает сосудистую дисфункцию и повреждение [169]. Вероятно, негативное влияние вируса дополнительно усиливается дефицитом ACE2, ассоциированным со снижением биодоступности NO, что было подтверждено в эксперименте на мышах [212].

Баланс ACE/ACE2 также важен для поддержания функции эндотелия [158]. Исследования *in vitro* показывают, что связывание клеток эндотелия с вирусом подавляет ACE2, но не подавляет ACE. Это вызывает тот самый дисбаланс и способствует повреждению тканей и индукции протромботических каскадов [82], а также развитию воспаления и сокращению сосудистой стенки в результате спазма [158].

Наряду с прямым повреждающим воздействием на эндотелий вируса SARS-CoV-2 при COVID-19, важную роль в альтерации эндотелия играет взаимодействие цитокинов и иммунных клеток по принципу положительной обратной связи, формирует «порочный круг» – именно этот механизм лежит в основе «цитокинового шторма» [335]. В подтверждение этому факту, в исследовании Goncharov N. V. et al. (2017) здоровые люди имели низкий уровень растворимых эндотелиальных молекул адгезии и хемокинов [47]. Уровень провоспалительных цитокинов значительно повышается у пациентов с тяжелыми формами новой коронавирусной инфекции, в частности растворимого рецептора IL-2, IL-6 и TNF-α [138].

При рассмотрении роли провоспалительных цитокинов в регуляции воспалительного процесса следует отметить, что IL-1β сам по себе усиливает экспрессию генов в эндотелиальных клетках, стимулируя местную выработку хемокинов, тем самым регулирует проникновение иммунных клеток в ткани [203]. Кроме того, IL-1β также индуцирует секрецию другого провоспалительного цитокина, а именно IL-6, что приводит к усилению системного воспалительного ответа за счет гиперпродукции цитокинов [230]. Однако, как отмечают Leisman et al. (2020), у пациентов с COVID-19 концентрации цитокинов в плазме крови, особенно IL-6, значительно ниже, чем при типичном гипервоспалительном остром респираторном дистресс-синдроме [252].

Информативным является тот факт, что IL-6 играет важную роль в активации клеток эндотелия, он стимулирует повышение проницаемости сосудистой стенки и секрецию эндотелиоцитами провоспалительных цитокинов, активируя один из компонентов комплемента хемоаттрактант C5a [202, 239].

Кроме того, IL-6 вносит большой вклад в эндотелиальную дисфункцию у пациентов с COVID-19, посредством активации JAK-STAT он усиливает экспрессию эндотелиальных молекул адгезии – VCAM-1, ICAM-1 и E-селектина, – тем самым способствуя рекрутированию лейкоцитов в сосудистую стенку, а также снижает биодоступность NO и, активируя НАДФН-оксидазу, ведет к оксидативному стрессу [163, 190, 292]. У пациентов с новой коронавирусной инфекцией уровень IL-6 имеет прямую корреляционную связь с тяжестью заболевания [114, 138, 139, 140, 169, 289]. Примечательно, что с ростом тяжести заболевания в плазме крови пациентов также отмечается увеличение уровня цитокинов IL-2, IL-7, IL-10, GSCF, IP10, MCP1, MIP1A и TNFα [144].

Следует отметить, что TNF-α вызывает сверхэкспрессию молекул адгезии, подавляет экспрессию VE-кадгерина и стимулирует фосфорилирование тирозина в VE-кадгерине. Это приводит к нарушению его контакта с бета-катенином и впоследствии усиливает проницаемость эндотелия [346]. К тому же, было показано, что повышенная экспрессия провоспалительных цитокинов, в частности TNF и IL-6, активирует трипсин, что приводит к потере эндотелиальных плотных соединений, и впоследствии также вызывает гиперпроницаемость сосудов [240, 236].

Инфекция SARS-CoV-2 вызывает склонность к гиперкоагуляции, часто проявляющуюся микротромбозами [113, 264, 337, 359]. Это нашло подтверждение как при клиническом наблюдении за пациентами с COVID-19, так и изучении морфологии выявленных изменений аутопсийного материала у погибших от данной инфекции [113, 204, 306, 307, 359]. Отмечено, что около трети пациентов с COVID-19 в отделениях интенсивной терапии страдали от тромбоэмболических осложнений [232, 343]. Исследование, проведенное во французском многоцентровом отделении интенсивной терапии с участием 150 пациентов с COVID-19, показало, что в 43 % случаев имели место тромбозы, не смотря на терапию антикоагулянтами. При вскрытии у 58 % пациентов был выявлен тромбоз глубоких вен, при этом причиной смерти у 33 % таких пациентов стала ТЭЛА [222].

Баланс между свертывающей и противосвертывающей системами организма обеспечивается посредством активного взаимодействия тромбоцитов и эндотелиальных клеток [342]. При потере структурной целостности эндотелия происходит соприкосновение субэндотелиально расположенных структур (коллагена, ламининов, нидогенов) с факторами свертывания, расположенными в кровотоке, а также происходит частичный выход тромбогенных факторов в кровоток, что, в конечном счете, активирует процесс свертывания крови [367]. Помимо всего прочего, эндотелиальные клетки способны продуцировать молекулы адгезии тромбоцитов, такие как фактор фон Виллебранда и P-селектин, которые экспонируют на своей поверхности при активации IL-1β и TNF-α [337]. В свою очередь, тромбоциты продуцируют фактор роста эндотелия сосудов, который стимулирует выработку тканевого фактора в эндотелиальных клетках, тем самым способствуя запуску каскада коагуляции [190, 274]. В то же время клетки эндотелия, имея на своей поверхности молекулы, участвующие в активации актикоагулянтных путей, способствуют подавлению избыточной коагуляции; например, гепарансульфат при связывании с антитромбином III способствует его антикоагулянтному действию [58].

Молекула тромбомодулина посредством взаимодействия с тромбином способствует активации белка C и белка S – компонентов противосвертывающей системы крови [292].

У пациентов с COVID-19 наблюдали повышение уровня гликопротеина фактора фон Виллебранда, как у пациентов с тяжелыми формами инфекции, вызванной SARS-CoV-2, так и у пациентов со средней и легкой формами заболевания [194, 197, 222, 229]. Это может быть обусловлено умеренным снижением активности металлопротеазы ADAMTS13 – протеазы, расщепляющей фактор фон Виллебранда и тем самым снижающей его активность [89]. ADAMTS13 секретируется в основном звездчатыми клетками печени [304], эндотелиальными клетками [257, 369] и мегакариоцитами/тромбоцитами [258].

Таким образом, патогенез повреждения эндотелия кровеносных капилляров миокарда является многофакторным процессом. Альтерация эндотелия

кровеносных капилляров миокарда при COVID-19 может быть связана с прямым инфицированием эндотелиальных клеток вирусом посредством связывания спайкового гликопротеина с рецептором ACE2. Наряду с этим механизмом, важную роль в альтерации эндотелия играет взаимодействие цитокинов и иммунных клеток, что сопровождается развитием «цитокинового шторма» [335]. При прогрессировании острого легочного повреждения и дыхательной недостаточности на альтерацию эндотелия оказывают влияние нарастающая гипоксия, оксидативный стресс и локальное воспаление, связанное с эндотелиитом. Существует взаимосвязь морфофункциональных изменений эндотелия при COVID-19 и нарушений в свертывающей системе. При этом гиперкоагуляция является не только следствием альтерации эндотелия кровеносных сосудов, но и важным фактором прогрессирования эндотелиальной недостаточности в результате повреждения эндотелиоцитов.

При заболевании новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) эндотелий кровеносных сосудов различных органов и систем организма рассматривают как орган-мишень в патогенезе развивающихся осложнений, в том числе тромбоза при COVID-19 [72].

1.3 Клинико-лабораторные изменения при развитии тяжелых форм COVID-19

При развитии тяжелых форм COVID-19, у пациентов часто выявляют различные клинико-лабораторные изменения, ассоциированные с поражением сердца [142, 143, 160, 220, 294, 334, 365]. Клинические проявления поражения сердца при COVID-19 возникают у пациентов по мере прогрессирования диффузного альвеолярного повреждения, особенно после развития «цитокинового шторма». При этом кардиальная симптоматика при COVID-19 может варьировать от полного отсутствия у пациентов каких-либо изменений, при наличии повышенного уровня тропонина и изменений на ЭКГ, до развития аритмии, острого коронарного синдрома и внезапной сердечной смерти [140, 142, 160, 220,

334, 365]. Кроме того, могут наблюдаться тромбоэмболия легочной артерии, миокардит и кардиогенный шок. В данных литературы имеются сведения о развивающихся клинически значимых состояниях у пациентов с COVID-19, связанных с острым легочным сердцем, миокардитом, синдромом Такоцубо, нарушениями ритма [56, 110, 160, 214, 294, 334].

По данным F. Zhou et all. (2020), при тяжелом течении новой коронавирусной инфекции развитие недостаточности кровообращения может возникать более чем у 20 % пациентов, из которых около 50 % заканчиваются смертью [143]. Причиной развития недостаточности кровообращения с характерной симптоматикой острого коронарного синдрома является острое повреждение сердца, при котором пациенты испытывают загрудинные боли, одышку, обморочное состояние, тахикардию, а также нарушения сократительной способности сердечной мышцы со снижением или повышением сегмента ST, или аномалией зубца Т [312]. При этом острое поражение сердца у больных с COVID-19 может развиться без атеросклеротического поражения венечных артерий [312].

Brener M. I. et al. (2022) при остром повреждении миокарда в случаях COVID-19 наблюдали систолическую и диастолическую дисфункцию левого и правого желудочков сердца, а также развитие легочной гипертензии. Функциональные изменения сердца, по данным авторов, коррелировали с повышенным риском смерти и помогали определиться с клинической тактикой ведения пациентов [146].

Для выявления функциональных изменений сердечной мышцы при COVID-19 информативной является фокусная Эхо КГ, позволяющая оценить глобальную и региональную сократительную функцию левого и правого желудочков. Фокусная Эхо КГ позволяет определять не только сократимость желудочков сердца, но и амплитуду движения двустворчатого и трехстворчатого клапанов, размеры камер сердца, что может позволить выявить дилатацию полостей, наличие как митральной, так и трикуспидальной регургитации, наличие патологических гиперэхогенных эхосигналов, прикрепленных к участкам миокарда, с нарушенной

региональной сократимостью, тромбы в полостях сердца, наличие жидкости в полости перикарда, а также диаметр нижней полой вены для уточнения волемического статуса [175, 221, 247].

Наряду с Эхо КГ, информативным методом диагностики функциональных изменений кровообращения при COVID-19 является ЭКГ-исследование, позволяющее оценивать состояние сократительной способности миокарда и функциональное состояние сердечно-сосудистой системы, а также выявлять и прогнозировать нежелательные события и осложнения, связанные с сердечной деятельностью, особенно при аритмиях. Аритмии, наряду с острым повреждением сердца, также относят к часто встречающейся патологии при COVID-19 [140, 142, 220, 365].

В соответствии с данными, приведенными Zheng Y. Y. Et al. (2020), развитие аритмий при COVID-19 часто является поводом обращения к врачу у пациентов с положительным результатом обследования для выявления SARS-CoV-2 [155]. По данным Wang D. et al. (2020), различные аритмии наблюдаются у 6–17 % пациентов с COVID-19, причем у пациентов, находящихся на лечении в отделении интенсивной терапии, они могут достигать 44 % [140]. Развитие аритмий связано с многофакторным воздействием на сердце ишемии, повреждения миокарда в результате воздействия SARS-CoV-2, а также гипоксии, гипертермии, воспалительного стресса, нарушения метаболизма, нейрогормональной дизрегуляции, использования ряда лекарственных веществ, удлинения периода QT [122].

При COVID-19 отмечено развитие различных нарушений сердечного ритма и проводимости, среди которых наиболее часто встречающимся является тахиаритмия в виде фибрилляции предсердий. Кроме того, развитие аритмий при COVID-19 может быть представлено синусовой тахикардией, фибрилляцией или трепетанием предсердий, брадиаритмией, желудочковой экстрасистолией [220, 365]. Частота развития аритмий возрастает по мере прогрессирования острой дыхательной недостаточности в результате увеличения объема поражения легочной ткани. Развитие синусовой тахикардии пациентами с COVID-19

ощущается учащенным сердцебиением. Среди наиболее частых вариантов развития патологических аритмий следует выделить трепетание или фибрилляцию предсердий и желудочковые аритмии [144]. По данным Sala et al. (2020), развитие фибрилляции предсердий у пациентов с COVID-19 может достигать 21 % среди всей когорты пациентов с аритмиями [58, 94].

По данным Lig K. et al. (2020), частота аритмических осложнений у пациентов с новой коронавирусной инфекцией коррелировала с тяжестью заболевания, таким образом, при тяжелых формах инфекции в случаях, когда требовалась госпитализация в отделение интенсивной терапии, различные виды аритмии наблюдались в 44 % случаев. У пациентов легкой и средней тяжести, которым не требовалась интенсивная терапия, аритмии наблюдались в 7 % случаев [112].

При COVID-19 возможно наблюдать такое осложнение, как кардиомиопатию. Это может быть связано с выраженной тахикардией, сопровождающейся снижением фракции выброса левого желудочка. При этом достаточно быстро формируется увеличение размеров сердца, которое требует проведения диагностики развившейся тахи-индуцированной кардиомиопатии. Развитие кардиомиопатии у пациентов с COVID-19 может быть обусловлено прогрессированием различных вариантов аритмий, сопровождающихся ишемией миокарда [124, 231, 283].

Одним из осложнений многих вирусных инфекционных заболеваний является миокардит, развитие которого описано и при новой коронавирусной инфекции [143, 294]. Появление клинических симптомов, связанных с развитием миокардита чаще наблюдается через 10–15 дней с момента манифестации COVID-19, поэтому, учитывая отсроченное появление клинической симптоматики, развитие миокардита при COVID-19 может быть связано не с прямым вирусным поражением SARS-CoV-2, а, вероятнее всего, в результате иммунного поражения миокарда при развитии «цитокинового шторма». Клиническая симптоматика при миокардите в случаях новой коронавирусной инфекции включает в себя жалобы на ощущение дискомфорта за грудиной в

области сердца; тахикардию и даже тахиаритмию; снижение сократительной способности сердечной мышцы [143, 294].

Поражение миокарда в случаях миокардита может наблюдаться даже при отсутствии каких-либо клинических симптомов. По мере накопления новых данных, миокардит, как осложнение COVID-19, стали относить к более редкой патологии, чем это обсуждалось в самом начале пандемии [218].

В случаях диагностики миокардита у пациентов с COVID-19 возрастает информативность ЭКГ-диагностики, как скринингового исследования для проведения дифференциальной диагностики этой патологии. Особенно это важно при тяжелом течении новой коронавирусной инфекции [123, 179, 180, 157, 177, 248].

Одним из проявлений острого миокардита при COVID-19 могут быть желудочковые нарушения ритма, снижается амплитуда зубцов в отведениях от конечности и диффузная элевация сегмента ST, которая более выражена в нижних и боковых отведениях. Часто наблюдается депрессия сегмента ST с инверсией зубца Т в отведениях V1 и aVR.

Благова О. В. и соавторы (2020) в ходе когортного проспективного исследования пациентов с COVID-19, при проведении которого было установлено, что инфекция SARS-Cov-2 приводит к развитию не только острого, но и хронического миокардита, клинические проявления которого развиваются в сроки от 1 до 4–6 месяцев после COVID-19. В качестве причины постковидного миокардита авторы рассматривают длительную, до 9 месяцев персистенцию SARS-Cov-2 в миокарде (кардиомиоцитах, эндотелии, макрофагах). Миокардит был верифицирован при иммуногистохимическом исследовании биоптататов миокарда. К особенностям постковидного миокардита авторы отнесли закономерное вовлечение правого желудочка с формированием бивентрикулярной сердечной недостаточности с возможностью развития тяжелой систолической и диастолической дисфункций левого желудочка и наличием показателей и иммуновоспалительных маркеров у части пациентов [34].

При подозрении на развитие миокардита следует, наряду с ЭКГ-диагностикой, обратить внимание на повышение уровня тропонина I до 9 002 нг/л. В этих случаях

следует проводить дифференциальную диагностику миокардита и острого инфаркта миокарда. При миокардите у пациентов с COVID-19 могут быть блокады ножек пучка Гиса, удлинение QT, псевдоинфарктные паттерны, желудочковые нарушения ритма, а также инвертированные зубцы Т. Рассмотренные диагностические ЭКГ-признаки поражения при миокардите особенно информативны при отсутствии значимых изменений в венечных артериях [177, 179, 248].

При МРТ выявляется тяжелая дисфункция левого желудочка, сопровождающаяся снижением фракции выброса с диффузным гипокинезом и увеличением толщины стенок сердца. Информативным следует признать проведение МРТ с гадолинием для повышения качества диагностики миокардита. Кроме того, отмечен бивентрикулярный отек миокарда, возможен перикардиальный выпот [126, 171, 330].

Имеются данные о возможности развития у пациентов с COVID-19 синдрома Такоцубо, именуемого еще как стрессовая кардиомиопатия. Информативными для синдрома Такоцубо при ЭКГ-диагностике является острое развитие циркулярного снижения сократительной способности левого желудочка с формированием транзиторного апикального баллонирования в фазу систолы. При этом выявляют элевацию сегмента ST, инверсию зубца Т, удлинение интервала QT. Данные ЭКГ при синдроме Такоцубо могут быть дополнены незначительным увеличением уровня маркеров повреждения миокарда [94].

В связи с поражением легких при COVID-19, может произойти повышение давления в системе легочных артерий, что сопровождается повышением нагрузки на правые отделы сердца. Клинически информативными являются данные, полученные при ЭКГ-диагностике, к которым относят признаки острого легочного сердца, развивающееся при острой перегрузке правого желудочка, отклонение электрической оси сердца вправо, смещение переходной зоны влево, в связи с преобладанием электрической активности правого желудочка и правой половины межжелудочковой перегородки. На ЭКГ выявляют снижение зубца Q_{III} S_I, а также T_{III} (паттерн $SQT–S_IQ_{III}T_{III}$). При острой перегрузке правого желудочка отмечают развитие нарушений, связанных с неполной и полной блокадой правой

ножки пучка Гиса, появление высокоамплитудных зубцов Р в отведениях в aVF, кроме того, могут наблюдаться краткосрочные приходящие тахиаритмии. Появление на ЭКГ ЧСС больше 100 в минуту, $S_IQ_{III}T_{III}$, блокада правой ножки пучка Гиса, инвертированные зубцы V1-V4, в сочетании с элевацией сегмента ST в отведениях aVR можно рассматривать как прогностический параметр развития летального исхода. Кроме того, у пациентов с COVID-19 появление при ЭКГ-диагностике паттерна $S_IQ_{III}T_{III}$ необходимо исключить развитие ТЭЛА [123, 177, 179, 180].

В представленных данных, посвященных лабораторной диагностике поражений сердца при COVID-19, установлено, что повышение некоторых сывороточных кардиоваскулярных биомаркеров может помочь в оценке тяжести состояния пациентов для их маршрутизации на амбулаторное лечение или при решении вопроса о необходимости госпитализации в терапевтические или реанимационные отделения. Это маркеры повреждения, в частности TnT/I, коагуляции, например, D-димер, а также некоторые проспективные биомаркеры [108, 139, 235, 297, 368].

Эти данные подтверждаются и другими исследователями, указывающими на информативность для диагностики поражений сердца у пациентов с COVID-19 увеличения уровня cTnI, являющегося надежным маркером повреждения миокарда. Рекомендуется определять концентрацию мозгового натрийуритического пептида в сыворотке крови, так как имеется корреляционная связь NT-proBNP с развитием синусовой тахикардии у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, что может быть обусловлено гиперактивностью симпатической нервной системы [296].

При повышении уровня cTnI и NT-proBNP в сыворотке крови у пациентов с COVID-19, можно предположить повреждение сердечной мышцы, и это стоит рассматривать, как критерии неблагоприятного прогноза [82, 134, 140, 280, 301, 338].

Puntmann V. O. et all. (2020) оценили изменения сердечно-сосудистой системы у пациентов, недавно выздоровевших от COVID-19, при этом 78 % из

100 выздоравливающих пациентов, обследованных через 71 день после подтвержденного диагноза COVID-19, имели поражения сердечно-сосудистой системы, независимо от ранее существовавших у них заболеваний. У 76 % пациентов обнаружили высокочувствительный тропонин I, а у 60 % – отек и кардиосклероз [283]. По сравнению со здоровыми людьми и контрольными группами, сопоставимыми с факторами риска, пациенты, недавно выздоровевшие от COVID-19, имели более низкие фракции выброса левого и правого желудочков, более высокие объемы и массы левого желудочка. Эти результаты подчеркивают наличие у пациентов снижения сократительной способности миокарда левого желудочка, которые могут быть связаны с сердечно-сосудистой патологией, ассоциированной с COVID-19, даже после выздоровления [50, 283].

Среди лабораторных данных при COVID-19 информативной является оценка уровня D-димера, повышение которого, по данным авторов, часто коррелирует со степенью тяжести COVID-19 [91, 139, 235, 297, 368]. При увеличении концентрации D-димера наблюдается снижение количества тромбоцитов и удлинение протромбинового времени, что можно отнести к типичным лабораторным проявлениям при новой коронавирусной инфекции [113, 147, 303, 300, 368]. Кроме того, у пациентов с тяжелой формой COVID-19 наблюдают умеренное повышение уровня фибриногена, быстро снижающееся перед наступлением летального исхода [182, 183, 196, 208, 270, 368].

При поражении сердца у пациентов с COVID-19 отмечают повышение уровня сывороточных трансаминаз, а также увеличение характерных показателей микротромбообразования [182, 270, 368].

Так как вирус SARS-CoV-2 поражает легочную ткань, именно респираторный тракт обратил на себя первоначальное внимание, однако при дальнейшем изучении патогенез данной патологии стал дополняться данными о развитии нарушений в системе кровообращения. О чем свидетельствует развитие, ассоциированное с COVID-19 повреждение сердца, что значительно повышает риск госпитальной летальности.

В связи с появлением клинических симптомов, лабораторных изменений и морфологических данных, а также изменений при проведении функциональной диагностики сердца при COVID-19, многие исследователи обратили внимание на развитие эндотелиита [308]. С учетом этого, представляется существенным получение новых информативных данных о роли эндотелия в развитии патологии сердца, обусловленной инфицированием вирусом SARS-CoV-2.

1.4 Гистологические и ультраструктурные особенности миокарда и эндотелия

Структурной единицей миокарда, является кардиомиоцит. Мышечные клетки сердца покрыты базальной мембраной. Клетки удлиненной, неправильной цилиндрической, ветвящейся формы, в большинстве одноядерные, но могут быть и двуядерными. Ядро обычно расположено в клетке центрально, вытянуто вдоль оси [211]. Размеры кардиомиоцитов могут варьироваться от 50×10 мкм до 120×20 мкм [244, 328].

Клеточная мембрана кардиомиоцита образована гликокаликсом и плазмалеммой. Гликокаликс состоит из олигосахаридных цепей гликолипидов, гликопротеинов и гликозаминогликанов, адсорбированых протеогликанами и гидролитическими ферментами. Основными функциями гликокаликса являются внеклеточное пищеварение, каркас для множества клеточных рецепторов, взаимодействие в межклеточном пространстве, адгезия клеток меж собой. Плазмалемма состоит из белков и липидов, обеспечивает целостность клетки и обмен веществ клетки с внешней средой [121]. От поверхности плазмолеммы вглубь кардиомиоцита направлены Т-трубочки, которые проходят на уровне Z-линий. Их мембраны контактируют с мембранами эндоплазматической сети с одной терминальной цистерной. Т-трубочки с вытянутыми петлями сети, имеющими L-системы (латеральные расширения), формируют диады и триады [38, 79, 339]. В кардиомиоцитах имеются многочисленные митохондрии, которые

залегают между миофибриллами параллельными рядами и образуют единый функциональный комплекс [165].

Помимо органелл общего значения, выделяют специальные органеллы, которые обеспечивают сокращение, – миофибриллы [53, 55, 269]. Каждый кардиомиоцит включает в свой состав большое количество миофибрилл, которые состоят из упорядочено расположенных сократительных нитей – миофиламентов. Поперечная исчерченность мышечной клетки сердца обусловлена чередованием толстых и тонких нитей по длине саркомера, которые имеют разное светопреломление [166, 173].

Саркомер является структурно-функциональной единицей сократительной нити, ограничен Z-линиями. Актиновые нити имеют диаметр 5–7 нм, а миозиновые нити – диаметр 10–25 нм, в связи с чем актиновые нити называют тонкими, а миозиновые – толстыми. Изотропные диски (диски I) содержат только тонкие нити, имеют одинарное преломление в поляризованном свете и фазово-контрастной микроскопии, анизотропные диски (диски А) состоят из толстых нитей и занимают центральную часть саркомера. Длина дисков А около 1,5 мкм, а дисков I – около 0,8 мкм. Актиновые нити одним концом прикреплены к Z-линии, вторым концом идут к середине саркомера и частично входят между миозиновыми нитями [96, 288]. Участок саркомера, содержащий только миозиновые нити, называется Н-зоной, в центре которой проходит тонкая темная линия – М-линия (место соединения толстых нитей), которую также называют мезофрагмой. Изотропные диски входят в состав двух саркомеров, анизотропные – в состав одного саркомера. При сокращении саркомера диск I и Н-зона диска А исчезают [25].

Мышечное сокращение состоит из циклов присоединения и отсоединения глобулярной «головки» миозина от нити F-актина. При втягивании актиновых нитей в анизотропные диски, происходит укорочение саркомера из-за уменьшения изотропных участков. Длина саркомера варьирует от 1,5 мкм до 3,5 мкм в зависимости от стадии сердечного цикла (систола, диастола) [28, 165].

Организация кардиомиоцитов в мышечные волокна происходит за счет

соединения клеток друг с другом по типу «конец в конец», где формируются вставочные диски [205]. Кардиомиоциты расположены между рыхлой соединительной тканью с многочисленными кровеносными и лимфатическими сосудами, нервными волокнами вегетативной нервной системы. Мышечные клетки сердца объединены в мышечные волокна с формированием фасцикул (пучков), которые образуют функциональный синцитий [14, 251, 277, 325].

Так как миокард хорошо кровоснабжается, к каждому мышечному волокну подходит капилляр, диаметр кровеносных капилляров миокарда около 7 мкм. Кровеносные капилляры миокарда состоят из трех слоев. Внутренний слой состоит из эндотелиальных клеток, лежащих на базальной мембране (средний слой) и окруженных адвентициальным слоем (наружным), который состоит из адвентициальных клеток и коллагеновых волокон. Клеточный компонент базального слоя – перициты (клетки Руже) – не образуют сплошного слоя, окутаны богатым мукополисахаридами гомогенным веществом [16, 172, 350].

Транспортная функция – это основная функция капилляров, перенос питательных, сигнальных веществ, газообмен [98, 132]. Эндотелий микрососудов выделяет простагландин 12 и плазменный кофактор гепарина (антитромбин III), которые влияют на процессы свертывания крови и тромбообразование. Из-за альтерации эндотелия синтез антитромбина III и простагландина 12 может полностью прекратиться либо снизится [5, 16, 30, 249, 313]. Выделяемый эндотелием оксид азота регулирует сосудистый тонус, вызывая расслабление мышечных клеток с последующим расширением сосудов. Эндотелин обладает выраженным сосудосуживающим действием за счет высвобождения кальция, увеличивает сосудистую проницаемость и обеспечивает необходимыми объемами крови сердечную мышцу [10, 18, 60, 152, 164].

Строение микроциркуляторного русла имеет свои особенности в разных органах, и хорошо представлено в современной литературе [73, 77, 162, 349]. К микроциркуляторному руслу относятся 5 звеньев: артериолы, прекапилляры, капилляры, посткапилляры, венулы. Также к микроциркуляторному руслу относят артериоло-венулярные анастомозы и лимфатические сосуды. Все сосуды

микроциркуляторного русла выстланы одним слоем эндотелиальных клеток [77, 162, 323].

Эндотелий – монослой клеток мезенхимального происхождения, выстилающий внутреннюю поверхность сосудов кровеносного русла – артерий, вен, капилляров, лимфатических сосудов и сердца. Эндотелий – это непрерывный слой плотно прилегающих друг к другу эндотелиальных клеток, уплощенной полигональной формы. Они выстилают внутреннюю поверхность всех сосудов, как правило, имеют одно ядро в околоядерной зоне шириной до 5 мкм, на периферии – шириной до 0,4 мкм. Размеры клетки достигают 150 мкм. У эндотелиальной клетки различают 3 стороны поверхности: люминальную (обращенную к просвету сосуда), аблюминальную (обращенную к ткани) и контактную [33, 357].

Эндотелиоциты соединены друг с другом щелевидными и плотными контактами в виде «замка», в месте контактов клеточная мембрана утолщается, создавая единую структуру, хорошо окрашиваются тетраоксидом осмия [81, 260]. Межклеточные контакты обеспечивают возможность эндотелиальных клеток изменять форму и размеры капилляра. Также межклеточные контакты отвечают за такие функции, как рост и дифференцировка клеток, обменные взаимодействия и механическое соединение эндотелиоцитов [68, 70, 178, 321]. Ширина простых межклеточных контактов до 15 нм, ширина щелевидных межклеточных контактов до 3 нм [59, 78, 151].

Клеточная мембрана эндотелиальных клеток покрыта гликокаликсом, состоящим из полисахаридных комплексов, который выполняет три основные функции: рецепторную, барьерную и функцию поддержки гемостаза [305, 357]. А также обеспечивает селективную адсорбцию макро- и микромолекул и транспортировку их через плазмалемму при помощи специализированных белков-переносчиков [17, 137, 305].

На люминальной поверхности эндотелиальных клеток имеются выступы цитоплазматической мембраны – микроворсинки размерами от 90 × 50 нм до 1 мкм × 100 нм. Микроворсинки способствуют увеличению активного переноса

микро- и макромолекул через клеточную мембрану за счет значительного увеличения площади ЛП эндотелия. Есть предположения, что выступы мембраны способствуют выделению различных биологически активных веществ, чем влияют на скорость течения крови по микроциркуляторному руслу [77].

За счет того, что на эндоплазматической мембране эндотелиоцитов имеется большое число небольших колбообразных впячиваней плазматической мембраны (кавеол), при дилатации капилляра его площадь может становиться больше в 2 раза, что вероятнее всего служит большому запасу плазмалемы [24, 250].

В нормальных условиях можно наблюдать явление клазматоза, которое более интенсивно протекает при различных патологических состояниях. Заключается в десквамации фрагментов цитоплазмы, одна и та же клетка может последовательно подвергаться клазматозу неоднократно, в течение различных промежутков времени [54, 170, 195, 225, 253, 258].

Цитоплазма эндотелиальных клеток содержит большое количество органелл: рибосомы, лизосомы, полисомы, митохондрии, гладкий и гранулярный эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи. Ядро эндотелиоцита чаще овальной формы с поверхностными и глубокими инвагинациями мембраны [357]. Аппарат Гольджи расположен ближе к люминальной поверхности клетки. Цистерны гранулярной эндоплазматической сети усеяны рибосомами [35, 254].

Помимо органелл общего значения в эндотелиоцитах имеются особые везикулы – «тельца Вейбеля – Паладе», являющиеся специфическим элементом ультраструктурной организации эндотелиальных клеток. Тельца могут быть сферической или овальной формы, чаще продолговатые, размерами до 3 × 0,15 мкм, окружены мембраной с микротрубочками в матриксе [361].

Тельца Вейбеля – Паладе в большинстве случаев располагаются в околоядерной зоне эндотелиальной клетки, однако встречаются и в области межклеточных контактов, а также рядом с трансэндотелиальными каналами, содержат большое количество биологически активных веществ, основными среди которых являются фактор фон Виллебранда, Р-селектин, гистамин, гепарин и др. При альтерации эндотелия, происходит активация и секреция этих веществ в

просвет сосуда [61, 265].

После того, как биологически активные вещества активировались, возрастает проницаемость клеточной мембраны, из эндотелиальных клеток выходит избыточная жидкость и растворимые в ней вещества [73, 217].

Palade G. E. в 1953 году впервые описал микропиноцитозные пузырьки (везикулы), которые он обнаружил в большом количестве в цитоплазме эндотелиоцитов, данные пузырьки хорошо видны при использовании электронной микроскопии [284]. Микропиноцитозные пузырьки располагаются в цитоплазме эндотелиоцитов свободно или прикреплены к мембране клетки, округлой или овальной формы, размером до 70 нм, содержимое везикул гомогенно [19, 48, 77, 268, 285, 321].

При различных патологических состояниях, происходит формирование большого количество вакуолей и везикул в цитоплазме эндотелиальных клеток, с электронно-прозрачным содержимым. Происходит это за счет слияния транспортных структур и образования пузырей [4, 49, 210, 351].

Эндотелиальную трубку кровеносного капилляра окружает базальная мембрана, толщиной 20–150 нм, которую относят к неклеточному компоненту; внутри расположены перициты, которые тесно связаны с эндотелиальными клетками, поддерживают целостность эндотелия, удерживая его на мембране, и участвуют в регуляции проницаемости сосудистой стенки [9, 29, 355]. Миофибриллы, полисахариды, белки и нуклеиновые кислоты вместе с перицитами удерживают эндотелиальные клетки на базальной мембране [2, 37, 355].

Тканевой гомеостаз и обмен веществ через полупроницаемый барьер, которым является капиллярная стенка, осуществляются за счет цитоплазмы и базальной мембраны эндотелиальных клеток, просвет капилляра увеличивается главным образом за счет растяжимости и эластичности базальной мембраны [29, 80, 186].

При различных патологических процессах возникают структурные изменения не только эндотелиальных клеток, но и их базальных мембран, так как они являются частью гематоцеллюлярного барьера [20, 57, 148].

Ионы кальция играют важную роль в адгезии клеток, за счет соединения с мембранными структурами близлежащих клеток, формируя кальциевые мостики. Снижают поверхностный отрицательный заряд клеточной мембраны, в связи с чем уменьшается электростатическое отталкивание клеток [52, 139].

1.5 Патоморфологические изменения миокарда и эндотелия при COVID-19

Изучая миокард при COVID-19 с помощью метода гибридизации *in situ*, Lindner D. (2020) с соавторами обнаружили РНК SARS-CoV-2 в ткани сердца у 41 % пациентов, погибших от коронавирусной инфекции, при этом вирус обнаруживали не в кардиомиоцитах непосредственно, а в интерстициальных клетках или макрофагах [111].

В исследовании Bräuninger H et al вирусная РНК в сердце была обнаружена в 43 % случаев, однако при этом генетический материал вируса был локализован не в кардиомиоцитах, а в клетках эндотелия сосудов сердца, что может указывать на вторичный механизм повреждения миокарда. Об этом же говорит и повышение экспрессии провоспалительных цитокинов в эндотелиальных клетках [127].

Другие же авторы указывают на редкое выявление РНК SARS-CoV-2 в миокарде и предполагают, что эти редкие случаи связаны с выявлением циркулирующей вирусной РНК [109]. При обнаружении РНК признаки миокардита могли отсутствовать [168]. И наоборот, наличие миокардита в некоторых случаях не сопровождалось выявлением РНК вируса [316].

На аутопсии при макроскопическом исследовании сердца обращает на себя внимание некоторое расширение полостей органа: миокард на разрезах бледный, отечный, тускловатый, неравномерного кровенаполнения, которое обусловлено острым расстройством кровообращения. Эндокард чаще всего утолщен, склерозирован, с остаточными явлениями эндокардита (лимфоидные инфильтраты). Наблюдаются очаговые субэпикардиальные кровоизлияния. Нередко можно наблюдать пристеночные тромбы в просвете камер сердца (в

правом предсердии и в левом желудочке) и свежие тромботические массы в веточках коронарных артерий [32, 50].

При микроскопии миокарда в случаях COVID-19 выявляли ишемические повреждения кардиомиоцитов. Ишемические изменения сердечной мышцы не связаны со стенозом коронарных артерий, авторы описывают жировую дистрофию миокарда и другие дистрофические изменения различной степени выраженности, а также микроангиопатий и мелкоочаговых кровоизлияний [21, 282].

В отдельных кардиомиоцитах нередко наблюдают лизис ядер. При COVID-19, даже в случае отсутствия осложненных атеросклеротических бляшек или вообще атеросклероза, у части умерших может развиться тромбоз одной из веточек коронарных артерий с формированием инфаркта миокарда, чаще мелкоочагового. Особенностью коронавирусного миокардита многие авторы считают присутствие эндотелиита и деструктивно-продуктивного васкулита мелких веточек коронарных артерий. При поляризационной микроскопии наблюдаются контрактурные повреждения [11, 50, 65].

Наиболее частыми гистологическими находками были гипертрофия миокарда (от 70 до 100 % случаев) и фиброз миокарда (от 80 до 100 % случаев). Лимфоцитарный инфильтрат и перикардит присутствовали в < 25 % случаев, в то время как частыми признаками были эндотелиит, макро- или микроваскулярные тромбы и макрофагальный инфильтрат (86 % случаев) [340].

Rapkiewicz A. V. et all. (2020) отметили при аутопсии у пациентов, погибших от COVID-19, независимо от антикоагулянтного статуса, фибриновые микротромбы в микроциркуляторном русле сердца. Авторами были выявлены мегакариоциты в микрососудах легких и сердца [266]. Таким образом, проводимая стандартная антикоагулянтная терапия является не в полной мере эффективной у пациентов с новой коронавирусной инфекцией [154, 262, 303].

Tavazzi G и соавторы (2020) провели эндокардиальную биопсию миокарда пациенту с COVID-19, одни из первых описали острое повреждение сердечной мышцы с развитием кардиогенного шока и обнаружили вирус SARS-CoV-2 в миокарде [273]. Авторы приготовили препараты для световой и электронной

микроскопии. Исследование показало небольшое интерстициальное и эндокардиальное воспаление. При световом ИГХ-исследовании обнаружены макрофаги (CD68) [50].

Basso C. и соавторы (2020) в многоцентровом патологоанатомическом исследовании обнаружили, что наиболее частым аутопсийным признаком поражения сердца у пациентов, умерших от COVID-19, была аспецифическая инфильтрация интерстициальных макрофагов (в 86 % случаев), тогда как у 14 % пациентов наблюдался мультифокальный лимфоцитарный миокардит [286].

Авторами при проведении множественных аутопсий обнаружены инфильтраты макрофагов и CD4+ Т-лимфоцитов в миокарде пациентов с COVID-19. Вирусные частицы SARS-CoV-2 были идентифицированы в макрофагах, что позволяет предположить, что эти клетки могут быть напрямую инфицированы вирусом, потенциально передавая болезнь системным образом во многие ткани [50, 87, 273].

Инфильтрация нейтрофилов, макрофагов и CD4+ Т-лимфоцитов у пациентов с COVID-19 может способствовать активации фибробластов и миофибробластов в сердце, что может привести к патологическим изменениям сердца и фиброзу в долгосрочной перспективе и развитию кардиомиопатии, что приведет к развитию сердечной недостаточности и может усилить вероятность смерти у инфицированных (или даже выздоровевших) пациентов [61, 162, 342]. При исследовании ультраструктуры патология клетки характеризовалась повреждением мембран и цитоплазматических вакуолей. В поврежденных интерстициальных клетках с нарушением целостности цитоплазматической мембраны обнаружены одиночные или небольшие группы вирусных частиц с морфологией (плотная круглая вирусная оболочка и электронно-плотные шиповидные структуры на их поверхности) и размером (варьирующим от 70 до 120 нм) коронавирусов. В кардиомиоцитах наблюдали очаговый лизис миофибриллярных пучков и липидные капли [50, 273].

Эндотелиальная выстилка капилляров миокарда – это сложная система с очень важными функциями, к которым можно отнести транспорт из сосудистого русла к кардиомиоцитам энергетических материалов и обеспечение гомеостаза.

В сердечной ткани в тяжелых случаях COVID-19 были отмечены разрушенные эндотелиальные клетки, приводящие к прямому контакту клеток миокарда с просветом сосудов. Недавние обзоры клинических исследований и аутопсийных исследований, проведенных в 2020 году, показали, что эндотелиальная дисфункция во время инфекции SARS-CoV-2, например, наблюдаемая с помощью электронной микроскопии, является ключом к стимуляции воспалительных процессов, вызывающих более тяжелую форму COVID-19 [58, 282].

Varga Z. и соавторы (2020) обнаружили наличие вирусных элементов в эндотелиальных клетках и скопление воспалительных клеток с признаками гибели эндотелиальных и воспалительных клеток. Это свидетельствует о возможности вируса SARS-CoV-2 индуцировать образование эндотелиита в нескольких органах, как прямое следствие вирусного поражения (как отмечается при наличии вируса в клетке) и воспалительной реакции организма. Кроме того, авторы предположили, что запуск апоптоза и пироптоза может играть важную роль в повреждении эндотелиальных клеток у пациентов с COVID-19 [355].

COVID-19-эндотелиит может объяснить системные нарушения микроциркуляторной функции в различных сосудистых руслах и их клинические последствия у пациентов с COVID-19 [27, 187].

Несмотря на данные, свидетельствующие о возможности репликации вируса вне дыхательных путей пациентов с COVID-19, неопровержимые доказательства этого, по-прежнему, отсутствуют [228].

Krasemann S. и соавторы (2022) искали вирусные частицы SARS-CoV-2 в легких, слизистой оболочке органов обоняния, продолговатом мозге, почках, трахее и миокарде. В тканях, взятых при аутопсии 17 пациентов с COVID-19, вирусные частицы были обнаружены только в пневмоцитах 2-го типа и

альвеолярных макрофагах легких и в реснитчатых клетках слизистой оболочки органов обоняния [107].

Для ультраструктурной идентификации вируса SARS-CoV-2 в тканях разработаны критерии идентификации:

1) форма – от круглого к овальному;

2) размер – 50–180 нм (среднее значение – (87 ± 13) нм; без шипов);

3) мембрана – по крайней мере частично видимая вокруг частицы;

4) выступы на поверхности – тонкая ножка и шаровидный компонент (в общей сложности длиной около 20 нм); по крайней мере глобулярный компонент должен быть различим на некотором расстоянии от биомембраны, видимость поверхностных выступов в образце может быть неоднородной;

5) внутренняя структура – неоднородные гранулярные (никогда не пустые и не гомогенные при низкой электронной плотности) профили рибонуклеопротеинов (RNP) представляют собой круглые/агрегированные или овальные/продольные структуры; диаметр профиля RNP обычно составляет от 3,6 нм до 13 нм (среднее значение – 7,2 нм ± 1,6 нм);

6) количество – частицы должны присутствовать в большем количестве и часто располагаться группами внутри клеток;

7) расположение – внеклеточное (отдельные частицы или небольшие группы, иногда прикрепляющиеся к внешней поверхности мембран) или внутриклеточное (от небольших компартментов, например, с 1 частицей, до очень больших компартментов с десятками частиц) [107, 228, 314, 315].

Krasemann S. и соавторы (2022) проанализировали 144 публикации, демонстрирующие ультраструктурные признаки SARS-CoV-2 в образцах человека (опубликованные с апреля 2020 года по март 2022 года) с использованием ультраструктурных данных в качестве доказательства присутствия вирусных частиц в образцах человека, и повторно оценили данные, используя уточненные критерии идентификации вируса. В девяти публикациях были представлены достаточные структурные данные, подтверждающие присутствие вирусных частиц, в то время как в 135 публикациях различные

клеточные структуры неверно интерпретировались как вирусные или приводились лишь недостаточные структурные данные о присутствии вирусных частиц. В общей сложности в этих 135 публикациях только 67 из 337 электронных микрофотографий (20 %) показали достаточную сохранность структуры и качество изображения [107].

Эндотелиально-мезинхимальный переход (EndoMT), определяемый как потеря эндотелиальных маркеров/характеристик (CD31, VE-кадгерина и Tie2) и увеличение маркеров мезенхимальных клеток (виментина, кальпонина и α-актина), занимает центральное место в фиброзе [193].

При COVID-19 отделение эндотелиальных клеток может происходить очень быстро, и эндотелиальные клетки могут регенерироваться не так эффективно, как обычно. Увеличивается количество циркулирующих эндотелиальных клеток [322].

При системных воспалительных реакциях рекомендуется для оценки патологических изменений, помимо световой микроскопии, как иммуногистохимическое исследование, так и другие более сложные методы исследований, такие как трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ), которая позволяет значительно увеличить знание о причинах патоморфологических изменений мышцы сердца, которая имеет существенное значение при новой коронавирусной инфекции [107, 228]. Для получения корректных результатов работы и отчетливой визуализации на гистологическом и клеточном уровнях необходимо соблюдение основных требований, к которым относится ранняя аутопсия с забором материала и его фиксация для предотвращения посмертных изменений в тканях и клетках, стабилизации внутренних структур и предотвращения аутолиза [44].

1.6 Современные возможности иммуногистохимического исследования белков-маркеров кровеносных сосудов

Иммуногистохимические методы (ИГХ) на сегодняшний день заняли важное положение в патологоанатомических исследованиях как в научной

деятельности, так и в повседневной практической деятельности, часто используются вместе с базовыми методами исследования. На первом месте использование ИГХ методов применяется в онкоморфологии, однако на современном этапе является обязательным и при других патологических состояниях [46]. Также при исследовании патологии сердечно-сосудистой системы, в том числе и сердечной мышцы используются ИГХ методы, которые позволяют более подробно изучить патоморфологические процессы, проходящие в тканях [6, 7].

Приготовленные гистологические стекла проходят обработку специальными реактивами, которые содержат специфические антитела (метки) к веществу, которое необходимо выявить, это вещество выступает в данном случае антигеном. Если антитело находит нужный антиген, то вещества вступают в связь и образуют комплекс антиген–антитело, происходит окрашивание ткани. В качестве антигенов чаще всего выступают протеины клеточных мембран, липиды, нуклеиновые кислоты, полисахариды и т. д. В качестве реагентов выступают антитела, которые бывают поликлональными и моноклональными [3, 43, 62].

CD31 и CD34, не смотря на некоторые разногласия авторов, используются с целью визуализации сосудов и оценки их плотности в тканях. С помощью данных маркеров можно рассчитать плотность микрососудов, по этой причине их чаще всего используют как маркеры ангиогенеза при опухолевых образованиях и в качестве «инструмента» для идентификации сосудистого происхождения новообразований [3, 36, 63, 71, 161, 185, 309, 329].

Мембранный белок CD31 или PECAM-1 (platelet (endothelial) cell adhesion molecule-1, молекула адгезии тромбоцит-эндотелиальных клеток), относиться к суперсемейству иммуноглобулинов, являясь молекулой клеточной адгезии. Основной функцией белка является участие в трансэндотелиальной миграции лейкоцитов, ангиогенез и активация интегринов. Это один из базовых протеинов межклеточных контактов эндотелиальных клеток. Кроме эндотелиоцитов, экспрессируется в небольшом количестве на мембранах циркулирующих клеток (моноцитов, тромбоцитов и нейтрофилов) [101].

CD31 – член семейства молекул адгезии, который экспрессируется на эндотелиальной клетке в количестве, достигающем миллиона копий протеина, вовлечен в межклеточные взаимодействия [192]. Маркер может вступать в положительную реакцию с плазматическими клетками, в связи с чем специфичность антител к CD31 не абсолютная [3, 75, 130, 364].

Белок-маркер PECAM-1 отвечает за передачу сигнала через мембрану при межклеточном взаимодействии, молекула одной клетки взаимодействует с молекулой соседней клетки, образуя межклеточные контакты, что позволяет использовать белок, как маркер эндотелиальной дисфункции [244; 319]. О степени эндотелиальной дисфункции и развитии гиперкоагуляции и тромбоза судят по выраженности экспрессии CD31 [255, 287].

Чувствительность эндотелиального маркера CD31 сопоставима с чувствительностью мембранного белка межклеточной адгезии CD34, который экспрессируется также сосудистым эндотелием. Пролиферирующие эндотелиальные клетки экспрессируют данную молекулу в более значительных количествах, чем непролиферирующие эндотелиальные клетки. Гликопротеин играет важную роль на ранних этапах гемопоэза, выявляется в клетках-предшественниках эндотелиоцитов, фибробластических клеток соединительной ткани [116, 150, 216, 319].

Клетки стромы и другие компоненты костного мозга вырабатывают лектины, к которым прикреплются стволовые клетки, способствуют этому, специфические гликаны присоединяющиеся к белку-маркеру CD34 как к каркасу [198, 276]. CD34 экспрессируется в клетках многих тканей (эндотелиоцитах это, предшественниках эндотелиоцитов, пуповины, костного мозга), играет важную роль в связывании стволовых клеток и внеклеточного вещества костного мозга [131]. Антитела вступают в контакт с рецепторами эндотелиальных клеток CD31 и CD34 как в состоянии покоя, так и в состоянии пролиферации [1].

Ангиогенез – это процесс формирования новых первичных высокопроницаемых сосудистых структур в тканях и органах из уже сформированных сосудов, который заключается в прорастании новых капилляров, с

активацией эндотелиальных клеток, деградацией межклеточного матрикса, пролиферацией и миграцией эндотелиоцитов [26, 40, 122, 178, 221, 229]. Протеазы, выделенные из активных эндотелиоцитов, разрушают базальную мембрану; мигрирующие в межклеточное простанство эндотелиоциты начинают пролиферативную активность; происходит стабилизация первичных структур за счет присоединения двух других компонентов эндотелия – перицитов и гладкомышечных клеток; образуется сложная трехмерная сосудистая сеть [15, 39, 209].

Высвобождение факторов неоваскуляризации эндотелием, тучными клетками, макрофагами, фибробластами, лимфоцитами и другими типами клеток считается важным механизмом регуляции ангеогенеза [15, 207]. В физиологических условиях процесс образования новых сосудов находится балансе, благодаря индукторам и ингибиторам ангиогенеза, которых выделяют более 20 [74, 206].

Использование иммуногистохимического окрашивания с применением определенных белков маркеров, позволит понять и научно обосновать процессы, возникающие в клетках и тканях при повреждении во время болезни COVID-19.

Таким образом, анализ данных литературы позволяет заключить, что на современном этапе большая часть материалов научных исследований по COVID-19 касаются изменений морфологии легких. Научные исследования морфологии миокарда являются немногочисленными, а изучения ультраструктуры эндотелиоцитов – единичные и выполнены преимущественно в эксперименте *in vivo* на культуре клеток Vero E6 при их вирусном инфицировании. Это указывает на отсутствие современных данных об изменениях ультраструктуры эндотелия для понимания особенностей патогенеза и фундаментальных механизмов дисфункции эндотелия и снижения сократительной способности мышцы сердца, приводящей к летальному исходу при COVID-19, что определило актуальность выполнения настоящего исследования.

Таким образом, согласно проведенному анализу данных литературы, можно заключить, что на современном этапе изучения COVID-19 морфологические работы, посвященные исследованию миокарда и эндотелия с использованием

аутопсийного материала, немногочисленны. Основу выполненных исследований составляют работы, посвященные изучению патоморфологических изменений сердца при моделировании COVID-19 в эксперименте, а часть работ – на основе прижизненной биопсии миокарда.

Учитывая важность развивающихся микроциркуляторных расстройств, сопровождающихся органной дисфункцией сердца, целесообразно проведение комплексных морфологических исследований с использованием аутопсийного материала и изучение кровеносных капилляров миокарда с применением иммуногистохимических методов, а также электронно-микроскопического исследования.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Методы исследования рассмотрены и одобрены на заседании комитета по этике ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 23 от 24.11.2023).

Исследование рассмотрено и одобрено на заседании локального этического комитета ГБУЗ НСО «Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы» (протокол № 3 от 24.11.23).

Основой диссертационного исследования явился материал патологоанатомических вскрытий умерших в ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1» и материал судебно-медицинских экспертиз трупов, проведенных в Болотнинском районном отделении и в танатологическом отделе ГБУЗ НСО «Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы» (ГБУЗ НСО «НОКБ СМЭ»).

2.1 Объекты исследования

На первом этапе исследования проанализированы результаты 73 случаев патологоанатомического вскрытия тел больных двусторонней вирусной полисегментарной пневмоней, вызванной вирусом SARS-CoV-2, с летальным исходом, находившихся на лечении в ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», в ходе выполнения которого основной причиной смерти был назван COVID-19. Все патологоанатомические вскрытия были выполнены с полным соблюдением всех необходимых регламентирующих требований по работе с особо опасными инфекциями СП 1.3.3118-13 [69].

Патологоанатомическое вскрытие проводилось на основании Федерального закона № 323 – трупы лиц, умерших от инфекционного заболевания или при подозрении на него обязательно подлежат вскрытию в целях получения данных о причине смерти человека и диагнозе заболевания на основании (ст. 67 Федерального закона от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах

охраны здоровья граждан Российской Федерации»).

Перед патологоанатомическим вскрытием осуществлялось изучение клинических, анамнестических и лабораторных данных из медицинской карты стационарного больного, так как для проведения патологоанатомического вскрытия вместе с телом умершего (мертворожденного, плода) направляется медицинская документация умершего – медицинская карта стационарного больного, медицинская карта амбулаторного больного и пр., что регламентируется приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 06 июня 2013 г. № 354н «О порядке проведения патолого-анатомических вскрытий».

В качестве контрольной группы использован материал 15 судебно-медицинских экспертиз лиц, умерших от внезапной коронарной смерти, проведенных в танатологическом и Болотнинском районном отделениях ГБУЗ НСО «НОКБ СМЭ». Перед проведением судебно-медицинской экспертизы трупов осуществлялось ознакомление с вынесенным постановлением и данными представленных на экспертизу медицинских документов, на основании ст. 10 «Объекты исследований» Федерального закона от 31 мая 2001 г. № 73-ФЗ «О государственной судебно-экспертной деятельности в Российской Федерации» (с изменениями от 30 декабря 2001 г.).

Судебно-медицинские экспертизы трупов и забор материала производились на основании Приказа Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 12 мая 2010 г. № 346н «Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации», в частности ст. 38: «Экспертиза трупа может быть начата лишь после появления ранних трупных изменений…»; ст. 72.1: «… в обязательном порядке производится взятие объектов трупа и его частей и направление их для судебно-гистологической экспертизы в случаях наступления смерти в организациях здравоохранения»; ст. 49: «…для проведения лабораторных и (или) инструментальных экспертных исследований из трупа могут быть взяты какие-либо его части, внутренние органы и ткани…»;

ст. 50: «…перечень и количество биологических объектов, виды инструментальных и (или) лабораторных исследований определяет эксперт…».

Патолого-анатомические вскрытия и забор материала проводились на основании приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации от 06 июня 2013 г. № 354н «О порядке проведения патолого-анатомических вскрытий», в частности ст.24: «При проведении патолого-анатомического вскрытия гистологический, биохимический, микробиологический и другие необходимые методы исследований отдельных органов, тканей умершего или их частей являются неотъемлемой частью диагностического процесса в целях выявления причин смерти человека, осложнений основного заболевания и сопутствующего заболевания, его состояния. Волеизъявление умершего, высказанное при его жизни, либо письменное заявление супруга, близкого родственника (детей, родителей, усыновленных, усыновителей, родных братьев и родных сестер, внуков, дедушки, бабушки), а при их отсутствии иных родственников либо законного представителя умершего о проведении таких исследований не требуется».

При работе с телами умерших строго соблюдались требования и условия Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000) и Федерального закона «О погребении и похоронном деле», ст. 5: «Волеизъявление лица о достойном отношении к его телу после смерти…».

Вторым этапом проводилась микроскопия – световая, в поляризационном свете и с окраской ОКГ по Д. Д. Зербино (для определения давности образования фибрина) – фрагментов сердечной мышцы из области передней стенки левого желудочка сердца.

Далее проводилось исследование «случай–контроль» с использованием трансмиссионной электронной микроскопии и иммуногистохимического метода.

Для исключения аутолитичеких изменений тканей и клеток миокарда, забор материала для трансмиссионной электронной микроскопии, как при проведении патологоанатомических вскрытий, так и при проведении судебно-медицинских экспертиз, проводился до 2–3 часов после констатации биологической смерти

медицинской организацией, для чего использовался метод ранних аутопсий.

2.2 Критерии включения в диссертационное исследование

В основную группу:

1) лица обоих полов в возрасте от 18 лет до 75 лет;

2) умершие от тяжелых и крайне тяжелых форм COVID-19 (площадь поражения легких по данным компьютерной томографии – 50–75 % и более; $SpO_2 \leq 3$ % или острая дыхательная недостаточность с необходимостью респираторной поддержки; ЧДД – более 30 в минуту; нестабильная гемодинамика);

3) диагноз «COVID-19», подтвержденый ПЦР рино-фарингеального мазка на РНК SARSCoV-2.

В контрольную группу:

1) лица мужского пола в возрасте 35–45 лет;

2) умершие были доставлены машиной «Скорая помощь»;

3) на аутопсии выявлены начальные поражения коронарных артерий атеросклерозом в стадии липоидоза и липосклероза;

4) установлен судебно-медицинский диагноз «внезапная коронарная смерть».

2.3 Критерии исключения из диссертационного исследования

В основной группе:

1) дети, старческий возраст и долгожители;

2) умершие от среднетяжелых форм COVID-19 (площадь поражения легких по данным компьютерной томографии менее 50; SpO_2 93–95 %; ЧДД – менее 30 в минуту);

3) наличие сопутствующих заболеваний органов кровообращения в стадии декомпенсации.

В контрольной группе:

1) возраст до 35 лет и старше 45 лет;

2) наличие сопутствующих заболеваний органов кровообращения в стадии декомпенсации;

3) наличие выраженного стеноза коронарных артерий (II-III степени) и атеросклеротического кардиосклероза.

2.4 Дизайн исследования

1 этап – анализ медицинских карт стационарных больных, находившихся в ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», с двусторонней вирусной полисегментарной пневмонией, вызванной вирусом SARS-CoV-2 с летальным исходом (n = 73);

2 этап – микроскопическое исследование с проведением световой и поляризационной микроскопии, с окраской гематоксилином и эозином и ОКГ (Д. Д. Зербино);

3 этап – трансмиссионная электронная микроскопия основной группы (n = 8) и контрольной группы (n = 8);

4 этап – иммуногистохимическое исследование основной группы (n = 43) и контрольной группы (n = 15).

2.5 Методы исследования и оборудование

2.5.1 Световая микроскопия

При световой микроскопии использовали окраску гематоксилином и эозином (BioVitrum, Россия) образцы тканей окрашивали аппаратом Auto Stainer XL («Leica», Германия). Изготовление препаратов проводилось в несколько этапов. На первом этапе происходила маркировка образцов миокарда в течение 36 часов, которые фиксировали в растворе 10 % забуференного нейтрального формалина (BioVitrum,

Россия), объем фиксатора превышал объем исследуемых образцов в 10 раз. На втором этапе в гистопроцессоре TP 1020 («Leica», Германия), осуществляли стандартную проводку и обезжиривали в спиртах возрастающей концентрации и ксилоле, после чего образцы миокарда заливали в парафин при помощи заливочной станции EG 1160 («Leica», Германия). На третьем этапе с каждого блока изготавливали 3–4 среза толщиной около 5 мкм на ротационном микротоме RM 2235 («Leica», Германия).

Для иммуногистохимического исследования гистологические срезы помещали на предметные стекла с адгезивом.

Микроскопия проводилась при увеличении × 100, × 200, × 400 с помощью микроскопа Axio Scope.A1 («Zeiss», Германия), укомплектованном поляризатором и анализатором с фотокамерой AxioCam MRc5 («Zeiss», Германия), а также при помощи компьютерной программы Leica QWin («Leica», Германия).

При световой микроскопии оценивали патоморфологические изменения кардиомиоцитов и интерстициального пространства, анализировали реакцию микроциркуляторного русла, наличия кровоизлияний и характера воспалительного клеточного инфильтрата.

2.5.2 Поляризационная микроскопия

Основной задачей использования поляризационной микроскопии была оценка некробиотических и дегенеративно-дистрофических изменений в миокарде. В поляризованном свете изучали выраженность контрактур кардиомиоцитов, а также наличие некробиотических изменений. Для микроскопии использовали срезы с продольним расположением кардиомиоцитов, окрашенных гематоксилином и эозином.

Поляризационная микроскопия проводилась также на микроскопе Leica DM 4000B («Leica», Германия), который был оснащен анализатором и поляризатором.

2.5.3 Иммуногистохимический метод

Для проведения иммуногистохимического окрашивания срезы в течение часа при температуре 95 ºС освобождали от парафина и проводили демаскировку антигенов тканей в PT Link модуле (Dako, Дания) в цитратном буфере (Dewax and HIER Buffer H, pH 9,0). При помощи UV Hydrogen Peroxide Block (ThermoScientific, США) блокировали эндогенную пероксидазу и проводили сывороткой UltraVision Protein Block (ThermoScientific, США) протеиновый блок с последующим гибридизированием с антителами срезов. После чего отмытые срезы контрастировали раствором гематоксилина, дегидратировали и заключали в монтирующую среду.

Иммуногистохимическое окрашивание выполняли согласно рекомендациям, изложенным в руководствах по иммуногистохимическим исследованиям [3, 6, 7, 62], и инструкциям фирм-производителей.

Для иммуногистохимического исследования использовали антитела: Monoclonal Mouse Antibody CD31 Endothelial Cell (клон JC70, Cell Marque, США), Monoclonal Mouse Antibody CD34 Endothelial Cell (клон QBEnd/10, Cell Marque, США). Фотографии получали на микроскопе Axio Scope.A1 («Zeiss», Германия) с помощью фотокамеры AxioCam MRc5 («Zeiss», Германия) и программного обеспечения ZEN blue («Zeiss», Германия).

Экспрессию CD31 и CD34 оценивали количественно путем подсчета объемной плотности позитивных клеток сосудов при увеличении × 400 с использованием открытой тестовой системы в 15 полях зрения каждого препарата. Морфометрическая оценка проводилась с помощью компьютерной программы Image J (Wayne Rasband, США).

2.5.4 Электронно-микроскопическое исследование

Для получения микрофотографий эндотелиальных клеток капилляров миокарда в цифровом формате использовали электронный микроскоп JEM 1400

(JEOL, Япония).

Материал для морфологического анализа размером до 1 мм^3 фиксировали в 4 % растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, в течение часа дофиксировали в 1 % растворе OsO_4 (осмия тетраоксид) на фосфатном буфере (pH 7,4), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключили в эпон. Полученные на ультрамикротоме Leica EM UC7 (Leica Microsystems, Германия) полутонкие срезы толщиной 1 мкм окрашивали толуидиновым синим. Материал исследовали под световым микроскопом LEICA DME (Leica Microsystems, Германия), выбирали подходящие участки для трансмиссионной электронной микроскопии. Из отобранного материала получали ультратонкие срезы толщиной 70–100 нм, контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца, изучали в электронном микроскопе JEM 1400 (JEOL, Япония) в ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН. При увеличении × 8 000, × 25 000 и × 30 000 получали цифровые фотографии цитоплазмы эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда.

2.6 Морфометрическое исследование

Морфометрическое исследование проводили, учитывая базовые принципы стереологии и морфометрии [360].

Морфометрический анализ проводили с помощью компьютерной программы Image J (Wayne Rasband, США). Эндотелиоциты кровеносных капилляров морфометрировали при увеличении в 30 000 раз. Оценивали объемную плотность (Vv) люминальных, базальных кавеол, транспортных везикул, цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, рибосом, лизосом и митохондрий. Использовали открытую тестовую систему с шагом 73 нм.

В процессе морфометрических исследований величины объемной плотности структур проводили методом подсчета числа попаданий точек, т. е. пересечений линий тестовой решетки на профили исследуемых ультраструктур в срезе. Объемную плотность исследуемых параметров (Vv) рассчитывали

по формуле (4):

$$Vv = P / P, \quad (4)$$

где *P* – количество точек тестовой системы, попавших на профиль исследуемой ультраструктуры;

.....*P* – общее количество точек тестовой системы, попавших на профиль среза всего исследуемого объекта [26].

2.7 Статистический анализ

Статистическая обработка проведена с использованием лицензированного пакета программ Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft, США) и STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., США). При оценке клинико-функциональных и лабораторных данных проведен расчет верхней и нижней границы 95 % доверительных интервалов для эмпирических средних значений исследуемых показателей с использованием распределения Стьюдента. Проведена интервальная оценка значимости различий эмпирических средних значений с референсными значениями. При отсутствии перекрытия границ доверительных интервалов средних с границами референсных значений различия признавались статистически значимыми. Результаты в таблицах и диаграммах для количественных величин иммуногистохимических и ультраструктурных показателей представлены в виде средней величины и стандартного отклонения, для качественных величин – как значения и проценты. Полученные цифровые данные представлены в виде $M \pm SD$, где M – средняя арифметическая величина, SD – стандартное отклонение средней величины. Показатели исследования проверялись на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Учитывая, что распределение большинства полученных результатов было отличным от нормального, применяли методы непараметрической статистики. С помощью U-критерий Манна – Уитни, уровень достоверной вероятности которого равен 95 % ($p < 0,05$), оценивали межгрупповые различия.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Оценка клинико-лабораторных данных у пациентов с тяжелыми формами COVID-19

Первым этапом в процессе исследования проведено изучение госпитальной заболеваемости при тяжелых формах новой коронавирусной инфекции на материале ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1» г. Новосибирска (ГИКБ № 1). Согласно данным анализа карт стационарных больных в 2020 году для лечения COVID-19 были госпитализированы 3 581 пациент, в 2021 году прошли лечение от этого инфекционного заболевания 4 417 пациентов.

На 2020 год новая коронавирусная инфекция у пациентов протекала в легкой форме (26,4 %), в форме средней тяжести (35,8 %), в тяжелой форме (29,5 %) и в крайне тяжелой форме (8,3 %).

В 2021 году с появлением нового штамма вируса SARS-CoV-2, названного «дельта-штамм», не смотря на оптимизирование подходов и схем лечения этого инфекционного заболевания, изменились некоторые госпитальные показатели. Так, в 2021 году новая коронавирусная инфекция при лечении в ГИКБ № 1 протекала в легкой форме в 16,8 % случаев, как заболевание средней тяжести – в 51,4 %, в тяжелой форме – в 21,7 % наблюдений, в крайне тяжелой форме заболевание протекало у пациентов в 10,1 % случаев.

Не смотря на снижение в 2021 году по сравнению с 2020 годом количества тяжелых форм и незначительное увеличение крайне тяжелых форм, летальность увеличилась почти в 3 раза. Если в 2020 году показатель летальности при COVID-19 составил 3,65 %, то в 2021 году с учетом появления мутации вируса и появления более тяжело протекающего «дельта-штамма» SARS-CoV-2 летальность пациентов с COVID-19 составила 9,98 %.

Анализируя демографическую структуру летальности среди пациентов с COVID-19 в 2020 году и в 2021 году следует отметить появление при

«дельта-штамме» 5 пациентов, умерших в возрасте до 30 лет. В возрасте от 31 до 40 лет в 2020 и 2021 годах количество умерших составило, соответственно, 5 и 8 пациентов, в возрасте от 41 до 50 лет – 8 и 20 пациентов. Самая большая смертность в 2020 и 2021 годах отмечалась в возрастных группах от 51 до 60 лет, что составило 22 и 64 умерших пациента; от 61 до 70 лет – 45 и 118 пациентов; от 71 до 80 лет – 28 и 107 пациентов; от 81 до 90 лет – 21 и 116 пациентов; старше 91 года – 2 и 13 пациентов.

На следующем этапе исследования был проведен анализ данных медицинских документов – некоторых карт стационарных больных 73 умерших с двухсторонней вирусной полисегментарной пневмонией, вызванной в результате инфицирования вирусом SARS-CoV-2, в период с сентября 2020 по июль 2021 года. Все карты стационарных больных были получены путем простой случайной выборки, которая позволяет рандомизировать отбор сегмента лиц или членов из всей совокупности изучаемых объектов и является одним из наиболее оптимальных методов сбора данных при выполнении исследований. Это позволяет осуществлять непредвзятый сбор данных и проводить исследования с непредвзятыми выводами [76].

Во всех летальных наблюдениях COVID-19, новая коронавирусная инфекция у пациентов протекала в тяжелой форме. Инфицирование вирусом SARS-CoV-2 было верифицировано прижизненно, с использованием методики полимеразной цепной реакции (ПЦР) в мазке из носа и зева.

Все пациенты были госпитализированы для лечения в ГИКБ № 1 г. Новосибирска, где они получали лечение в полном соответствии с «Временными клиническими рекомендациями по лечению новой коронавирусной инфекции» версий 9, 10, 11 периода с ноября 2020 по июль 2021 года. При изучении медицинских карт стационарных больных анализировали данные клинических, лабораторных, ультразвуковых и лучевых методов исследований, а также анализировали результаты патологоанатомических вскрытий умерших пациентов.

Из числа умерших в клинике 56,16 % составили мужчины (41 человек) и

43,83 % (32 человека) – женщины. Лица до 65 лет среди умерших составили 63,2 %, старше 65 лет – 36,8 %. Самой молодой среди умерших была женщина 29 лет, имевшая в анамнезе тяжелые заболевания – хроническую надпочечниковую недостаточность, ожирение 3-й степени и хронический обструктивный бронхит.

В первые 5 дней обратились за медицинской помощью только 26 (35,61 %) пациентов, 47 (64,38%) пациентов обратились за медицинской помощью позднее 5-го дня с момента заболевания, т. е. когда заболевание имело развернутую клиническую картину.

Среди пациентов, умерших в клинике, только 4,1 % (3 человека) не имели какой-либо предшествующей патологии. У большинства пациентов – 79,45 % (58 человек) – имелось несколько различных коморбидных заболеваний, представленных не менее чем 2–4 нозологиями, среди которых наиболее частыми были различные формы ишемической болезни сердца, гипертоническая болезнь, сахарный диабет, различной степени ожирение, кардиомиопатии, пиелонефрит и др. Только 16,43 % (12) пациентов имели по одному коморбидному заболеванию.

Во всех клинических наблюдениях новая коронавирусная инфекция (COVID-19) у пациентов протекала в тяжелой форме, крайне тяжелой форме. Клинически отмечалось тахипноэ более 25–30/мин, при этом сатурация кислорода (SpO_2) была ниже 90 %, $PaO_2/FiO_2 \leq 300$ мм рт. ст. У пациентов отмечались различные проявления расстройства сознания, ажиотация, дереализация, деперсонализация, депрессии. Во всех случаях COVID-19 гемодинамика была не стабильной, соотношение систолического и диастолического артериального давления было менее 90 / 60 мм рт. ст., что требовало постоянной вазопрессорной поддержки. Почасовое снижение диуреза составляло менее 20 мл/час.

Прогрессирующая тяжесть клинических симптомов коррелировала с увеличением площади инфильтративных изменений легких, превышающих 70 %. По мере нарастания тяжести состояния за счет увеличения дыхательной недостаточности возникала необходимость респираторной поддержки, включая инвазивную вентиляцию легких (ИВЛ). При проведении реанимационных

мероприятий сразу после остановки сердечной деятельности и констатации клинической смерти проводились непрямой массаж сердца и искусственное дыхание.

В большинстве случаев при тяжелых и крайне тяжелых формах COVID-19 летальный исход наступил на второй неделе с момента появления клинических симптомов у 2 (2,73 %) пациентов, в течение третьей и четвертой недель – у 28 (38,35 %) и у 31 (42,46 %) пациентов; в сроки более 28 дней – у 12 (16,43 %) пациентов.

В процессе исследования анализировали клинические, инструментальные и лабораторные данные, а также данные функциональной диагностики из медицинских карт стационарного больного для оценки состояния пациентов с COVID-19 в предтерминальном состоянии. Согласно данным КТ и рентгенографического исследования легких, у всех пациентов с тяжелыми формами COVID-19 было выявлено обширное поражение легких, превышающее во всех наблюдениях 70 % суммарной площади органов. У пациентов с тяжелыми формами новой коронавирусной инфекции отмечали статистически значимое повышение С-реактивного протеина, показатель которого возрастал более чем в 100 раз относительно нормальных референсных значений (Таблица 1).

За 3–5 дней до наступления смерти отмечали стойкую резистентную артериальную гипотонию у одного из трех пациентов, находившихся в стационаре, не смотря на использование вазопрессоров. Средние показатели АД были меньше 50 мм рт. ст. из-за того, что сократительная способность миокарда и периферическое сосудистое сопротивление значительно снижались.

Таблица 1 – Характеристика клинических, лабораторных и функциональных параметров у пациентов с тяжелой формой COVID-19.

Показатель	Нормальные значения	Тяжелые формы COVID-19
СР протеин (мг/л)	0–5	137,03 [95 %]*
Тропонин I (нг/мл)	0–1	3,70 [95 %]*

Продолжение таблицы 1

Показатель	Нормальные значения	Тяжелые формы COVID-19
D-димер (нг/мл)	250	420,00 [95 %]*
Поражение легких (в %)	—	73,10 [95 %]*
УЗИ сердца ФЛЖ (в %)	55–70	43,50 [95 %]*
Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с нормальными значениями.		

При оценке показателей, характеризующих развитие нарушений функциональной способности сердца у пациентов с тяжелой формой COVID-19, было отмечено возрастание более чем в 3 раза тропонина I. Это свидетельствовало об остром повреждении миокарда. Информативным показателем снижения сократительной способности миокарда левого желудочка явились данные ЭХО-кардиографического 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 % случаев на ЭКГ наблюдали различные аритмические нарушения, среди которых превалировала фибрилляция предсердий.

По мере прогрессирования COVID-19 с повторными цитокиновыми атаками возрастал в несколько раз показатель D-димера, как информативный лабораторный показатель повреждения эндотелия у пациентов с тяжелыми формами новой коронавирусной инфекции.

3.2 Оценка патоморфологических изменений и молекулярно-биологических характеристик миокарда у пациентов с тяжелыми формами COVID-19

3.2.1 Патоморфологические изменения миокарда у пациентов с тяжелыми формами COVID-19

Первым этапом патоморфологического исследования провели микроскопию срезов сердечной мышцы с окраской гематоксилин-эозин с использованием оптической и поляризационной микроскопии. При исследовании сердечной мышцы контрольной группы обращало на себя внимание венозное полнокровие и неравномерно выраженное кровенаполнение артерий и сосудов микроциркуляторного русла, местами в капиллярах наблюдали агрегацию эритроцитов. Кардиомиоциты – равновеликие с равномерной эозинофильной окраской цитоплазмы и удлиненно-овальной формы ядрами базофильной окраски. В большинстве кардиомиоцитов просматривалась поперечная исчерченность. В отдельных полях зрения при световой микроскопии отмечали отдельные неравномерно сокращенные кардиомиоциты за счет их очаговой фрагментации. Кроме того, некоторые мышечные волокна находились в состоянии волнообразной деформации.

В случаях смерти пациентов от тяжелых форм COVID-19 при гистологическом исследовании срезов сердечной мышцы с окраской гематоксилин-эозином, обнаруживали признаки выраженных острых расстройств кровообращения. Интрамуральные артерии миокарда были малокровные в состоянии спазма, за счет чего суженные сосуды имели щелевидный просвет или просвет с неправильной геометрической формой (Рисунок 3). Спазмированные артерии имели складчатую интиму, вены, наоборот, паретически расширены. Периваскулярные, межпучковые и межмышечные пространства расширены во всех полях зрения в различной степени выраженности, что является проявлением выраженного отека стромы миокарда. Мелкие артерии – с уплощенной за счет отека

стенкой с вытягиванием вертикально эндотелиальных клеток в просвет артерий, отмечался стаз и сладж эритроцитов. При исследовании микроциркуляторного русла также отмечались выраженные признаки острых расстройств кровообращения со сладжированием эритроцитов (Рисунок 1). В мышечных волокнах наблюдалась волнообразная деформация и фрагментация кардиомиоцитов. Во многих полях зрения выявляли метахромазию цитоплазмы клеток отдельных групп кардиомиоцитов в виде неравномерного окрашивания цитоплазмы клеток бледно эозинофильного цвета (Рисунок 2). Ядра клеток имели нечеткие контуры, слабо базофильной окраски.

При COVID-19 исследование миокарда позволило выявить в саркоплазме кардиомиоцитов включения, которые имели вид мелкоточечных скоплений зерен липофусцина – вакуолей желто-коричневого цвета (Рисунок 8). Скопления зерен липофусцина чаще локализовались компактно, преимущественно в перинуклеарной зоне клетки (Рисунок 9). В ряде полей зрения одного среза можно было наблюдать внутриклеточные включения по типу истонченных клинообразных фрагментов, располагающихся на протяжении кардиомиоцита. Это можно связать с развитием жировой дистрофии с нарушением обмена липидов сердечной мышцы. Появление липофусциноза может быть обусловлено как повышенной нагрузкой на сердечную мышцу, в результате длительной тахикардии, так выраженной интоксикацией при тяжелых формах новой коронавирусной инфекции.

Исследование морфологии кровеносных капилляров сердечной мышцы при проведении гистологического исследования оказалось информативным при COVID-19. Отмечали выраженное полнокровие кровеносных капилляров с признаками стаза эритроцитов, во многих полях зрения визуализировалось сладжирование форменных элементов (Рисунок 1). В ряде полей зрения в просвете отдельных сосудов отмечали наличие лейкостазов и краевое стояние лейкоцитов, а также их миграцию за пределы сосудистой стенки в окружающие ткани.

Эндотелиальные клетки кровеносных капилляров, стенки сосудов были утолщены, а эндотелиоциты – резко набухшими. При полнокровии сосудов

отчетливо просматривалась цитоплазма набухших и деформированных эндотелиоцитов кровеносных капилляров. Цитоплазма неравномерно выраженной эозинофильной окраски. Эндотелиоциты находились на одинаковых расстояниях друг с другом, компактно. Во многих полях зрения в срезах миокарда наблюдали эндотелиоциты, которые располагались «частоколом». Во всех срезах в просвете сосудов наблюдали дескванированный эндотелий и фибриновые массы (Рисунки 4, 6 и 7).

При микроскопической оценке морфологии сосудов миокарда выявляли плазматическое пропитывание сосудистой стенки сосудов микроциркуляторного русла и мелких артерий, отмечали наличие очаговых разрывов интимы сосудов с образованием т. н. субэндотелиальных «выростов», выбухающих в просвет сосуда.

У умерших от тяжелых форм COVID-19 пациентов при исследовании сердечной мышцы наблюдались локализующиеся перивасукулярно и перимускулярно скопления компактно лежащих эритроцитов с хорошо различимыми контурами эозинофильной окраски (диапедезные и очаговые кровоизлияния) (Рисунок 10 и 11). Образование указанных кровоизлияний обусловлено нарушением проницаемости сосудистой стенки, как проявление острого расстройства кровообращения в результате изменений стенки и эндотелиального слоя кровеносных сосудов, наблюдаемые при патоморфологическом исследовании.

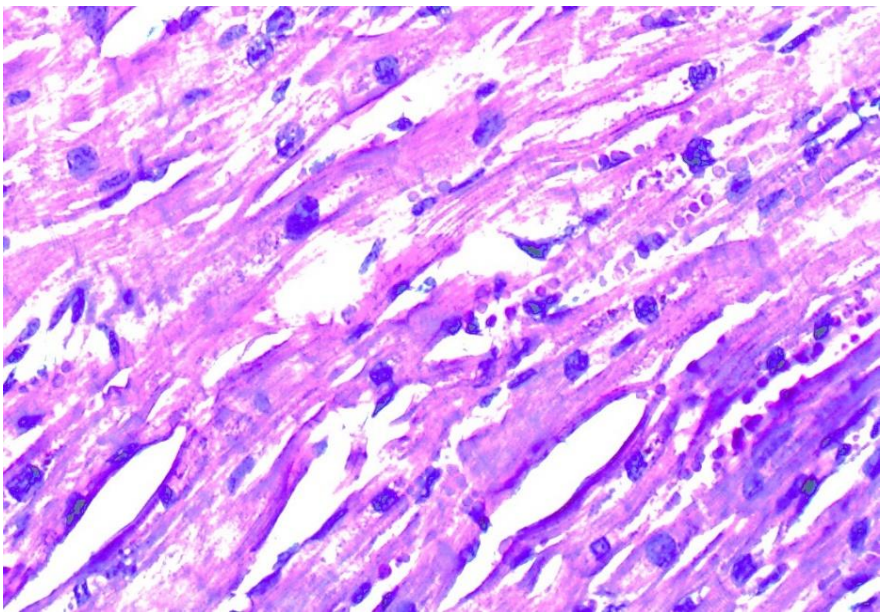


Рисунок 1 – Агрегация, сладжирование эритроцитов в капиллярах и резко выраженный отек стромы миокарда пациента с COVID-19. × 200. Окраска гематоксилин-эозин

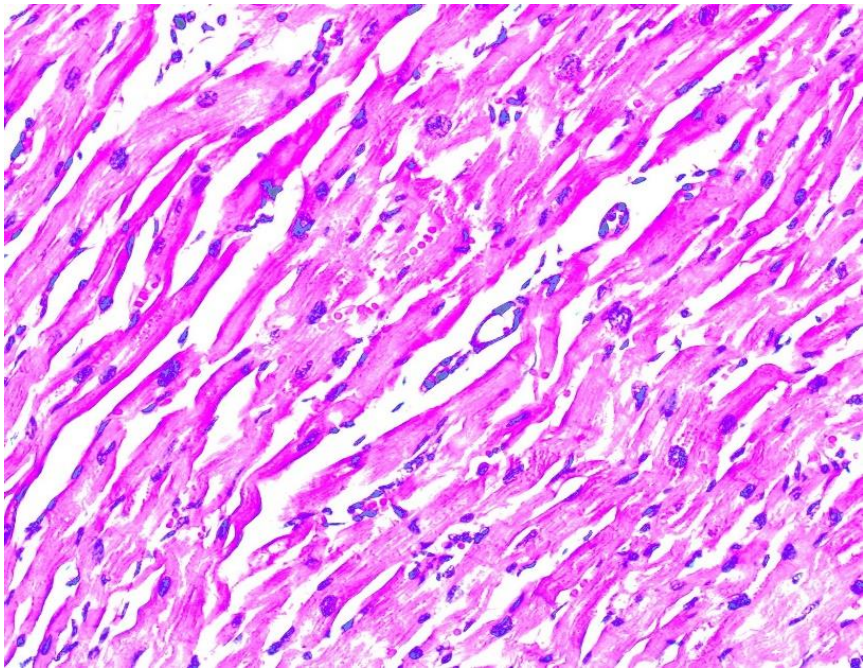


Рисунок 2 – Волнообразная деформация мышечных волокон, метахромазия кардиомиоцитов и стромальный отек миокарда пациента COVID-19 × 100. Окраска гематоксилин-эозин

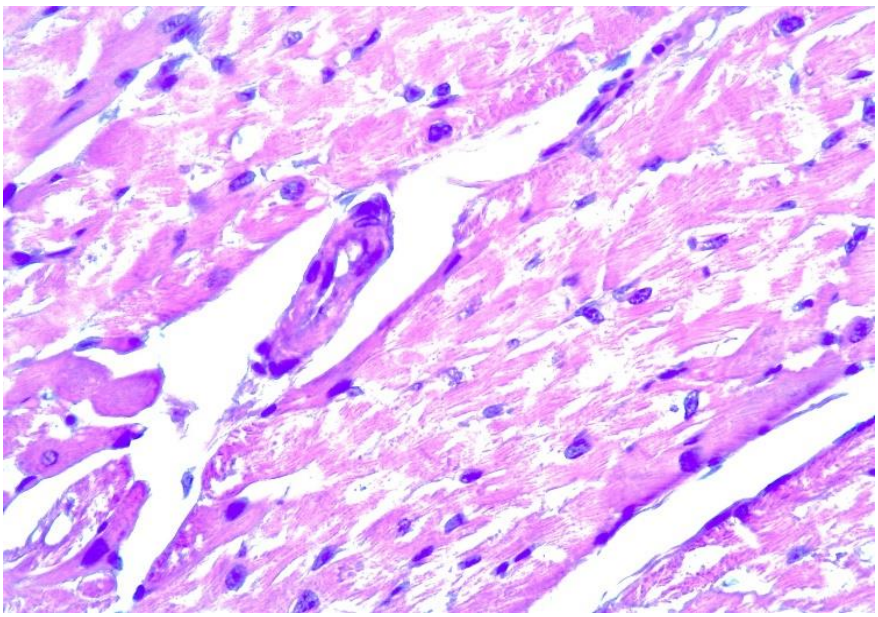


Рисунок 3 – Спазм мелкой интрамуральной артерии, отек стенки сосуда, десквамация эндотелия, метахромазия и продольное расщепление кардиомиоцитов, отек стромы пациента COVID-19. × 100. Окраска гематоксилин-эозин

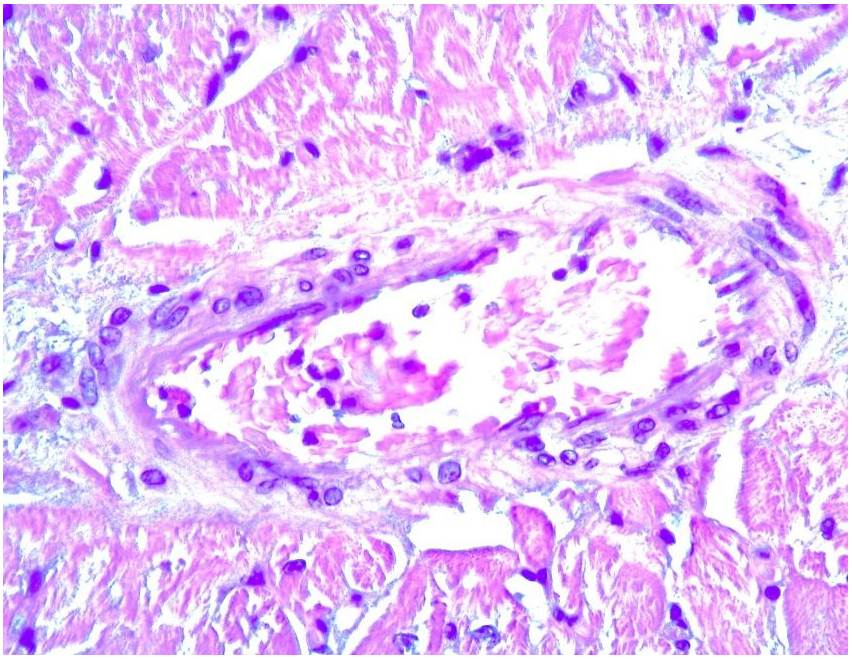


Рисунок 4 – Отек стенки артерии, набухание эндотелия, эндотелиоциты в виде «частокола», в просвете клетки белой крови, фибриновые массы. × 400. Окраска гематоксилин-эозин

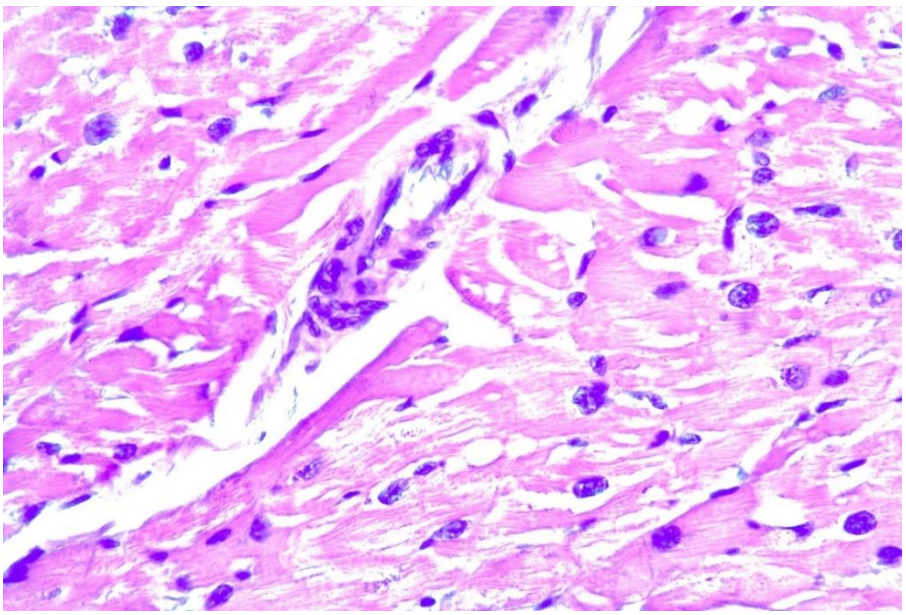


Рисунок 5 – Эндотелиоциты спазмированной артерии в виде частокола, отек стенки сосуда, десквамация эндотелия, метахромазия и продольное расщепление кардиомиоцитов, отек стромы пациента COVID-19. × 100.
Окраска гематоксилин-эозин

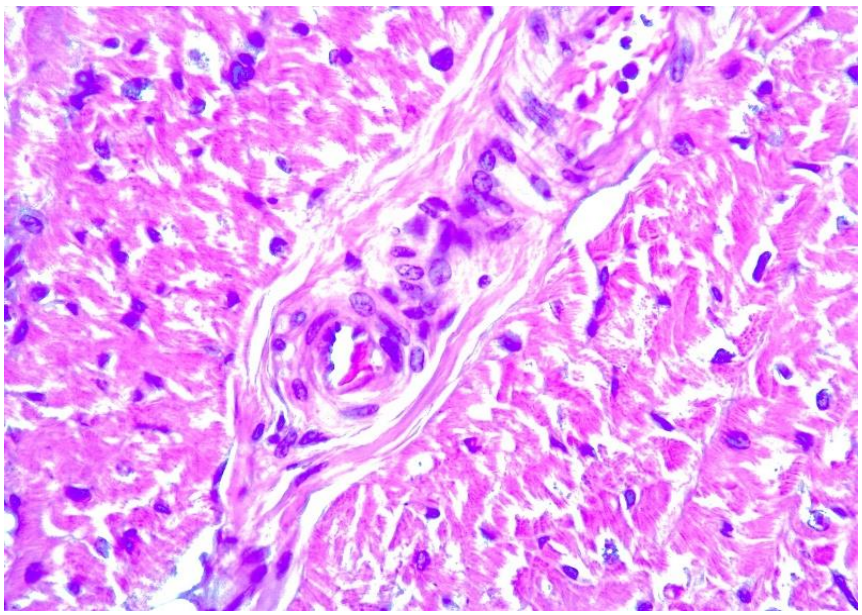


Рисунок 6 – Набухшие эндотелиоциты кровеносных капилляров с признаками пролиферации, фибриновые массы в просвете сосуда пациента COVID-19. × 100.
Окраска гематоксилин-эозин

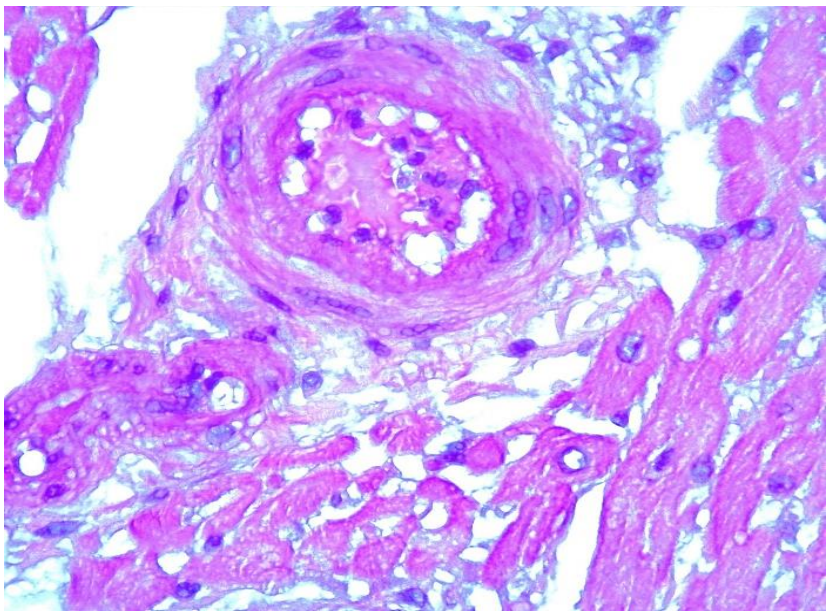


Рисунок 7 – Отек стенки артерии, десквамация эндотелия, в просвете сосуда клетки белой крови и фибриновые массы у пациента с COVID-19. × 100. Окраска гематоксилин-эозин

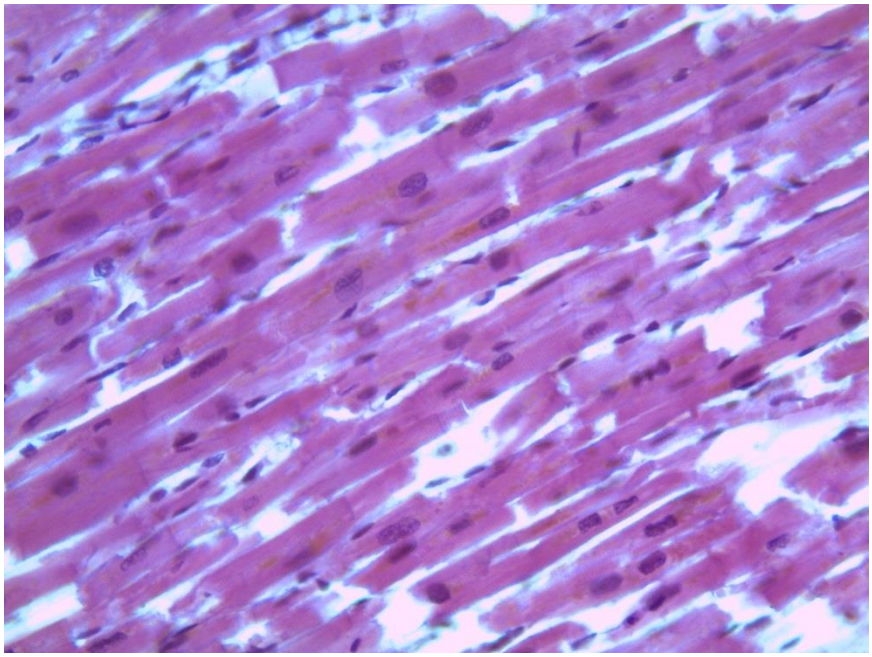


Рисунок 8 – Скопление зёрен липофусцина в саркоплазме кардиомиоцитов. × 200. Окраска гематоксилин-эозин

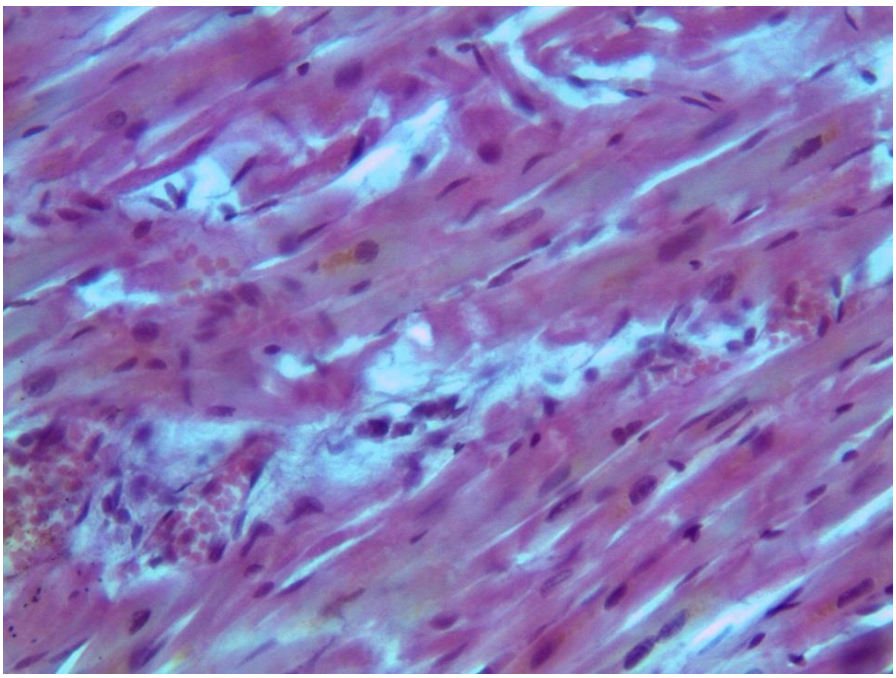


Рисунок 9 – Скопления зёрен липофусцина в перинуклеарной зоне клетки. × 200. Окраска гематоксилин-эозин

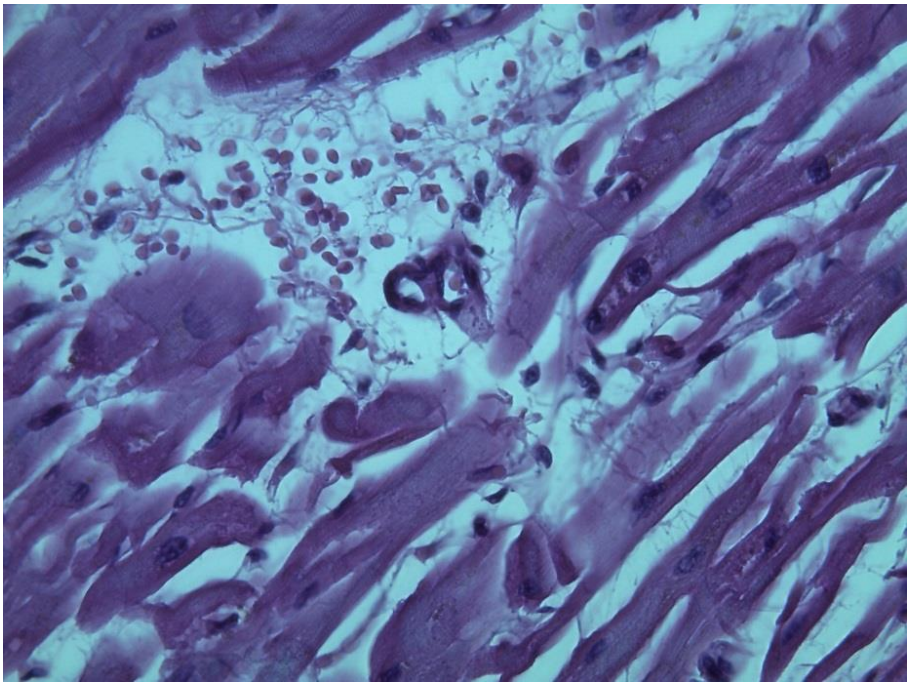


Рисунок 10 – Периваскулярные диапедезные кровоизлияния. × 200. Окраска гематоксилин-эозин

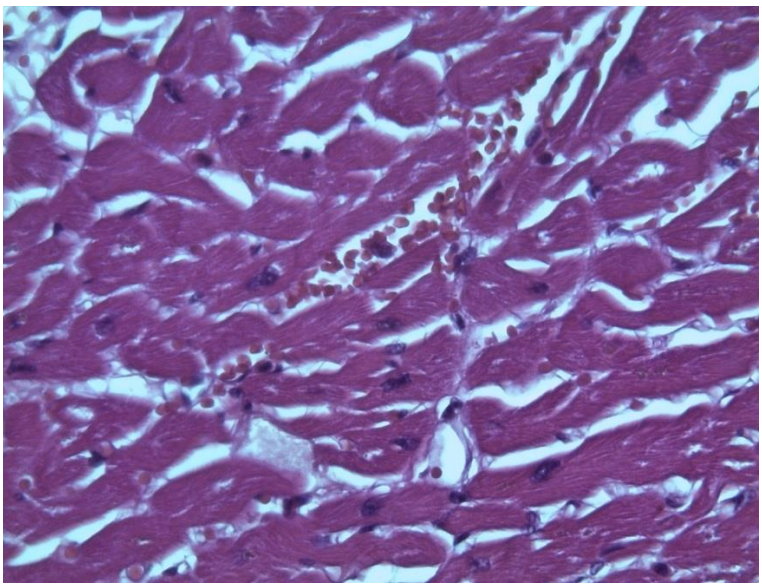


Рисунок 11 – Перимускулярные диапедезные кровоизияния. × 200. Окраска гематоксилин-эозин

При исследовании срезов миокарда окрашенных ОКГ по Д. Д. Зербино отмечали наличие фибриновых масс различной окраски, что было связано с давностью их образования. Можно было наблюдать фибрин различной окраски от оранжевых оттенков до красных и голубых (Рисунки 12 и 13).

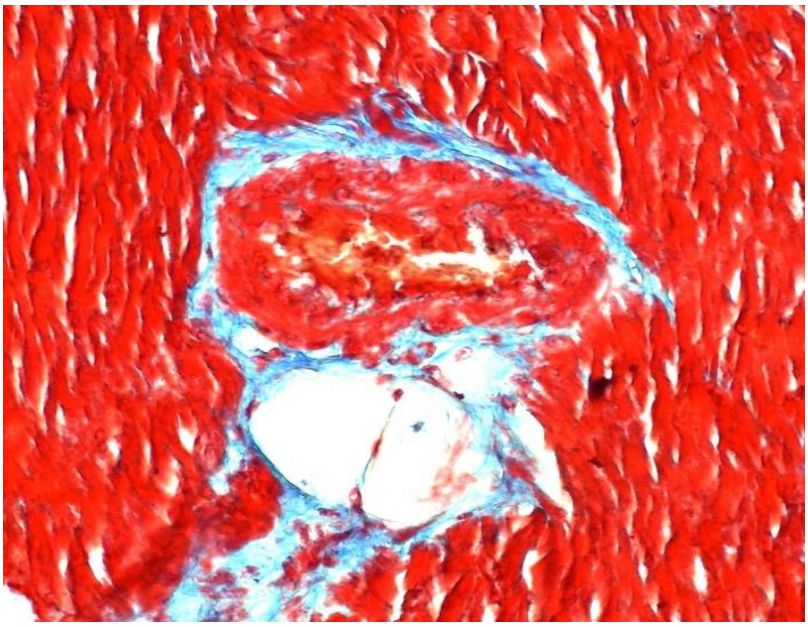


Рисунок 12 – Отек стенки артерии, выбухание эндотелиальной выстилки в просвет сосуда, фибриновые массы оранжевого цвета у пациента с COVID-19. × 100. Окраска ОКГ

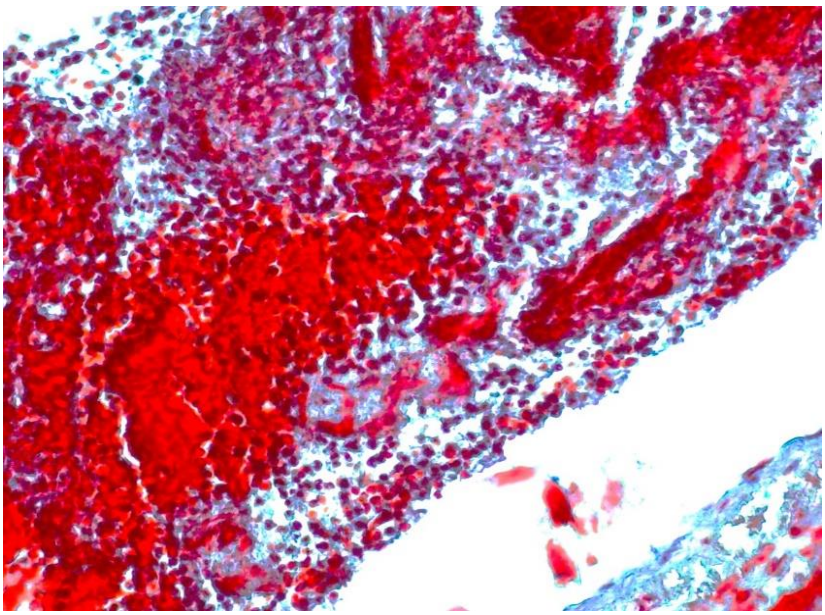


Рисунок 13 – Эритроцитарно-лейкоцитарно-фибриновый тромб в просвете интрамуральной артерии, фибрин красного и голубого цвета у пациента с COVID-19. × 200. Окраска ОКГ

3.2.2 Патоморфологические изменения миокарда при поляризационной микроскопии у пациентов с тяжелыми формами COVID-19

С целью выявления острых дистрофических изменений миокарда при COVID-19 изучали срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, в поляризованном свете. В срезах миокарда контрольной группы наблюдали отчетливо просматриваемую поперечную исчерченность в большинстве кардиомиоцитов. В отдельных кардиомиоцитах были выявлены субсегментарные и сегментарные контрактуры I степени и II степени в субэндокардиальных и интрамуральных отделах миокарда левого желудочка (Рисунок 14).

При COVID-19 микроскопия срезов миокарда в поляризованном свете позволяла выявить различной выраженности контрактурные повреждения кардиомиоцитов. Чаще наблюдали множественные субсегментарные контрактуры в виде мелких участков пересокращения отдельных групп миофибрилл с однородным

свечением участков саркоплазмы в пределах от 3–4 до 8–10 саркомеров, в которых отсутствовала поперечная исчерченность.

Наряду с субсегментарными конрактурами наблюдали сегментарные контрактуры I, II и III степени, которые выглядели в виде однородного свечения кардиомиоцита, захватывающего всю клетку. В одном поле зрения можно было наблюдать от 1–2 до 3–5 контрактур различной степени выраженности. При оценке контрактурно измененных кардиомиоцитов следует отметить их более частую локализацию в субэндокардиальных отделах миокарда левого желудочка.

Свечение, обусловленное усилением анизотропии А-дисков с незначительным уменьшением длины саркомера, было характерно для образования сегментарных контрактур I степени. При этом исчерченность кардиомиоцитов, в целом, просматривалась хорошо. При визуализации контрактур II степени отмечалось более выраженное сближение саркомеров, а также истончение I-дисков при котором Z-полосы становились размытыми.

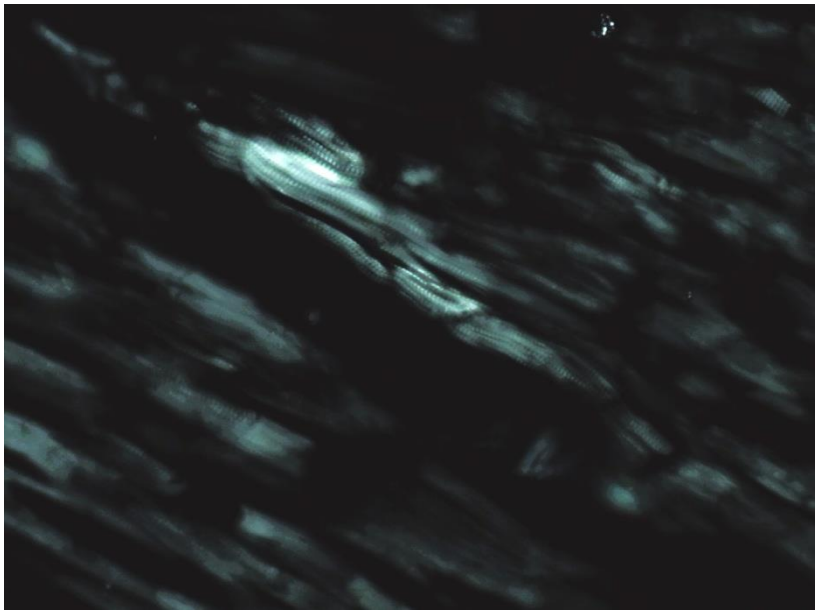


Рисунок 14 – Множественные контрактуры кардиомиоцитов у пациента с COVID-19. × 200. Поляризационная микроскопия

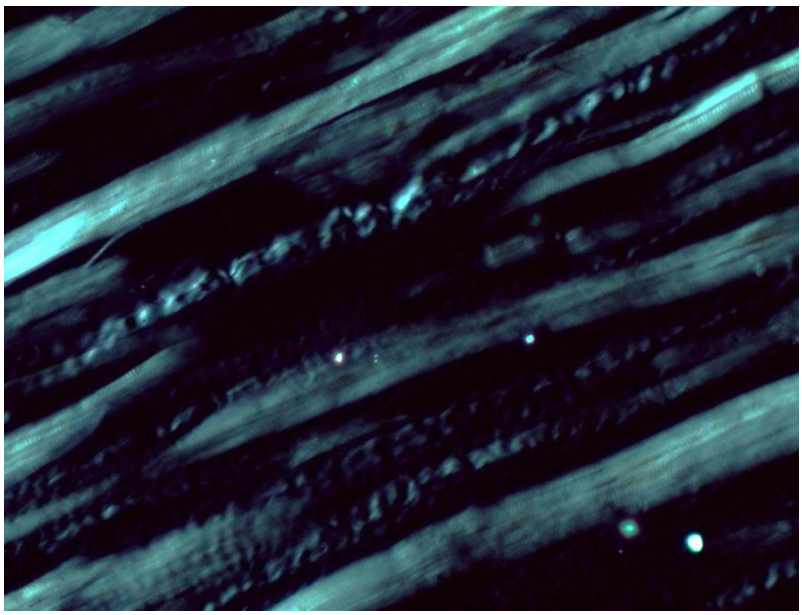


Рисунок 15 – Контрактуры III степени и глыбчатый распад кардиомиоцитов у пациента с COVID-19. × 200. Поляризационная микроскопия

Образование сегментарных контрактур III степени было связано с полным исчезновением I-дисков, при этом происходило уплотнение миофибрилл за счет слияния анизотропных дисков. В этих случаях поперечная исчерченность кардиомиоцитов не определялась вообще.

Наряду с описанными изменениями кардиомиоцитов, обусловленными дистрофическими изменениями, при поляризационной микроскопии были обнаружены единичные кардиомициты, а также скопления клеток, располагающиеся группами в состоянии миоцитолизиса. В измененных миоцитолизисом кадиомиоцитах, в результате распада и растворения миофибрилл в отдельных их участках отмечалось исчезновение поперечной исчерченности за счет разрушения I-дисков.

Кроме описанных изменений, наблюдали поля зрения, в которых саркоплазма миофибрилл отдельных кардиомиоцитов при световой микроскопии выглядела неравномерно окрашенной за счет чередования светлых и более темных участков. Ядра этих клеток выглядели несколько деформированными, гиперхромными. При поляризационной микроскопии в описанных клетках поперечная исчерченность

отсутствовала, при этом, отмечали наличие анизотропных глыбчатых субстанций, между которыми были расположены изотропные промежутки. Описанные изменения были связаны с развитием первичного глыбчатого распада, что было обусловлено участками пересокращения отдельных групп саркомеров и миоцитолизиса. Кардиомиоциты с первичным глыбчатым распадом располагались в виде единичных клеток среди множественных сегментарных контрактур (см. Рисунок 15).

3.2.3 Ультраструктурная организация эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда при COVID-19

С целью изучения особенностей ультраструктурной организации эндотелиоцитов кровеносных капилляров сердечной мышцы при тяжелых формах COVID-19 выполнили электронно-микроскопическое исследование образцов миокарда пациентов, умерших от тяжелых форм инфекции, вызванной SARS-CoV-2, и контрольной группы, в которую вошли скоропостижно умершие от острой коронарной смерти, установленной после проведения судебно-медицинской экспертизы.

Проанализировали изменения ультраструктуры эндотелиальных клеток кровеносных капилляров сердечной мышцы по сравнению с контролем. Обнаружены морфологические признаки инфицирования эндотелиоцитов вирусом SARS-CoV-2. Анализировали изменения объемной плотности органелл эндотелиальных клеток.

В контрольной группе эндотелиальные клетки кровеносных капилляров сердечной мышцы характерного строения непрерывного типа. Эндотелиоциты одноядерные, шириной до 5 мкм в перинуклиарной области и до 0,4 мкм на периферии. Соединены друг с другом щелевидными и плотными контактами в виде «замка». На люминальной поверхности эндотелиальных клеток – с микроворсинками.

В цитоплазме эндотелиоцитов кровеносных капилляров преобладали различные типы везикулярных структур: свободные транспортные везикулы,

везикулы, связанные с люминальной (люминальные кавеолы) и аблюминальной (аблюминальные или базальные кавеолы) поверхностью эндотелиоцита, что свидетельствовало об активности обменных процессов в клетке. Ядерная мембрана с множественными инвагинациями, ядра овальной формы. Цитоплазма содержит митохондрии, рибосомы, аппарат Гольджи, гладкий и гранулярный эндоплазматические ретикулумы (Рисунок 16).

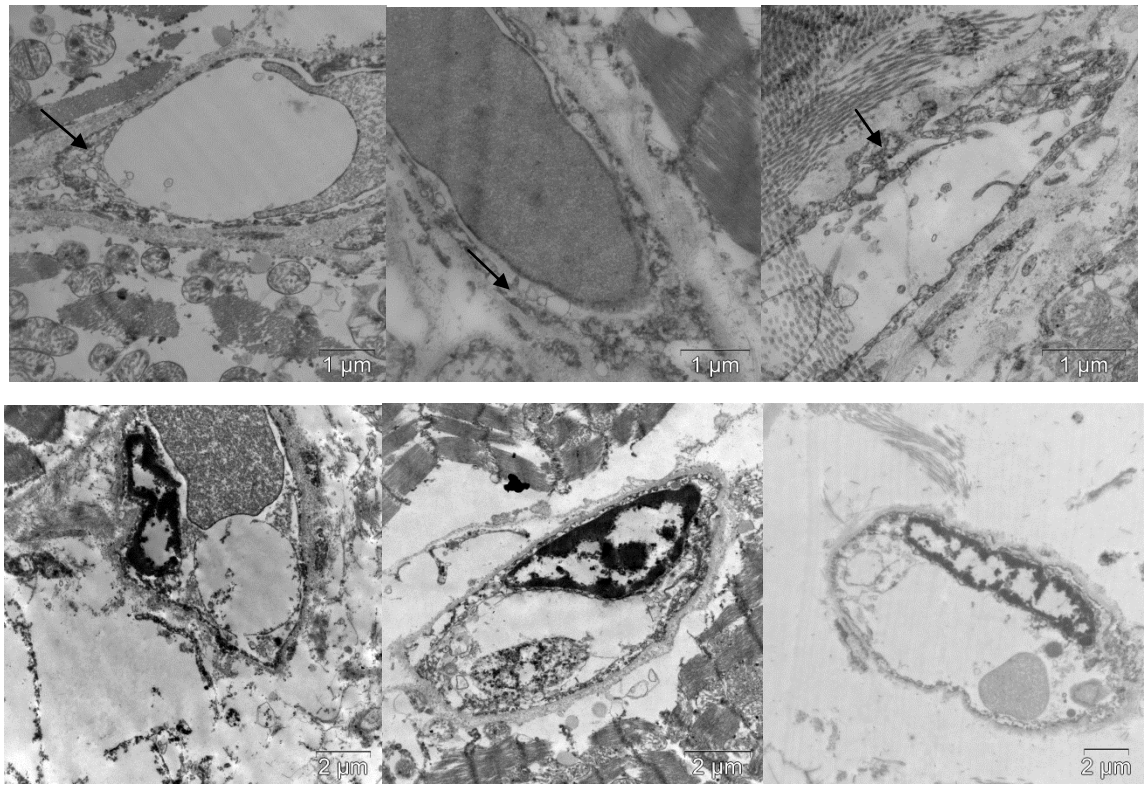


Рисунок 16 – Эндотелиоциты кровеносных капилляров миокарда левого желудочка контрольной группы с большим содержанием кавеол и свободных транспортных везикул (стрелки). Электронограмма, × 30 000

При COVID-19 наблюдали гетерогенность ультраструктурной организации эндотелиоцитов кровеносных капилляров. Эндотелиальные клетки находились в состоянии отека-набухания шириной до 0,8 мкм на периферии. Отличительной чертой цитоплазмы эндотелиальных клеток при COVID-19 было повышенное содержание мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума и свободных полисомальных комплексов рибосом (Рисунок 17).

В просвете капилляров и перикапиллярном пространстве наблюдали вирусы, которые представляют собой единичные или небольшие группы электронно-плотных частиц от округлой до овальной формы, размерами 60–170 нм, с видимыми поверхностными выступами. Внутренняя структура вирусов представляла собой неоднородные гранулярные профили рибонуклеопротеида (РНП), в виде круглых или продолговатых электронно-плотных структур, размерами 6–12 нм. (Рисунок 18).

В просветах капилляров и перикапиллярном пространстве отмечали контакты вируса с микроворсинками и клеточной мембраной эндотелиальных клеток (Рисунок 18 Б, В, Д, Г).

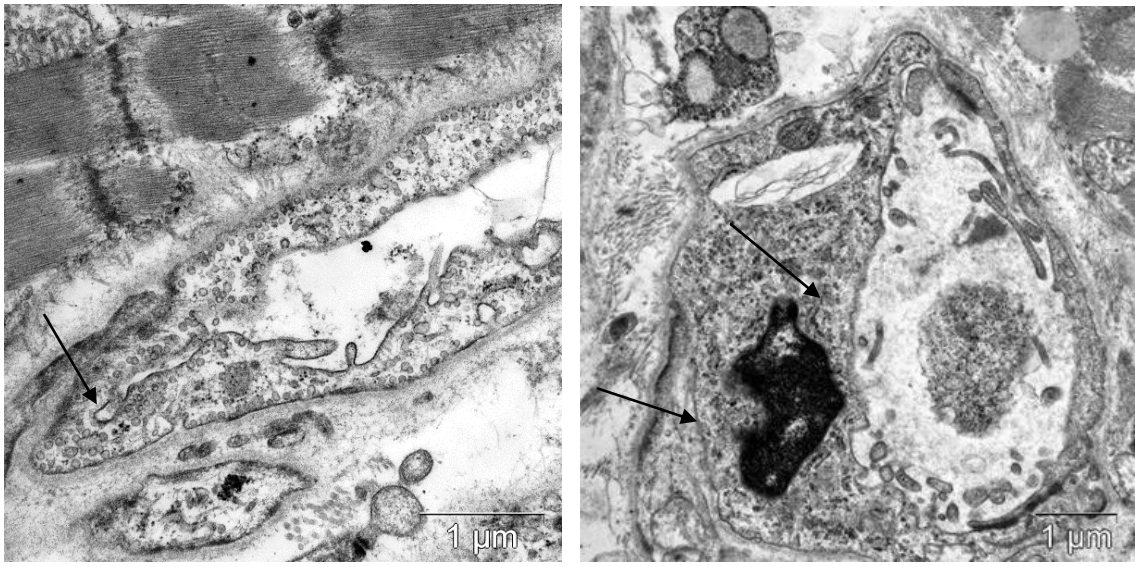


Рисунок 17 – Эндотелиоциты в состоянии отека-набухания с большим содержанием рибосом и мембран эндоплазматического ретикулума (стрелки). Электронограмма, × 30 000

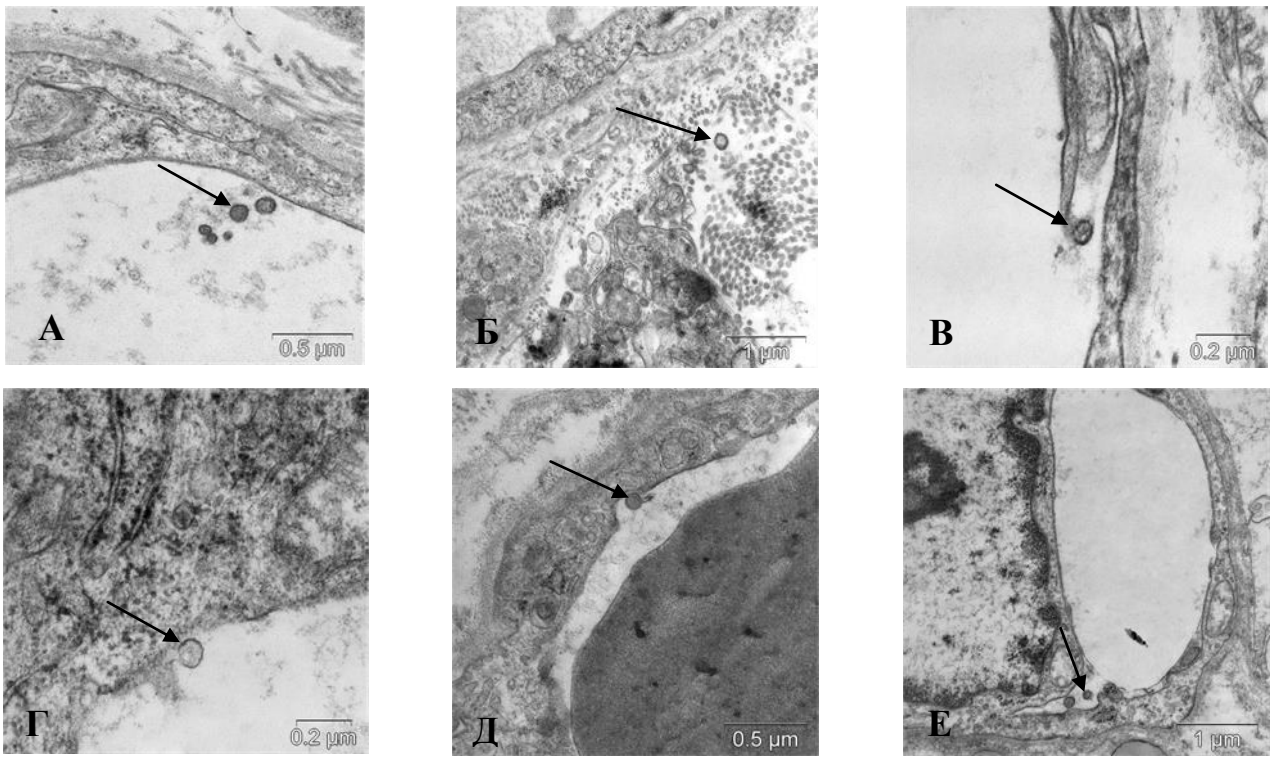


Рисунок 18 – Вирусные частицы в эндотелиоците: А, Е – вирусные частицы в просвете капилляра (стрелка), Б – вирусная частица в перикапиллярном пространстве (стрелка), В – контакт вирусной частицы с выростом цитоплазмы кровеносного капилляра (стрелка), Г, Д – контакт вирусной частицы с клеточной мембраной эндотелиоцита кровеносного капилляра (стрелка)
Электронограммы, ×30 000

В качестве особенностей при изучении ультраструктуры эндотелиальных клеток кровеносных капилляров сердечной мышцы при COVID-19 нужно отметить наличие большого количество вакуолей в околоядерной зоне, которые отсутствовали в контроле. Цистерны комплекса Гольджы расширены, округлой или овальной формы, содержат, электроннoплотный материал. В цитоплазме наблюдалась различная степень накопления везикулярных структур. В цитоплазме эндотелиоцитов обнаружены липидные включения разной степени выраженности, больше в парануклеарном пространстве, которые в эндотелиоцитах кровеносных капилляров миокарда в контроле не обнаружены. (Рисунок 19).

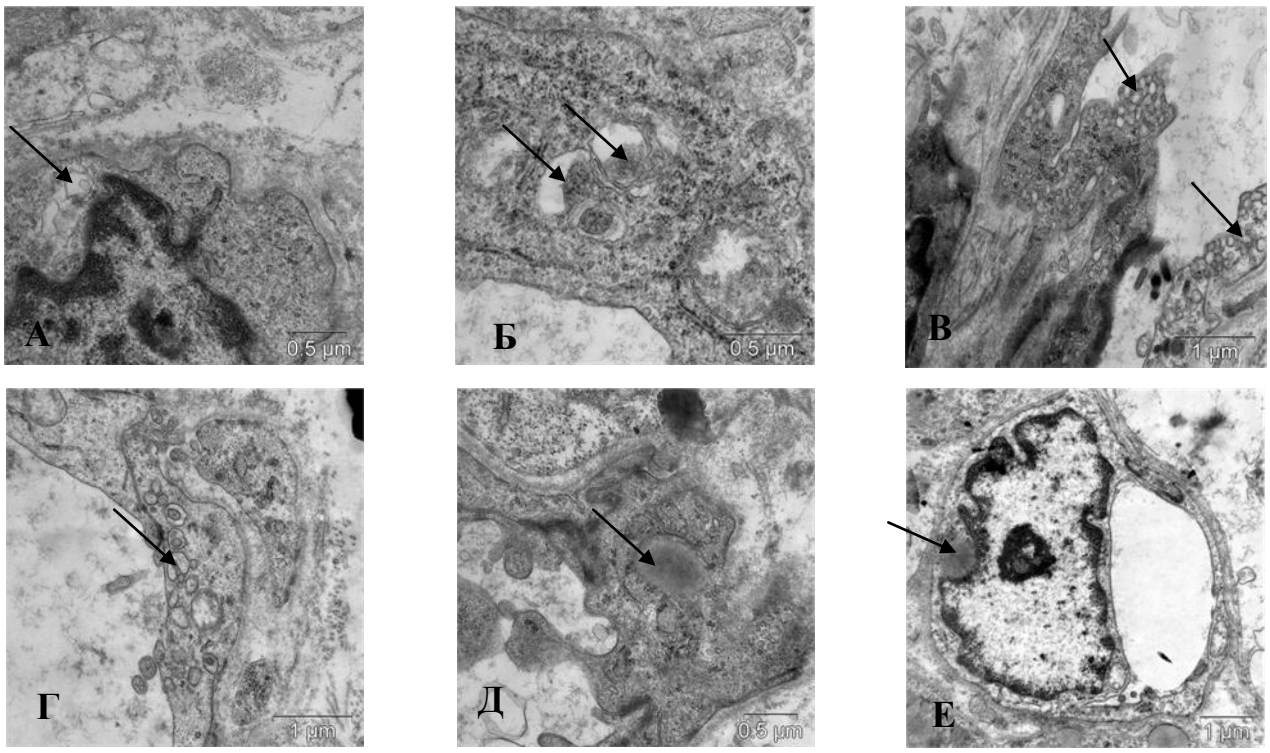


Рисунок 19 – Ультраструктурная перестройка эндотелиоцитов: А – вакуоли в околоядерной зоне (стрелка), Б – электронноплотный материал в цистернах комплекса Гольджи (стрелки), В, Г – различная степень накопления везикулярных структур (стрелки), Д, Е – липидная капля в цитоплазме эндотелиоцита (стрелки). Электронограммы, × 30 000

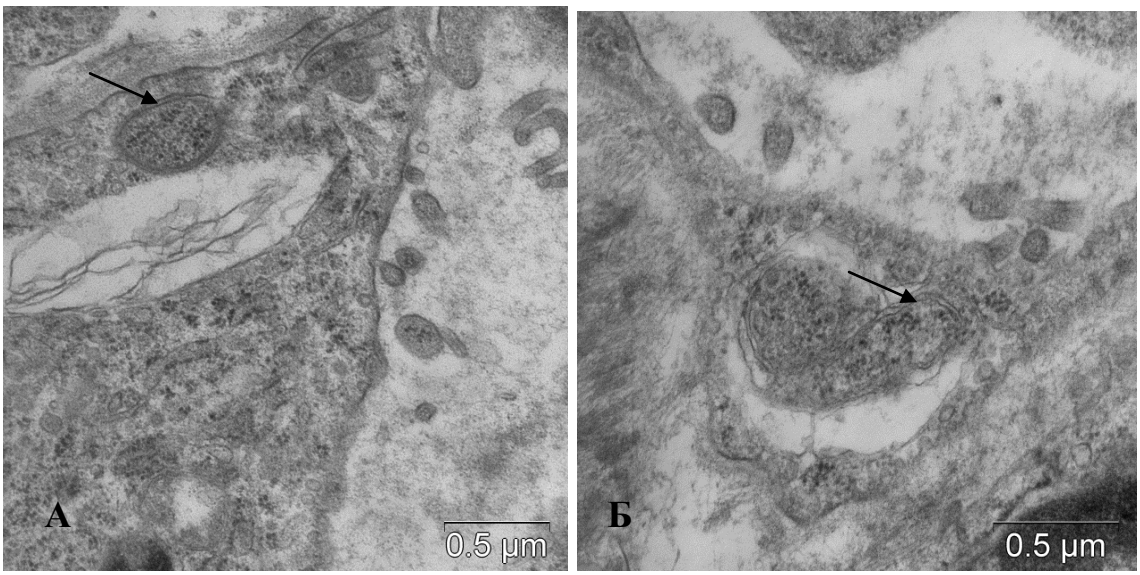
В цитоплазме эндотелиальных клеток контрольной группы, двумембранные структуры не обнаружены, в цитоплазме эндотелиальных клеток умерших от тяжелых форм COVID-19 наблюдали наличие двумембранных структур, которые имели круглую или овальную форму, разных размеров (до 300 × 500 нм), иногда собранные в кластеры. (Рисунок 20 А и Б).

Цитоплазма эндотелиоцитов, кроме двумембранных структур, содержала закрученные спирально мембраны эндоплазматического ретикулума, часть из них связаны с двумембранными структурами и эндоплазматическим ритикулумом, образуя дезорганизованные ретикулярные структуры, размером до 500 × 800 нм (Рисунок 20 В и Г).

Внутри клетки отмечали вирусные частицы, которые находились либо в

двумембранных везикулах, либо в одномембранных структурах без непосредственного контакта вириона с цитозолем. Вирусные частицы, таким образом, образовывали от небольших компартментов с одной вирусной частицей и элекронноплотным материалом до очень больших компартментов с десятками частиц, замкнутых в двумебранных структурах овальной или округлой форм, размерами до 400 × 600 нм, а также в одномембранных вакуолях размерами до 250 × 500 нм. Иногда компартменты прикреплялись к внутренней поверхности мембран люминальной или аблюминальной поверхности эндотелиальной клетки (Рисунок 20 Д и Е).

В исследовании преобладающими структурами в эндотелии кровеносных капилляров миокарда у умерших от тяжелых форм COVID-19 были мембраны эндоплазматического ретикулума с застежкой-молнией (zippered endoplasmic reticulum (ER) с рибосомами, т. е. отсутствовало просветное пространство цистерн. (Рисунок 20 В). Отмечали вакуоли с вирусными частицами, набухшие митохондрии, в которых не выявлялись кристы (Рисунок 21).



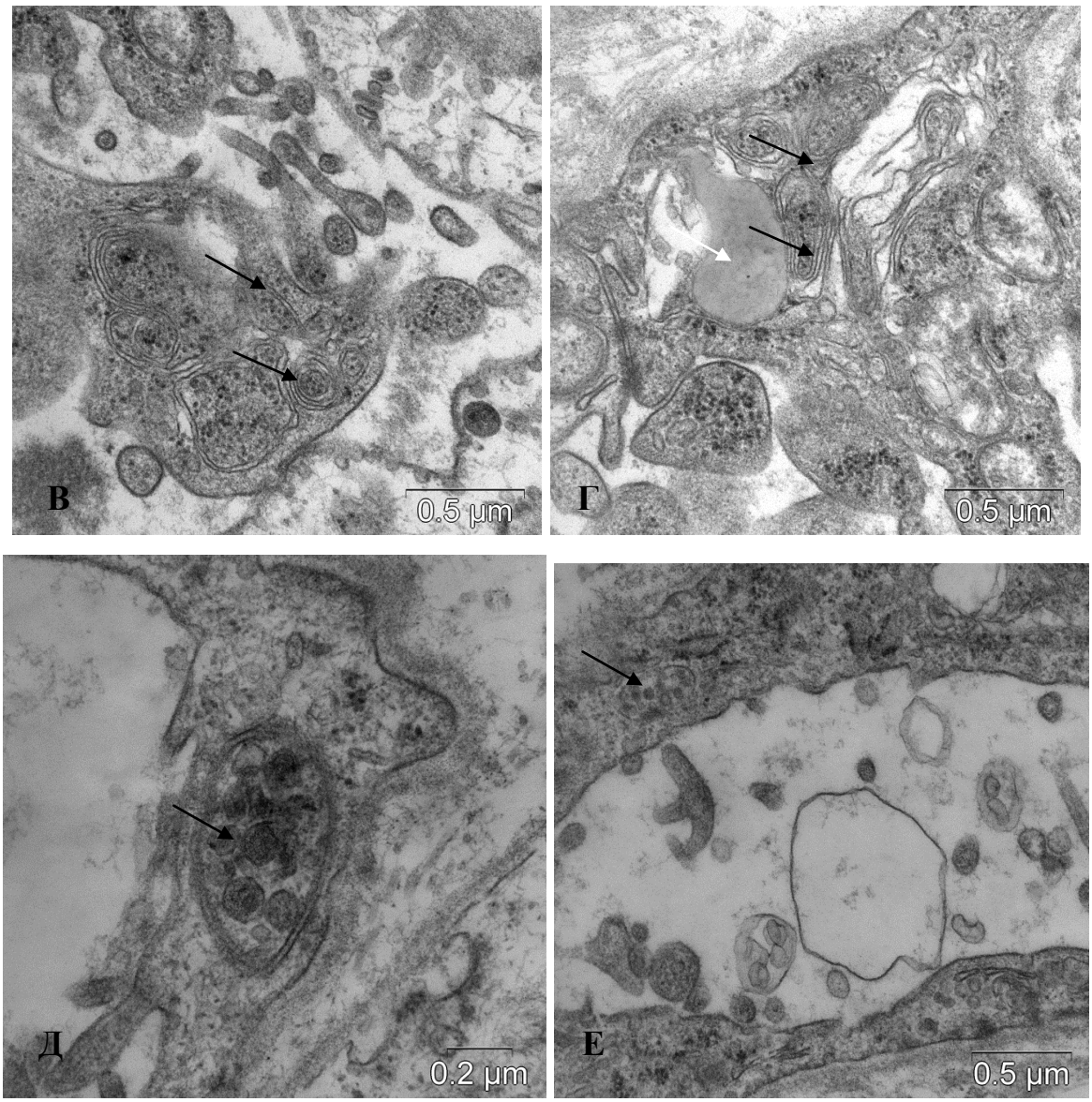


Рисунок 20 – Ультраструктурная перестройка инфицированных эндотелиоцитов: А, Б – двумембранные везикулы с электронноплотным материалом (стрелки), В – мембраны эндоплазматического ретикулума с застежкой-молнией, Г – закрученные спирально мембраны (черные стрелки), липидная капля в цитоплазме эндотелиоцита (белая стрелка), Д – вирусные частицы в двухмембранной структуре (стрелка), Е – вирусные частицы в одномембранной вакуоли (стрелка). Электронограммы, × 30 000

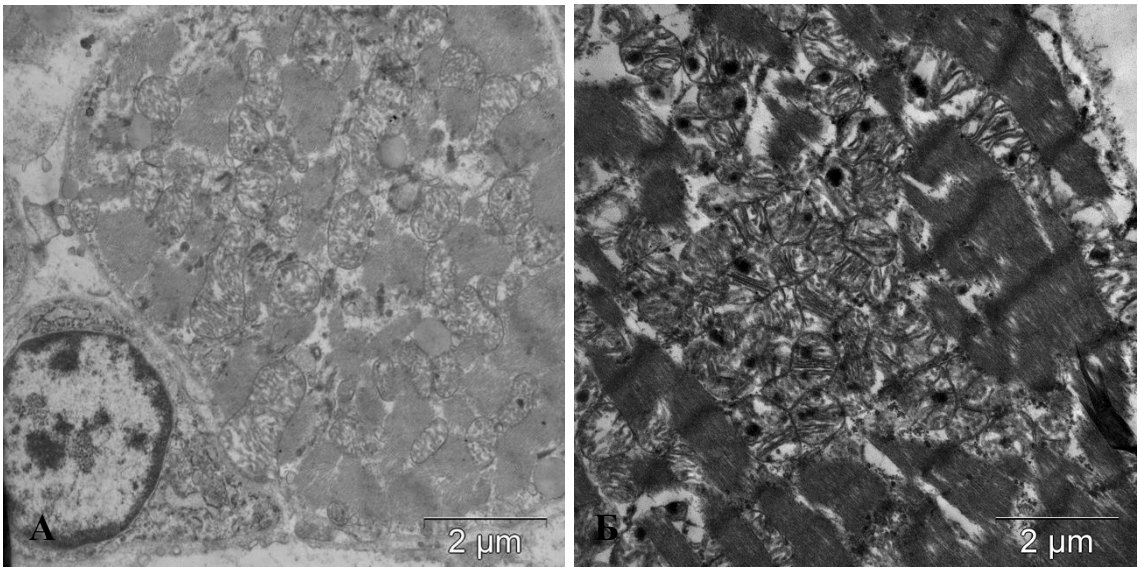


Рисунок 21 – Ультраструктурная перестройка инфицированных эндотелиоцитов: А – набухшие митохондрии, в которых не выявлялись кристы, Б – контроль. Электронограммы, × 30 000

При морфометрическом анализе эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда при COVID-19 отмечали более высокий показатель объемной плотности относительно контроля, мембран гранулярного ретикулума, аппарата Гольджи, свободных полисомальных комплексов рибосом и липидов (Таблица 2).

Таблица 2 – Результаты морфометрии эндотелиоцитов кровеносных капилляров с преобладанием рибосом и мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума (M ± SD)

Параметры	Контроль	COVID-19
Кавеолы люминальные, Vv	3,46 ± 1,18	2,81 ± 1,75
Кавеолы аблюминальные, Vv	10,88 ± 2,79	5,92 ± 2,43*
Транспортные везикулы, Vv	12,18 ± 2,74	4,67 ± 2,19*
Митохондрии, Vv	5,75 ± 1,75	6,43 ± 4,11
ГЭР, Vv	6,11 ± 1,48	12,94 ± 4,26*
Рибосомы, Vv	5,22 ± 1,32	10,88 ± 4,62*
Лизосомы, Vv	2,56 ± 1,08	3,51 ± 2,35

Продолжение таблицы 2

Параметры	Контроль	COVID-19
Аппарат Гольджи, Vv	2,14 ± 1,39	4,33 ± 1,52*
Липиды, Vv	0	5,52 ± 0,71*
Примечание: Vv – объемная плотность структур (%); ГЭР – гранулярный эндоплазматический ретикулум; * – отличия от соответствующих значений в контроле $p \leq 0,05$.		

Объемная плотность люминальных кавеол, лизосом и митохондрий в ЭК кровеносных капилляров сердечной мышцы основной группы была сопоставима с объемной плотностью люминальных кавеол, лизосом и митохондрий в ЭК контрольной группы.

Объемная плотность аблюминальных кавеол в ЭК кровеносных капилляров сердечной мышцы передней стенки левого желудочка основной группы была меньше в 1,8 раза, чем объемная плотность аблюминальных кавеол в ЭК контрольной группы.

Объемная плотность транспортных везикул в ЭК кровеносных капилляров сердечной мышцы основной группы была меньше в 2,6 раза, чем объемная плотность транспортных везикул в ЭК контрольной группы.

Объемная плотность гранулярного эндоплазматического ретикулума в ЭК кровеносных капилляров сердечной мышцы основной группы была больше в 2,1 раза, чем объемная плотность ГЭР в ЭК контрольной группы.

Объемная плотность рибосом в ЭК кровеносных капилляров сердечной мышцы основной группы была больше в 2,1 раза, чем объемная плотность рибосом в ЭК контрольной группы.

Объемная плотность аппарата Гольджи в ЭК кровеносных капилляров сердечной мышцы основной группы была больше в 2 раза, чем объемная плотность аппарата Гольджи в ЭК контрольной группы.

Объемная плотность транспортных липидов в ЭК кровеносных капилляров сердечной мышцы основной группы была больше в 5,5 раза, чем объемная

плотность липидов в ЭК контрольной группе, так как липидные капли в контрольной группе отсутствовали.

При проведении морфометрического анализа ультраструктуры эндотелиальных клеток кровеносных капилляров сердечной мышцы у пациентов, умерших от тяжелых форм COVID-19, были выявлены статистически значимые морфологические изменения в сравнении с эндотелиальными клетками контрольной группы.

Мы наблюдали увеличение в 2 раза объемной плотности аппарата Гольджи, рибосом, гранулярного эндоплазматического ретикулума в группе умерших от тяжелых форм COVID-19 по сравнению с контрольной группой, и снижение объемной плотности аблюминальных кавеол и транспортных везикул. Объемная плотность митохондрий, лизосом и люминальных кавеол статистически не изменена в группах. В основной группе появились капли липидов, которые отсутствуют в контрольной группе.

Выявленные ультраструктурные изменения в цитоплазме эндотелиоцитов капилляров сердечной мышцы свидетельствуют о перестройке внутриклеточных мембран в условиях инфицирования SARS-CoV-2.

В результате проведенных ультраструктурных исследований выявлены морфологические признаки инфицирования эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда вирусом SARS-CoV-2. Показано наличие вирусных частиц в просвете кровеносных капилляров и перикапиллярном пространстве и в цитоплазме эндотелиоцитов, возрастание объемной плотности мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, рибосом, комплекса Гольджи и наличие липидных включений и снижение объемной плотности аблюминальных кавеол и транспортных везикул, наличие в цитоплазме эндотелиоцитов ЭР с застежкой-молнией (zippered endoplasmic reticulum (ER), двумембранных структур (DMS) и одномембранных вакуолей с вирусными частицами, наличие электроннoплотного материала в цистернах комплекса Гольджи.

Наблюдаемые морфологические признаки ультраструктурных изменений эндотелиоцитов кровеносных капилляров в виде уменьшения в цитоплазме

аблюминальных кавеол и транспортных везикул и увеличения объемной плотности мембран ГЭР, рибосом, комплекса Гольджи, и появления липидных включений, нарушения структуры клетки в виде деструкции мембранных органелл (двумембранных структур (DMS) и одномембранных вакуолей с вирусными частицами) свидетельствуют о снижении транспортной функции эндотелиальных клеток.

3.2.4 Оценка молекулярно-биологических характеристик эндотелия кровеносных капилляров миокарда при тяжелых формах COVID-19

Для оценки молекулярно-биологических характеристик эндотелия кровеносных капилляров миокарда у пациентов, умерших от тяжелой формы COVID-19, проводили окрашивание срезов миокарда контрольной и основной групп с использованием моноклональных антител к эндотелиальному фактору – CD31 и CD34.

При проведении исследования были получены данные, согласно которым экспрессия белка межклеточных контактов эндотелиальных клеток CD31 (PECAM-1) образцов миокарда контрольной группы характеризовалась выявлением гликопротеинов, локализующихся в эндотелиальной выстилке кровеносных сосудов в виде коричневого равномерно выраженного окрашивания цитоплазмы эндотелиоцитов (Рисунок 22).

При иммуногистохимическом окрашивании срезов миокарда было отмечено выраженное снижение экспрессии позитивно окрашенных эндотелиальных клеток при использовании биомаркера CD31 (PECAM-1) в сравнении с группой контроля. Показатель объемной плотности сосудов миокарда при оценке экспрессии CD31(PECAM-1) в случаях летальных наблюдений при COVID-19, был в 2,4 раза меньше за счет снижения цвета, интенсивности и распределения (Рисунки 22, 23 и 24, Таблица 3).

На следующем этапе при оценке экспрессии мембранного белка межклеточной адгезии эндотелиальных клеток CD34 в гистологических срезах

миокарда контрольной группы было отмечено выявлением мембранного белка межклеточной адгезии в виде коричневого окрашивания эндотелиальной выстилки кровеносных сосудов (Рисунок 25).

При сравнительной оценке экспрессии эндотелиального фактора CD34 в срезах миокарда с контрольной группой, также было установлено снижение распределения CD34-позитивных клеток в сравнении с контролем (Рисунки 25 и 26). Различия в интенсивности экспрессии эндотелиоцитов в исследуемых образцах миокарда пациентов с летальным исходом от COVID-19, которая выражалась в виде слабовыраженного неравномерного окрашивания клеток.

При морфометрии отмечали статистически значимое снижение объемной плотности сосудов миокарда группы пациентов с летальным исходом от COVID-19 почти в 2,6 раза по сравнению с объемной плотностью показателя контрольной группы за счет снижения цвета, интенсивности и распределения (Таблица 3).

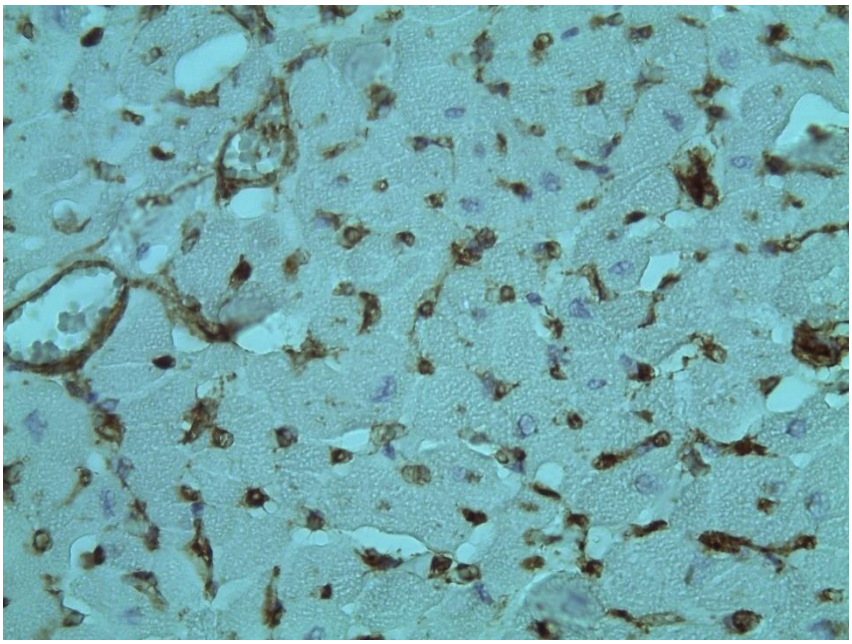


Рисунок 22 – Экспрессия молекул CD31. PECAM определяются в эндотелиальных клетках и в единичных клетках стромы миокарда контрольной группы. Иммуногистохимическое исследование × 400

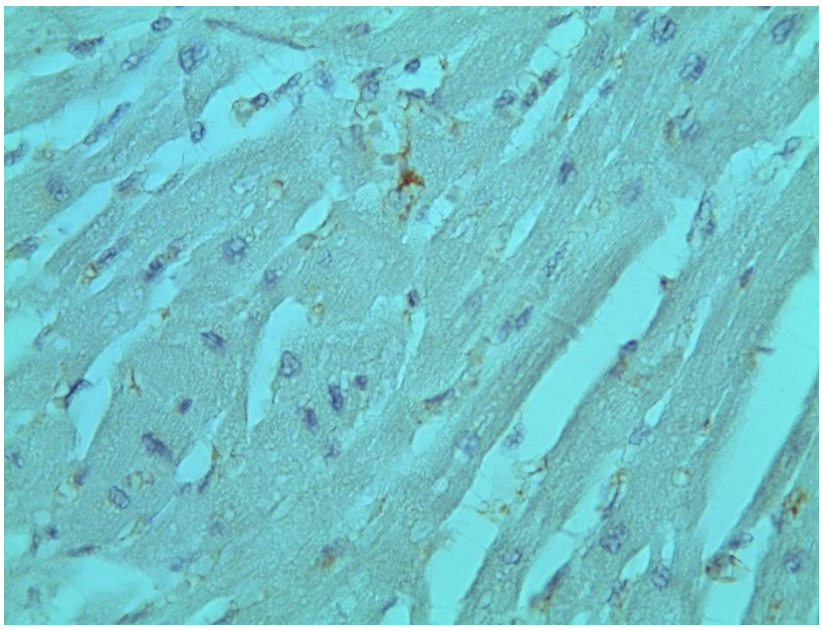


Рисунок 23 – Экспрессия молекул CD31. PECAM присутствует в отдельных клетках капилляров миокарда пациента с COVID-19. Иммуногистохимическое исследование × 400.

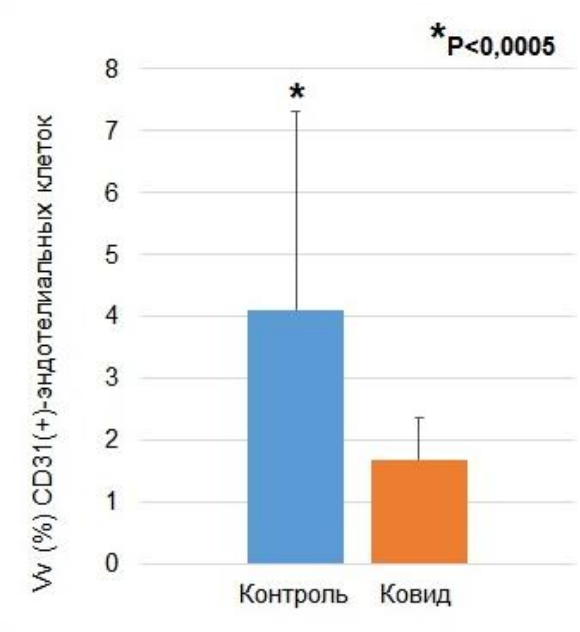


Рисунок 24 – Объемная плотность (Vv, %) сосудов миокарда при экспрессии эндотелиального фактора CD31 в основной группе и пациентов с COVID-19 (M ± SD)

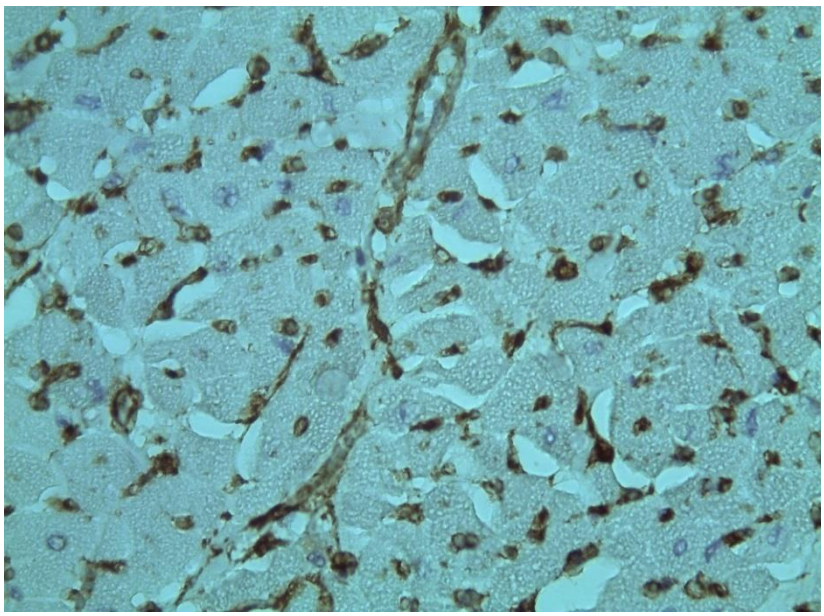


Рисунок 25 – Экспрессия эндотелиального фактора CD34 определяется в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов миокарда контрольной группы. Иммуногистохимическое исследование × 400

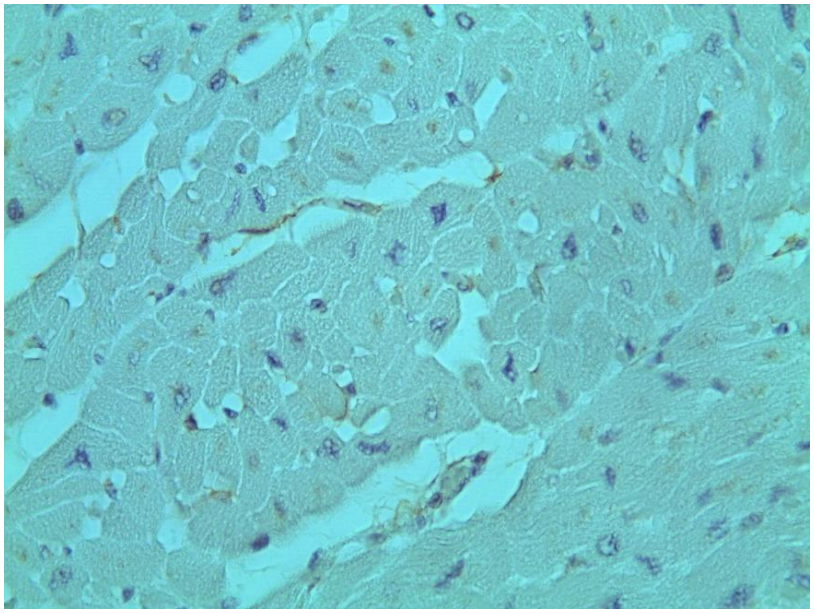


Рисунок 26 – Снижение экспрессии эндотелиального фактора (CD34), которая плохо просматривается и определяется в отдельных капиллярах миокарда у пациента с COVID-19. Иммуногистохимическое исследование × 400

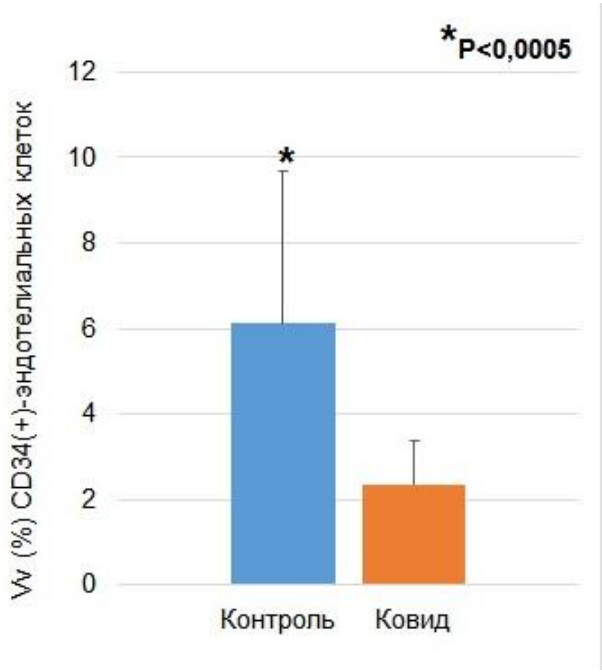


Рисунок 27 – Объемная плотность (Vv, %) сосудов миокарда при экспрессии эндотелиального фактора CD34 в основной и контрольной группах (M ± SD)

Таблица 3 – Иммуногистохимическое исследование объемной плотности (Vv, %) сосудов миокарда при экспрессии эндотелиального фактора CD31 и эндотелиального фактора CD34 в группе пациентов с COVID-19 и контрольной группах (M ± SD)

Параметры исследования	Контрольная группа	Основная группа
CD31	4,11 ± 1,59	1,69 ± 1,33*
CD34	6,12 ± 1,78	2,35 ± 2,00*
Примечание: * – p < 0,0005 при сравнении с контрольной группой.		

Таким образом, развитие тяжелых форм новой коронавирусной инфекции (COVID-19) у пациентов с летальным исходом сопровождается патогистологическими изменениями в миокарде в виде выраженных острых расстройств кровообращения, очаговых кровоизлияний, отека, десквамации и пролиферации эндотелия, внутрисосудистого тромбообразования, а также острых очаговых повреждений кардиомиоцитов и липофусциноза кардиомиоцитов. Проведенное исследование не позволило выявить взаимосвязь между

вышеописанными изменениями и продолжительностью заболевания, имея в виду период от момента манифестации первых симптомов до развития летального исхода. Вышеописанные изменения наблюдались во всех исследуемых случаях COVID-19.

Образование кровоизлияний, отек, десквамация и пролиферация эндотелия, а также внутрисосудистое тромбообразование связаны с выраженной эндотелиальной дисфункцией, развивающейся при COVID-19. Эти изменения приводят к ишемии миокарда и развитию острых очаговых повреждений клеток миокарда в виде их контрактур, глыбчатого распада и миоцитолизиса. Кроме того, был выявлен липофусциноз в виде мелких жировых включений в кардиомиоцитах. Липофусциноз, также как и все вышеуказанные патоморфологические изменения, был выявлен во всех наблюдениях COVID-19 и был связан с дистрофическими изменениями кардиомиоцитов.

Использование моноклональных антител к эндотелиальным факторам, сопровождающееся снижением экспрессии CD31 и CD34, позволившее выявить выраженное снижение экспрессии эндотелия, является молекулярно-биологическим обоснованием развития дисфункции эндотелия при новой коронавирусной инфекции, обусловленной альтерацией эндотелиоцитов.

3.4 Обсуждение результатов проведенного исследования

При развитии COVID-19 часто наблюдается клиническая симптоматика, ассоциированная с острым повреждением сердца [12, 154, 155, 174, 204, 271, 355]. При этом изменения в миокарде являются неспецифичными. Преобладают острые дисциркуляторные нарушения, преимущественно в сосудах микроциркуляторного русла, с развитием эндотелиальной дисфункции, что в совокупности с прогрессирующей гипоксией, обусловленной дыхательной недостаточностью, способно приводить к острым очаговым повреждениям миокарда и вызывать электрическую нестабильность сердца [65].

Следует отметить, что одним из факторов возникновения

сердечно-сосудистой недостаточности у умерших пациентов, которые были инфицированы вирусом SARS-CoV-2, является развивающееся при COVID-19 генерализованное сосудистое поражение [72, 155, 174, 187, 191, 204, 356]. Развивающиеся гистопатологические изменения демонстрируют, что COVID-19 представляет собой (микро) сосудистое и эндотелиальное заболевание, при котором эндотелиальная дисфункция играет важную роль [58, 72, 188, 190, 253, 259].

Значимым в патогенезе COVID-19 является развитие системного эндоваскулита, как результат генерализации инфекции и развития иммунопатологических реакций [11, 33, 58].

На современном этапе характерным морфологическим признаком COVID-19 является дисплазия эндотелиальных клеток [33]. Кровоизлияния, тромбозы и некрозы миокарда представляют собой последствия развившейся выраженной дисфункции эндотелия [33]. Тромбозы крупных и мелких ветвей венечных артерий составляют еще один из механизмов повреждения миокарда при COVID-19 [32].

Тромботические и микрососудистые осложнения часто наблюдаются у умерших пациентов от COVID-19. Однако вопрос о том, обусловленно ли это прямым повреждением вирусного инфекцирования эндотелиальных клеток или активацией эндотелия, вызванной воспалением, остается неоднозначным [50, 243].

Так как эндотелий кровеносных капилляров является одним из основных структурных компонентов гистогематического барьера (ГГБ), альтерация эндотелиальных клеток кровеносных капилляров сердечной мышцы сопровождается нарушением функций ГГБ в виде нарушения регуляции метаболизма и функций клеток, повышения проницаемости сосудистой стенки и, как следствие, нарушения гомеостаза [169, 263, 348]. При этом альтерация эндотелиальных клеток сопровождается прогрессированием микроциркуляторных нарушений и, как следствие, приводит к развитию полиорганной недостаточности [54, 215, 351].

В соответствии с вышеизложенным была проведена комплексная оценка клинико-морфологических особенностей миокарда у пациентов, умерших от

тяжелого течения COVID-19, основанная на данных медицинских карт больных, получавших лечение в стационарных условиях и умерших от новой коронавирусной инфекции (n 73), на аутопсийном материале при проведении световой и поляризационной микроскопии, а так же иммуногистохимического исследования. Была проведена электронная микроскопия для изучения ультраструктуры эндотелиоцитов кровеносных капилляров сердечной мышцы.

При изучении клинико-лабораторных проявлений поражения сердечно-сосудистой системы у пациентов, умерших от тяжелого течения COVID-19 были выявлены следующие проявления: при проведении ультразвукового исследования – выраженное снижение фракции выброса левого желудочка; при проведении электрокардиографии – нарушение реполяризации и различные аритмические нарушения; стойкая артериальная гипотензия, не смотря на непрерывную коррекцию вазопрессорами с использованием инфузомата; отмечалось статистически значимое повышение С-реактивного протеина, тропонина I и D-димера при проведении лабораторных исследований.

При изучении морфологических изменений сердечной мышцы при тяжелых формах COVID-19, сопровождавшихся нарушением сократительной способности левого желудочка сердца, были выявлены патоморфологические изменения миокарда, проявлявшиеся острыми расстройствами кровообращения, очаговыми кровоизлияниями и отеком, десквамацией и пролиферацией эндотелиальных клеток кровеносных сосудов, липолипофусцинозом. При проведении поляризационной микроскопии обнаружены контрактурные повреждения различной степени, участки миоцитолизиса и глыбчатого распада.

При изучении молекулярно-биологических характеристик эндотелиальных факторов (CD31 и CD34) кровеносных капилляров сердечной мышцы при COVID-19 выявлены выраженные снижения экспрессии данных белков-маркеров, что может быть обусловлено альтерацией эндотелиоцитов, десквамацией с образованием циркулирующих эндотелиальных клеток, проявлением эндотелиально-мезенхимального перехода. Это является

молекулярно-биологическим обоснованием развития эндотелиальной дисфункции при тяжелых формах COVID-19.

Согласно литературным данным, COVID-19 – это инфекционная патология, развитие которой сопровождается генерализованным сосудистым поражением, выраженными микроциркуляторными расстройствами, характеризующимися альтерацией эндотелиальных клеток с формированием эндотелиально-мезенхимального перехода с увеличением количества циркулирующих эндотелиальных клеток [366].

Электронная микроскопия является золотым стандартом при исследовании инфекционных заболеваний, поскольку данный метод позволяет визуализировать вирусные частицы в тканях и внутри клеток и выявлять клетки-мишени вирусной инфекции [366].

В связи с этим были проведены ультраструктурный и морфометрический анализы организации эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда при COVID-19.

В последнее время появились работы, демонстрирующие наличие вируса SARS-CoV-2 в различных органах и клетках, что не всегда оказывается корректным и вызывает критику со стороны специалистов [366]. Считается, что для правильной идентификации коронавируса в образцах тканей необходимо понимание биологии вируса и процесса его репликации. Кроме того, знание ультраструктуры и морфогенеза коронавируса имеет важное значение для предотвращения ошибок при его идентификации [366].

При анализе исследования, выполненного на аутопсийном материале сердца, полученного от пациентов с COVID-19, и обосновании ультраструктурных особенностей эндотелия кровеносных капилляров миокарда мы основывались на работах ученых, выполненных на культуре клеток Vero E6 при их вирусном инфицировании [237, 314]. Культура клеток Vero E6 является одной из наиболее часто используемых клеточных линий для изучения как SARS-CoV-2, так и SARS-CoV, что связано с высоким уровнем экспрессии рецептора ACE-2, и неспособностью клеток продуцировать интерферон [64, 315].

В просвете кровеносных капилляров и в перикапиллярном пространстве нами были выявлены отдельные вирусные частицы, которые по морфологии и структуре были сходны с описанными в литературе критериями внеклеточно локализованных вирусов SARS-CoV-2 [233]. Диапазон размеров частиц составлял 60–140 нм, и на поперечном срезе выделялся нуклеокапсид в виде плотных точек внутри частицы. В то же время имеются данные, что не все частицы SARS-CoV-2 могут нести на своей поверхности видимые выступы шипов, это может свидетельствовать о неэффективном включении шиповидных белков в вирусы SARS- CoV-2 [315].

Проникновение вируса SARS-CoV-2 через мембрану клетки зависит от нескольких факторов, главным из которых является контакт с рецептором ангиотензинпревращающего фермента 2 гликопротеина шипа (S) вируса SARS-CoV-2 [329]. Вирус проникает в клетку по эндоцитозному внутриклеточному пути и высвобождается во внеклеточную среду через внутриклеточный секреторный путь клетки-хозяина – экзоцитоз [311]. Вирусы используют внутриклеточные органеллы и метаболизм клетки-хозяина практически на всех стадиях своего цикла репликации и формирования нового вирусного потомства [314].

Нами было показано повышение объемной плотности мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума в эндотелии кровеносных капилляров миокарда при COVID-19. В научной литературе накапливаются данные о том, что эндоплазматический ретикулум (ЭР) является важной органеллой, поддерживающей размножение вируса [237]. Вирус использует клеточный механизм хозяина для репликации и формирования нового вирусного потомства, а ЭР играет центральную роль во взаимодействии между вирусом и клеткой-хозяином. Клеточные функции ЭР используются вирусами на разных стадиях патогенеза [115]. Инфекция вызывает обширную перестройку мембран ЭР, которые могут подвергаться индуцированным вирусом перестройкам с образованием структур, которые важны для его репликации и сборки [64, 69, 90, 238, 241].

Репликация РНК-вирусов связана с перестройкой клеточных мембран с образованием двумембранных везикул (DMV) и извитых мембран (СМ), как часть ретикулярной мембранной сети [314]. В совокупности эти структуры называются «органеллами репликации», которые предположительно помогают организовать синтез вирусной РНК во времени и пространстве. Результаты показывают, что DMV происходят из ЭР. При использовании электронной томографии криофиксированных клеток Vero E6 инфицированных SARS-CoV, показано, что DMVs не являются изолированными везикулами, а скорее являются частью ретикуловезикулярной сети модифицированных мембран ЭР [314, 329]. В то же время в инфицированных клетках не всегда может выявляться двойная мембрана в DMV, из-за технических проблем сохранности хрупкой внутренней структуры DMV [314]. Репликационные органеллы могут препятствовать обнаружению вирусной РНК, помогая избежать или отсрочить противовирусный ответ клетки-хозяина [310, 370].

Таким образом, в инфицированных клетках выделяется ретикуловезикулярная сеть модифицированного эндоплазматического ретикулума, которая объединяет извитые мембраны, многочисленные взаимосвязанные DMV (диаметром 200–300 нм) и «пакеты везикул», по-видимому, возникающие в результате слияния DMV [314]. На более поздних стадиях инфекции DMV могут сливаться с образованием больших цитоплазматических вакуолей, которые содержат не только одномембранные везикулы, но и вирусные частицы [310].

В связи с выявленными нами в эндотелии кровеносных капилляров вирусными частицами в двумембранных структурах и в одномембранных везикулах, можно предположить, что отмеченное возрастание содержания мембран эндоплазматического ретикулума обусловлено индукцией гиперплазии мембран ЭР вирусными частицами. Кроме того, имеются данные, что при репликации короновирусов образуются неструктурные белки, которые могут участвовать в формировании органелл репликации [310, 329].

В проведенном исследовании преобладающими структурами эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда были мембраны

эндоплазматического ретикулума, описанные в литературе как ЭР с застежкой-молнией (zippered endoplasmic reticulum (ER). Мембраны ER с застежкой-молнией являются наиболее яркими структурами, индуцированными вирусами [90]. Структура была названа «Застегнутый ER» в связи с отсутствием просветного пространства, предполагая застегивание цистерн ER [64, 234].

Нами было выявлено наличие крупных липидных включений в цитозоле эндотелиоцитов. Имеются данные о стимулировании синтеза липидов посредством активации SREBP, необходимых для создания оболочек при репликации SARS-CoV-2 [326]. В дополнение к поддержке репликации мембранная сеть также считается местом сборки вирусов. В этой сети липидные капли (LDs) – органеллы хранения нейтральных липидов в клетках – выполняют ключевую роль сборки вируса [84].

На следующем этапе в процессе репликации SARS-CoV-2 использует транспортную РНК хозяина для трансляции своих собственных белков [317]. Сборка SARS-CoV-2 начинается с покрытия гРНК нуклеокапсидными белками, образуя нуклеокапсидные структуры, которые встраиваются в промежуточный компартмент эндоплазматического ретикулума-Гольджи (ERGIC), тем самым приобретая липидный бислой, содержащий вирусный шип, мембрану и белки оболочки [329]. Таким образом, дальнейшая сборка и созревание происходят в промежуточном компартменте эндоплазматического ретикулума-Гольджи (ERGIC) и аппарате Гольджи [311].

Нами были выявлены электроннoплотные образования в цистернах комплекса Гольджи. Подобные структурные изменения данной органеллы были выявлены и другими авторами. Было показано, что вирионы в транс-сети Гольджи и за ее пределами имели зрелую морфологию, демонстрирующую довольно однородную высокую внутреннюю электронную плотность [64, 347]. Пространственная сегрегация репликации коронавируса в индуцированных вирусом мембранных органеллах, по-видимому, является необходимым условием для успешного размножения вируса [329].

Таким образом, в результате проведенных ультраструктурных исследований

нами были выявлены морфологические признаки инфицирования эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда вирусом SARS-CoV-2. Показано наличие вирусных частиц в просвете кровеносных капилляров и перикапиллярном пространстве, возрастание объемной плотности мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, рибосом, комплекса Гольджи и липидных включений, наличие в цитоплазме эндотелиоцитов ЭР с застежкой-молнией (zippered endoplasmic reticulum (ER), двумембранных структур (DMS) и одномембранных вакуолей с вирусными частицами, наличие электронноплотного материала в цистернах комплекса Гольджи.

Учитывая, что инфекционное заболевание – COVID-19, – вызванное вирусом SARS-CoV-2, сопровождавшееся всемирной пандемией, является уже третьей вспышкой коронавируса за последние годы, важно понимать механизм действия этого типа вируса при возможных будущих новых эпидемиологических ситуациях. Данные, полученные в результате диссертационного исследования об ультраструктурных изменениях эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда, а также о патоморфологических изменениях мышцы сердца являются морфологическим обоснованием развития снижения сократительной способности миокарда при тяжелых формах COVID-19. Это может позволить провести корректировку лечения и снизить летальность у пациентов с этой тяжелой инфекционной патологией.

ВЫВОДЫ

1. При тяжелых формах COVID-19 патоморфологические изменения миокарда характеризуются острыми расстройствами кровообращения, очаговыми кровоизлияниями, отеком, десквамацией и пролиферацией эндотелия кровеносных сосудов, также образованием острых очаговых повреждений миокарда и липофусцинозом кардиомиоцитов, что связано с эндотелиальной дисфункцией и сопровождается снижением сократительной способности мышцы сердца левого желудочка.

2. Развитие тяжелых форм COVID-19 сопровождается изменением молекулярных характеристик эндотелия кровеносных капилляров миокарда и характеризуется снижением экспрессии маркеров мембранных белков клеточной адгезии CD31 и CD34, это отражает развивающиеся нарушения межклеточного взаимодействия эндотелиоцитов, барьерной функции эндотелия и его прогрессирующую дисфункциию.

3. Ультраструктурное исследование аутопсийного материала при тяжелых формах COVID-19 с летальным исходом позволило выявить морфологические признаки инфицирования эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда вирусом SARS-CoV-2, что характеризовалось обнаружением вирусных частиц внутри клетки как в двухмембранных структурах, так и в одномембранных клеточных вакуолях, а также располагающихся внеклеточно – в просвете кровеносных капилляров и в перикапиллярных пространствах.

4. Инфицирование эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда вирусом SARS-CoV-2 сопровождалось перестройкой клеток, которая характеризовалась возрастанием объемной плотности мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, рибосом, комплекса Гольджи и липидных включений, образованием в цитоплазме эндотелиоцитов эндоплазматического ретикулума с застежкой-молнией (zippered endoplasmic reticulum), двухмембранных структур и одномембранных вакуолей с вирусными частицами,

а также появлением электронноплотного материала в цистернах комплекса Гольджи.

5. Перестройка эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда у пациентов с тяжелым течением COVID-19, связаная с последующей репликацией вируса SARS-CoV-2 для обеспечения синтеза вирусной РНК, сопровождается изменением структуры внутриклеточной мембраны в цитоплазме эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда, а также образованием двухмембранных везикул из эндоплазматического ретикулума.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Результаты микроскопического и иммуногистохимического исследования могут быть использованы в практической работе патологоанатомических отделений лечебно-профилактических учреждений и судебно-гистологических лабораторий бюро судебно-медицинской экспертизы для выявления патоморфологических изменений миокарда и повреждений эндотелия кровеносных капилляров мышцы сердца в случаях COVID-19.

2. Данные о структурных изменениях эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда являются морфологическим обоснованием развития острого повреждения сердца при тяжелых формах COVID-19 и могут быть положены в основу методических подходов для изучения механизмов развития сердечной недостаточности при новой коронавирусной инфекции.

3. Полученные новые знания о патоморфологических, ультраструктурных и молекулярно-биологических особенностях эндотелия кровеносных капилляров миокарда при инфицировании SARS-CoV-2 могут быть использованы в учебном процессе на кафедрах патологической анатомии и кафедрах гистологии, эмбриологии и цитологии медицинских вузов, а также при подготовке клинических ординаторов и повышении квалификации врачей по специальности «Патологическая анатомия».

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

До настоящего времени отсутствуют данные об ультраструктурных изменениях эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда при новой коронавирусной инфекции, а также данные о сроках инфицирования эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда вирусом SARS-CoV-2, которое может оставаться при прохождении легочной симптоматики, отрицательных ПЦР тестах назофарингеальных мазков и выписывании пациентов из стационара на амбулаторное долечивание, при сохранении сердечно-сосудистых рисков, требующих лекарственной кардиопротекции. Поэтому проведение будущих исследований оценки инфицирования эндотелиальных клеток сосудов миокарда целесообразно, так как позволит разработать более эффективные методы терапии и профилактики сердечно-сосудистых осложнений при COVID-19. Дальнейшее изучение повреждения эндотелиоцитов позволит более эффективно справляться с возможными будущими пандемиями новых штаммов коронавирусов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АБП	аблюминальная поверхность
АД	артериальное давление
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ГБУЗ НСО «НОКБ СМЭ»	Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы»
ГГБ	гистогематический барьер
ГЭР	гранулярный эндоплазматический ретикулум
ИБС	ишемическая болезнь сердца
ИЛ (IL)	интерлейкин
КМЦ	кардиомиоцит
ЛЖ	левый желудочек
ЛП	люминальная поверхность
ОРДС	острый респираторный дистресс-синдром
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания
ТЭЛА	тромбоэмболия легочной артерии
ТЭМ	трансмиссионная электронная микроскопия
ФНО-α	Tumor necrosis factor (фактор некроза опухоли α)
ЦЭК	циркулирующие эндотелиальные клетки
ЭК	эндотелиальные клетки
ЭКГ	электрокардиограмма
ЭхоКГ	эхокардиография
ACE2	ангиотензинпревращающий фермент
COVID-19	Corona Virus Disease 2019 (коронавирусная болезнь 2019 года)
DMS	двумембранные структуры

NETs	внеклеточные ловушки нейтрофилов (сетки)
NO	оксид азота
SARS-CoV-2	severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
Vv	объемная плотность структур
TMPRSS2	мембраносвязанная сериновая протеаза
vWF	фактор Виллебранда

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдыева, С. В. Экспрессия CD31 в плейоморфном варианте злокачественной фиброзной гистиоцитомы мягких тканей / С. В. Абдыева // Онкология. – 2011. – № 2. – С. 122–124.

2. Антонов, В. Ф. Биофизика мембран / В. Ф. Антонов // Соросовский образовательный журнал. – 1996. – № 6. – С. 1–15.

3. Бабиченко, И. И. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста / И. И. Бабиченко, В. А. Ковязиню – Москва: РУДН-е изд., 2008. – 109 с.

4. Бабушкина, И. В. Структурные и функциональные свойства эндотелия сосудов / И. В. Бабушкина, А. С. Сергеева, Ю. И. Пивоваров // Кардиология. – 2015. – № 2 (55). – С. 82–86.

5. Бахтияров, Р. З. Современные методы исследования функции эндотелия / Р. З. Бахтияров // Российский кардиологический журнал. – 2004. – № 2. – С. 76–79.

6. Богомолов, Д. В. Перспективы использования методов иммуногистохимии для установления прижизненности и давности механических повреждений в судебно-медицинской практике / Д. В. Богомолов, И. Н. Богомолова, Л. Э. Завалишина // Судебно-медицинская экспертиза. – 2014. – № 5. – С. 35–39.

7. Богомолов, Д. В. Перспективы использования методов иммуногистохимии в судебно–медицинской танатологии / Д. В. Богомолов, И. Н. Богомолова, И. Е. Караваева // Судебно-медицинская экспертиза. – 2009. – № 6. – С. 32–37.

8. Болдырев, А. А. Введение в биомембранологию / А. А. Болдырев, С. В. Котелевцев, М. Ланио. –Москва : МГУ-е изд., 1990. – 208 с.

9. Бувальцев, В. И. Дисфункция эндотелия как новая концепция профилактики и лечения сердечно–сосудистых заболеваний / В. И. Бувальцев // Международный мед. журн. – 2001. – № 3. – С. 202–208.

10. Визир, В. А. Роль эндотелина-1 в прогрессировании сердечной недостаточности / В. А. Визир, А. Е. Березин // Украинский медицинский час. – 2003. – Т. 35, № 3. – С. 5–16.

11. Вопросы патоморфогенеза новой коронавирусной инфекции (COVID-19) / В. А. Цинзерлинг, М. А. Вашукова, М. В. Васильева [и др.] // Журнал инфектологии. – 2020. – № 2 (12). – С. 5–11.

12. Временные методические рекомендации (Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 15 / Г. А. Франк, В. А. Цинзерлинг, С. Н. Авдеев, Л. В. Адамян. – Москва, 2022. – 245 с.

13. Временные методические рекомендации (Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 18 / Г. А. Франк, В. А. Цинзерлинг, С. Н. Авдеев, Л. В. Адамян. – Москва, 2023. – 249 с.

14. Габченко, А. К. Анатомо-гистологическое строение сосочковых мышц сердца человека у плодов и новорожденных / А. К. Габченко // Морфология. – 2008. – Т. 133, № 2. – С. 28–29.

15. Герштейн, Е. С. Фактор эндотелия сосудов – клинически значимый показатель при злокачественных новообразованиях / Е. С. Герштейн, Д. Н. Кушлинский, Л. В. Адамян // Вестник ТГУ. – 2014. – Т. 19, № 1. – С. 10–19.

16. Горчаков, В. Н. Структурная организация микрососудистого русла: норма, патология, коррекция / В. Н. Горчаков, О. В. Позднякова. – Новосибирск, 1989. – 112 с.

17. Гусев, С. А. Некоторые особенности ультраструктурной организации эндотелиальных клеток кровеносных капилляров сердца и сальника по данным метода замораживания – скалывания / С. А. Гусев, В. А. Миронов, Т. М. Повалий // Цитология. – 1980. – № 2. – С. 134–138.

18. Денисов, Е. Н. Влияние эндотелина и оксида азота на тонус сосудов у больных хронической сердечной недостаточностью / Е. Н. Денисов // Терапевтический архив. – 2007. – № 12. – С. 44–47.

19. Долгов, В. В. Гетерогенность эндотелия аорты и артерий человека: количественное изучение с помощью растровой электронной микроскопии / В. В. Долгов, В. С. Репин // Кардиология. – 1983. – № 8. – С. 92–94.

20. Ескунов, П. Н. Структурно–функциональные изменения гистогематического барьера миокарда крыс в постишемическом периоде / П. Н. Ескунов, В. В. Семченко // Морфология. – 2003. – Т. 123, № 2. – С. 60–64.

21. Зайратьянц, О. В. Патологическая анатомия COVID-19: Атлас. / О. В. Зайратьянц, М. В. Самсонова. – Москва : ГБУ «НИИОЗ-е изд., 2020. – 140 с.

22. Засмолина, О. А. Исследование структурной организации миокарда в условиях инфицирования SARS-CoV-2 / О. А. Засмолина, А. Н. Ламанов // Морфологические науки – фундаментальная основа медицины : материалы междунар. морфологической конкурс-конф. студентов и молодых ученых, 7 дек. 2023 г. – Новосибирск, 2023. – С. 177–179.

23. Затейщикова, А. А. Эндотелиальная регуляция сосудистого тонуса: методы исследования и клиническое значение / А. А. Затейщикова, Д. А. Затейщиков // Кардиология. – 1998. – № 9. – С. 68–80.

24. Иванов, К. П. Успехи и спорные вопросы в изучении микроциркуляции / К. П. Иванов // Российский физиологический журнал. – 1995. – № 6. – С. 1–8.

25. Изаков, В. Я. Биомеханика сердечной мышцы / В. Я. Изаков, Г. П. Иткин, В. С. Мархасин. – Москва : Наука-е изд., 1981. – 326 с.

26. Иммуногистохимические исследования ангиогенеза при саркоме Юинга / Э. Д. Ахундов, Х. К. Мурадов, И. О. Алиева, Г. Г. Садыхова // Хирургия. – 2011. – № 11. – С. 41–44.

27. Исследование умерших с подозрением на коронавирусную инфекцию (COVID-19): временные методические рекомендации. Версия 22 / Г. А. Франк, А. В. Ковалев, Ю. В. Грибунов [и др.]. – Москва, 2020. – 428 с.

28. Камкин, А. Г. Ионные механизмы механоэлектрической связи у клеток сердца / А. Г. Камкин, И. С. Киселева, В. Н. Ярыгин // Успехи физиол. наук. – 2001. – № 2. – С. 58–87.

29. Караганов, Я. Л. Микроангиология / Я. Л. Караганов, Н. В. Кердиваренко, В. Н. Левин. – Кишинев : Штиица-е изд., 1982. – 248 с.

30. Киричук, В. Ф. Дисфункция эндотелия / В. Ф. Киричук. – Саратов : СГУ-е изд., 2008. – 129 с.

31. Клинико-анатомический анализ летальности COVID-19 при скоропостижной смерти и у умерших в лечебно-профилактических учреждениях / С. В. Савченко, В. А. Грицингер, В. В. Тихонов [и др.] // Судебно-медицинская экспертиза. – 2021. – Т. 64, № 3. – С. 5–10.

32. Клинико-морфологическая характеристика SARS-CoV-2-ассоциированного миокардита, подтвержденного наличием РНК и белков вируса в ткани миокарда / Е. А. Коган, А. Д. Куклева, Ю. С. Березовский [и др.]. // Архив Патологии. – 2021. – № 4 (83). – С. 5–13.

33. Клинико-морфологическое и молекулярно-биологическое исследование миокарда у пациентов с COVID-19 / Л. Б. Митрофанова, И. А. Макаров, А. Л. Рунов [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2022. – № 7 (27). – С. 147–157.

34. Коган, Е. А. Миокардит у пациентов с COVID-19, подтвержденный иммуногистохимическим методом / Е. А. Коган, Ю. С. Березовский, О. В. Благова // Кардиология. – 2020. – № 7 (60). – С. 4–10.

35. Козлов, В. И. Гистофизиология капилляров / В. И. Козлов, Е. П. Мельман, Е. М. Нейкою – Санкт-Петербург : Наука, 1994. – 232 с.

36. Колесник, О. П. Экспрессия CD-31/CD-34 у больных немелкоклеточным раком легкого I–II стадий / О. П. Колесник, А. И. Шевченко, В. О. Туманский // Запорожский медицинский журнал. – 2013. – № 6. – С. 24–27.

37. Коломоец, Н. М. Эндотелиальная дисфункция и ее клиническое значение: Новое направление в кардиологии / Н. М. Коломоец // Военно-медицинский журнал – 2001. – № 5. – С. 29–35.

38. Кольман, Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К. Г. Рём. – Москва : Лаборатория знаний, 2019. – 509 с.

39. Коненков, В. И. Ангиогенез и васкулогенез при сахарном диабете:

новые концепции патогенеза и лечения сосудистых осложнений / В. И. Коненков, В. В. Климонтов // Сахарный диабет. – 2012. – № 4. – С. 17–27.

40. Кузнецова, О. М. Фактор роста эндотелия сосудов: особенности секреции в костной ткани в норме и при патологии / О. М. Кузнецова, Н. Е. Кушлинский, Т. Т. Березов // Биомедицинская химия. – 2003. – Т. 4, № 49. – С. 360–373.

41. Ламанов, А. Н. Изменения структуры эндотелия кровеносных сосудов миокарда при COVID-19 / А. Н. Ламанов, О. М. Степина, А. Н. Гредунова // Морфологические науки – фундаментальная основа медицины : материалы междунар. морфологической конкурс-конф. студентов и молодых ученых, 7 дек. 2023 г. – Новосибирск, 2023. – С. 254–256.

42. Ламанов, А. Н. Особенности внутриклеточных мембран эндотелия кровеносных капилляров миокарда при COVID-19 / А. Н. Ламанов, К. П. Щепеткова // Морфологические науки – фундаментальная основа медицины : материалы междунар. морфологической конкурс-конф. студентов и молодых ученых, 7 дек. 2023 г. – Новосибирск, 2023. – С. 257–259.

43. Лушников, Е. Ф. Гибель клетки (апоптоз) / Е. Ф. Лушников, А. Ю. Абросимов. – Москва : Медицина-е изд., 2001. – 192 с.

44. Мавликеев, М. О. Краткий курс гистологической техники. Учебно-методическое пособие. / М. О. Мавликеев, С. С. Архипова. – Казань : Казанский университет, 2020. – 107 с.

45. Максимов, Г. В. Изучение роли плазматической мембраны эритроцитов в формировании гипоксии у больных ХСН / Г. В. Максимов, О. В. Родненков, О. Г. Лунева // Терапевтический архив. – 2005. – № 9. – С. 70–73.

46. Мальков, П. Г. Иммуногистохимические методы. Руководство / П. Г. Мальков, Г. А. Франк. – Москва, 2011. – 228 с.

47. Маркеры и биомаркеры эндотелия: когда что-то прогнило в состоянии / Н. В. Гончаров [и др.] // Oxid Med Cell Longev. – 2017. – № 1.

48. Марков, Х. М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия / Х. М. Марков // Кардиология. – 2005. – № 12. – С. 62–72.

49. Мартынов, А. И. Эндотелиальная дисфункция и методы ее определения / А. И. Мартынов, Е. В. Акитова // Российский кардиологический журнал. – 2005. – № 4. – С. 94–98.

50. Морфологические изменения сердца и сосудов при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) / С. В. Савченко, А. Н. Ламанов, В. П. Новоселов [и др.] // Вестник судебной медицины. – 2021. – № 2 (10). – С. 40–44.

51. Морфологические изменения у лиц, умерших на дому от COVID-19 / А. Н. Ламанов, А. А. Мигел, В. А. Грицингер, В. В. Тихонов // Актуальные вопросы современной медицинской науки и практики. – 2021. – Томск, STT. – С. 95–100.

52. Морфологические изменения у пациентов, умерших в ЛПУ от COVID-19 / А. Н. Ламанов, А. А. Мигел, В. А. Грицингер, В. В. Тихонов // Актуальные вопросы современной медицинской науки и практики. – 2021. – Томск, STT. – С. 90–95.

53. Мяделец, О. Д. Основы частной гистологии / О. Д. Мяделец. – Москва, 2002. – 374 с.

54. Неудачи интенсивного лечения полиорганной недостаточности: патофизиология и потребность в персонификации (обзор литературы). // Е. В. Григорьев, Д. Л. Шукевич, Г. П. Плотников [и др.]. – Вестник интенсивной терапии имени А. И. Салтанова. – 2019. – № 2. – С. 48–57.

55. Нигматуллина, Р. Р. Клеточно-молекулярные механизмы функционирования и регуляции сердца / Р. Р. Нигматуллина. – Казань : КГМУ, 2004. – 100 с.

56. Особенности электрокардиографических изменений при некоронарогенных синдромах у пациентов с COVID-19 / Е. В. Шляхто, Е. В. Пармон, Э. Р. Бернгардт, Е. С. Жабина // Российский кардиологический журнал. – 2020. – № 7 (25). – С. 194–200.

57. Остроумова, О. Д. Дисфункция эндотелия при сердечно−сосудистых заболеваниях / О. Д. Остроумова, Р. Э. Дубинская // Кардиология. – 2005. – № 2.

– С. 59–62.

58. Острые повреждения миокарда при COVID-19: виды, механизмы развития, критерии диагноза, прогноз / А. А. Филимонова, Е. М. Шурпо, С. Н. Котляров, А. А. Булгаков [и др.]. // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2022. – № 3 (10). – С. 311–326.

59. Пальцев, М. А. Межклеточные взаимодействия / М. А. Пальцев, А. А. Иванов. – Москва : Медицина, 1995. – 224 с.

60. Патарая, С. А. Биохимия и физиология семейства эндотелинов / С. А. Патарая, Д. В. Преображенский, Б. А. Сидоренко // Кардиология. – 2000. – Т. 40, № 6. – С. 78–85.

61. Петрищев, Н. Н. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / Н. Н. Петрищев. – Санкт-Петербург: СПбГМУ, 2007. – 184 с.

62. Петров, С. В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С. В. Петров, Н. Т. Райхлин. – Казань, 2012. – 624 с.

63. Прокопчик, Н. И. Клиническая морфология печени: злокачественные опухоли / Н. И. Прокопчик, В. М. Цыркунов // Журнал ГрГМУ. – 2018. – № 1.

64. Ремоделирование внутриклеточных органелл в эндотелиоцитах миокарда при COVID-19: исследование, основанное на аутопсии / Н. П. Бгатова [и др.]. // Ultrastructural Pathology. – 2024. – № 1 (48). – С. 66–74.

65. Рыбакова, М. Г. Патологическая анатомия новой коронавирусной инфекции COVID-19. Первые впечатления / М. Г. Рыбакова, В. Е. Карев, И. А. Кузнецова // Архив Патологии. – 2020. – № 5 (82). – С. 5–15.

66. Сравнительный анализ некоторых аспектов клинического течения наиболее распространенных штаммов новой коронавирусной инфекции COVID-19 / О. В. Судаков, Д. В. Судаков, О. И. Гордеева, Е. В. Белов // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2022. – № 4 (21). – С. 87–96.

67. Структурная реорганизация миокарда при COVID-19 / А. Н. Ламанов, Б. И. Айзикович, С. В. Савченко [и др.] // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2024. – № 3. – С. 3–8.

68. Сыренский, Л. В. Изучение роли эндотелиального релаксирующего фактора в регуляции растяжимости сосудов артериального русла / Л. В. Сыренский, В. С. Еремеев // Физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 1993. – Т. 78, № 8. – С. 124–130.

69. Ультраструктурная реорганизация эндотелиоцитов легочных кровеносных капилляров при COVID-19 / Н. П. Бгатова, С. В. Савченко, А. Н. Ламанов [и др.]. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2023. – № 5 (175). – С. 667–672.

70. Хаютин, В. М. Механорецепторы эндотелия артериальных сосудов и механизмы защиты от развития гипертонической болезни / В. М. Хаютин // Кардиология. – 1996. – № 7. – С. 27–35.

71. Хлебникова, А. Н. Особенности ангиогенеза в очагах базальноклеточного рака кожи / А. Н. Хлебникова, Н. В. Новоселова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – № 3. – С. 60–64.

72. Чащин, М. Г. Клиническое течение инфаркта миокарда без подъёма сегмента ST у пациентов, перенёсших COVID-19 : специальность 3.1.20 «Кардиология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Чащин Михаил Георгиевич ; Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины. – Москва, 2022. – 159 с. – Библиогр.: с. 149–159. – Текст : непосредственный.

73. Чернух, А. М. Микроциркуляция / А. М. Чернух, П. Н. Александров, О. В. Алексеев. – Москва : Медицина, 1984. – 432 с.

74. Чехонин, В. П. Роль VEGF в развитии неопластического ангиогенеза / В. П. Чехонин, С. А. Шеин, А. А. Корчагина // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – Т. 2, № 67. – С. 23–34.

75. Чупров, И. Н. Клинико–морфологическая характеристика разных типов базальноклеточного рака кожи / И. Н. Чупров // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2009. – № 1. – С. 145–150.

76. Шарафутдинова, Н. Х. Статистические методы в медицине и здравоохранении / Н. Х. Шарафутдинова. – Уфа : БГМУ, 2018. – 131 с.

77. Шахламов, В. А. Капилляры / В. А. Шахламов. – Москва : ВЕДИ, 2007. – 288 с.

78. Шляхто, Е. В. Клеточные и молекулярно-генетические аспекты эндотелиальной дисфункции / Е. В. Шляхто, О. А. Беркович, О. М. Моисеева // Вестник РАМН. – 2004. – № 10. – С. 50–52.

79. Шубич, М. Г. Морфология Щелевые соединения основные структуры, обеспечивающие межклеточную коммуникацию / М. Г. Шубич, Б. Г. Ермошенко, Ю. М. Перов // Морфология. – 2005. – Т. 127, № 1. – С. 65–72.

80. Ющук, Е. Н. Эндотелиальная дисфункция при заболеваниях сердечно-сосудистой системы и методы ее коррекции / Е. Н. Ющук, Ю. А. Васюк, А. Б. Хадзегова // Клиническая фармакология и терапия. – 2005. – Т. 14, № 3. – С. 85–88.

81. Яровая, Г. А. Контактная система. Новые представления о механизмах активации и биорегулирующих функциях / Г. А. Яровая, Т. Б. Блохина, Е. А. Нешкова // Биохимия. – 2002. – Т. 67, № 1. – С. 16–29.

82. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study / C. Huang, L. Huang, Y. Wang [et al.] // The Lancet. – 2021. – Vol. 397 (10270). – P. 220–232.

83. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury / K. Kuba, Y. Imai, S. Rao [et al.] // Nature Medicine. – 2005. – Vol. 11 (8). – P. 875–879.

84. A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2 / T. Moriguchi, N. Harii, J. Goto [et al.] // International Journal of Infectious Diseases. – 2020. – Vol. 94. – P. 55–58.

85. A human pluripotent stem cell-based platform to study SARS-CoV-2 tropism and model virus infection in human cells and organoids / L. Yang, Y. Han, B. E. Nilsson-Payant [et al.] // Cell Stem Cell. – 2020. Vol. 27 (1). – P. 125–136.

86. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China / F. Wu, S. Zhao, B. Yu [et al.] // Nature. – 2020. – Vol. 579 (7798). – P. 265–269.

87. A pathological report of three COVID-19 cases by minimal invasive

autopsies / X. H. Yao, T. Y. Li, Z. C. He [et al.] // Chinese Journal of Pathology. – 2020. – Vol. 49 (5). – P. 411–417.

88. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin / P. Zhou, X. L. Yang, X. G. Wang [et al.] // Nature. – 2020. – Vol. 579 (7798). – P. 270–273.

89. A relative ADAMTS13 deficiency supports the presence of a secondary microangiopathy in COVID 19 / N. Martinelli, M. Montagnana, F. Pizzolo [et al.] // Thrombosis Research. – 2020. – Vol. 193. – P. 170–172.

90. A unifying structural and functional model of the coronavirus replication organelle: Tracking down RNA synthesis / E. J. Snijder, R. W. A. L. Limpens, A. H. de Wilde [et al.] // PLoS Biology. – 2020. – Vol. 18 (6). – P. e3000715.

91. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia / N. Tang, D. Li, X. Wang, Z. Sun // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2020. – Vol. 18 (4). – P. 844–847.

92. Acute kidney injury at early stage as a negative prognostic indicator of patients with COVID-19: a hospital-based retrospective analysis / S. Xu, L. Fu, J. Fei [et al.] // medRxiv. – 2020. – Vol. 26. – P. 14.

93. Acute kidney injury in critically ill patients with COVID-19 / P. Gabarre, G. Dumas, T. Dupont [et al.] // Intensive Care Medicine. – 2020. – Vol. 46 (7). – P. 1339–1348.

94. Acute myocarditis presenting as a reverse Tako-Tsubo syndrome in a patient with SARS-CoV-2 respiratory infection / S. Sala, G. Peretto, M. Gramegna [et al.] // European Heart Journal. – 2020. – Vol. 41 (19). – P. 1861–1862.

95. Adeghate, E. A. Mechanisms of COVID-19-induced heart failure: a short review / E. A. Adeghate, N. Eid, J. Singh // Heart Failure Reviews. – 2021. – Vol. 26 (2). – P. 363–369.

96. Adomian, G. E. The incidence and significance of contraction bands in endomyocardial biopsies from normal human hearts / G. E. Adomian, M. M. Laks, M. E. Billingham // American Heart Journal. – 1978. – Vol. 95 (3). – P. 348–351.

97. Advances in the research of cytokine storm mechanism induced by

Corona Virus Disease 2019 and the corresponding immunotherapies / C. Chen, X. R. Zhang, Z. Y. Ju, W. F. He // Zhonghua Shao Shang Za Zhi. – 2020. – Vol. 36 (6). – P. 471–475.

98. Albumin binding sites are expressed on the abluminal plasma membrane of capillary endothelium / M. Raicu, D. Alexandru, A Fixman, N. Simionescu // Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology. – 1991. – Vol. 23 (1). – P. 1–8.

99. Amalia, I. Manajemen pertukaran gas pada pasien post CARDS (COVID-19 acute respiratory distress syndrome) yang terpasang ventilasi mekanik / I. Amalia, R. Maria, D. Irawaty // Jurnal Keperawatan Silampari. – 2022. – Vol. 5 (2). – P. 1058–1068.

100. Amraei, R. COVID-19, renin-angiotensin system and endothelial dysfunction / R. Amraei, N. Rahimi // Cells. – 2020. – Vol. 9 (7). – P. 1652.

101. An immunologist's guide to CD31 function in T-cells / F. M. Marelli-Berg, M. Clement, C. Mauro, G. Caligiuri // Journal of Cell Science. – 2013. – Vol. 126 (Pt 11). – P. 2343–2352.

102. Anderson, T. J. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans / T. J. Anderson // Journal of the American College of Cardiology. – 1999. – Vol. 34 (3). – P. 631–638.

103. Angeles Montero-Fernandez, M. Histopathology features of the lung in COVID-19 patients / M. Angeles Montero-Fernandez, R. Pardo-Garcia // Diagnostic Histopathology. – 2021. – Vol. 27 (3). – P. 123–127.

104. Angiotensin II decreases endothelial nitric oxide synthase phosphorylation via AT1R NOX/ROS/PP2A PATHWAY / J. Ding, M. Yu, J. Jiang [et al.] // Frontiers in Physiology. – 2020. – Vol. 11. – P. 566410.

105. Angiotensin II type 1 receptor blocker ameliorates uncoupled endothelial nitric oxide synthase in rats with experimental diabetic nephropathy / M. Satoh, S. Fujimoto, S. Arakawa [et al.] // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2008. – Vol. 23 (12). – P. 3806–13.

106. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and activity in human carotid atherosclerotic lesions / J. C. Sluimer, J. M. Gasc, I. Hamming [et al.] //

Journal of Pathology. – 2008. – Vol. 215 (3). – P. 273–279.

107. Assessing and improving the validity of COVID-19 autopsy studies – A multicentre approach to establish essential standards for immunohistochemical and ultrastructural analyses / S. Krasemann, C. Dittmayer, S. von Stillfried [et al.] // eBioMedicine. – 2022. – Vol. 83. – P. 104193.

108. Assessment of neutrophil extracellular traps in coronary thrombus of a case series of patients with COVID-19 and myocardial infarction / A. Blasco, M.-J. Coronado, F. Hernández-Terciado [et al.] // JAMA Cardiology. – 2021. – Vol. 6 (4). – P. 469–474.

109. Association between SARS-CoV-2 infection and immune-mediated myopathy in patients who have died / T. Aschman, J. Schneider, S. Greuel [et al.] // JAMA Neurology. – 2021. – Vol. 78 (8). – P. 948–960.

110. Association of Body Mass Index and Age With Morbidity and Mortality in Patients Hospitalized With COVID-19 / N. S. Hendren, J. A. de Lemos, C. Ayers [et al.] // Circulation. – 2021. – Vol. 143 (2). – P. 135–144.

111. Association of cardiac infection with SARS-CoV-2 in confirmed COVID-19 autopsy cases / D. Lindner, A. Fitzek, H. Bräuninger [et al.] // JAMA Cardiology. – 2020. – Vol. 5 (11). – P. 1281–1285.

112. Association of Cardiac Injury with Mortality in Hospitalized Patients with COVID-19 in Wuhan, China / S. Shi, M. Qin, B. Shen [et al.] // JAMA Cardiology. – 2020. – Vol. 5 (7). – P. 802–810.

113. Autopsy findings and venous thromboembolism in patients with COVID-19: A prospective cohort study / D. Wichmann, J. P. Sperhake, M. Lütgehetmann [et al.] // Annals of Internal Medicine. – 2020. – Vol. 173 (4). – P. 268–277.

114. Aziz, M. Elevated interleukin-6 and severe COVID-19: A meta-analysis / M. Aziz, R. Fatima, R. Assaly // Journal of Medical Virology. – 2020. – Vol. 92 (11). – P. 2283–2285.

115. Bagchi, P. Endoplasmic reticulum in viral infection / P. Bagchi // Int Rev Cell Mol Biol. – 2020. – Vol. 350. – P. 265–284.

116. Bellini, A. The role of the fibrocyte, a bone marrow-derived mesenchymal

progenitor, in reactive and reparative fibroses / A. Bellini, S. Mattoli // Laboratory Investigation. – 2007. – Vol. 87 (9). – P. 858–870.

117. Binding and molecular basis of the bat coronavirus RaTG13 virus to ACE2 in humans and other species / K. Liu, X. Pan, L. Li [et al.] // Cell. – 2021. – Vol. 184 (13). – P. 3438–3451.

118. Biomarkers of endothelial dysfunction and outcomes in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: A systematic review and meta-analysis / Andrianto, M. J. Al-Farabi, R. A. Nugraha [et al.] // Microvascular Research. – 2021. – Vol. 138. – P. 104224.

119. Calcium antagonists and myocardial microperfusion / H. Tillmanns, F. J. Neumann, N. Parekh [et al.] // Drugs. – 1991. – Vol. 42 (l). – P. 1–6.

120. Cancer-associated fibroblast-derived WNT2 increases tumor angiogenesis in colon cancer / D. Unterleuthner, P. Neuhold, K. Schwarz [et al.] // Angiogenesis. – 2020. – Vol. 23 (2). – P. 159–177.

121. Caporizzo, M. A. Cardiac microtubules in health and heart disease / M. A. Caporizzo, C. Y. Chen, B. L. Prosser // Experimental Biology and Medicine. – 2019. – Vol. 244 (15). – P. 1255–1272.

122. Cardiac and arrhythmic complications in patients with COVID-19 / A. N. Kochi, A. P. Tagliari, G. B. Forleo [et al.] // Journal of Cardiovascular Electrophysiology. – 2020. – Vol. 31 (5). – P. 1003–1008.

123. Cardiac arrhythmias in patients with COVID-19 / Y. Wang, Z. Wang, G. Tse [et al.] // Journal of Arrhythmia. – 2020. – Vol. 36 (5). – P. 827–836.

124. Cardiac Involvement in a Patient with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) / R. M. Inciardi, L. Lupi, G. Zaccone [et fl.] // JAMA Cardiology. – 2020. – Vol. 5 (7). – P. 819–824.

125. Cardiac involvement in patients recovered from COVID-2019 identified using magnetic resonance imaging / L. Huang, P. Zhao, D. Tang [et al.] // JACC: Cardiovascular Imaging. – 2020. – Vol. 13 (11). – P. 2330–2339.

126. Cardiac magnetic resonance imaging during the COVID-19 pandemic: A southern Italian single-center experience / A. Ponsiglione, C. Nappi, M. Imbriaco [et

al.] // European Journal of Radiology Open. – 2021. – Vol. 8. – P. 100319.

127. Cardiac SARS-CoV-2 infection is associated with pro-inflammatory transcriptomic alterations within the heart / H. Bräuninger, B. Stoffers, A. D. E. Fitzek [et al.] // Cardiovascular Research. – 2022. – Vol. 118 (2). – P. 542–555.

128. Cardiovascular implications of fatal outcomes of Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) / T. Guo, Y. Fan, M. Chen [et al.] // JAMA Cardiology. – 2020. – Vol. 5 (7). – P. 811–818.

129. Case of COVID-19 presenting with gastrointestinal symptoms / R. Kant, L. Chandra, M. A. Antony, V. Verma // World Journal of Virology. – 2020. – Vol. 9 (1). – P. 1–4.

130. CD34 over-expression is associated with gliomas' higher WHO grade / X. Kong, J. Guan, W. Ma [et al.] // Medicine (United States). – 2016. – Vol. 95 (7). – P. e2830.

131. CD34: Structure, biology, and clinical utility / D. S. Krause, M. J. Fackler, C. I. Civin, W. S. May // Blood. – 1996. – Vol. 87 (1). – P. 1–13.

132. Central nervous system action of endothelin-3 to inhibit water drinking in the rat / W. K. Samson, K. Skala, F. L. Huang [et al.] // Brain Research. – 1991. – Vol. 539 (2). – P. 347–351.

133. Characterization of myocardial injury in patients with COVID-19 / G. Giustino, L. B. Croft, G. G. Stefanini [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 2020. – Vol. 76 (18). – P. 2043–2055.

134. Characterization of NT-proBNP in a large cohort of COVID-19 patients / L. Capotosto, B. L. Nguyen, M. R. Ciardi [et al.] // European Journal of Heart Failure. – 2021. – Vol. 37 (9). – P. 1454–1464.

135. Circulating endothelial cells as a marker of endothelial injury in severe COVID-19 / C. Guervilly, S. Burtey, F. Sabatier [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2020. – Vol. 222 (11). – P. 1789–1793.

136. Circulating endothelial progenitors are increased in COVID-19 patients and correlate with SARS-CoV-2 RNA in severe cases / P. Mancuso, A. Gidaro, G. Gregato [et al.] // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2020. – Vol. 18 (10). –

P. 2744–2750.

137. Circulatory and myocardial effects of endothelin / B. K. Krämer, K. P. Ittner, M. E. Beyer [et al.] // Journal of Molecular Medicine. – 1997. – Vol. 75 (11-12). – P. 886–890.

138. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019 / G. Chen, D. Wu, W. Guo [et al.] // Journal of Clinical Investigation. – 2020. – Vol. 130 (5). – P. 2620–2629.

139. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: Retrospective study / T. Chen, D. Wu, H. Chen [et al.] // The BMJ. – 2020. – Vol. 368. – P. 1091.

140. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China / D. Wang, B. Hu, C. Hu [et al.] // JAMA - Journal of the American Medical Association. – 2020. – Vol. 323 (11). – P. 1061–1069.

141. Clinical characteristics of COVID-19 patients with digestive symptoms in Hubei, China: A descriptive, cross-sectional, multicenter study / L. Pan, M. Mu, P. Yang [et al.] // American Journal of Gastroenterology. – 2020. – Vol. 115 (5). – P. 766–773.

142. Clinical characteristics of novel coronavirus cases in tertiary hospitals in Hubei Province / K. Liu, Y. Y. Fang, Y. Deng [et al.] // Chinese Medical Journal. – 2020. – Vol. 133 (9). – P. 1025–1031.

143. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study / F. Zhou, T. Yu, R. Du [et al.] // The Lancet. – 2020. – Vol. 395 (10229). – P. 1054–1062.

144. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China / C. Huang, Y. Wang, X. Li [et al.] // The Lancet. – 2020. – Vol. 395 (10223). – P. 497–506.

145. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China / Q. Ruan, K. Yang, W. Wang [et al.] // Intensive Care Medicine. – 2020. – Vol. 46 (5). – P. 846–848.

146. Clinico-histopathologic and single-nuclei RNA-sequencing insights into cardiac injury and microthrombi in critical COVID-19 / M. I. Brener, M. L. Hulke, N. Fukuma [et al.] // JCI Insight. – 2022. – Vol. 7 (2). – P. e154633.

147. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19 / M. Levi, J. Thachil, T. Iba, J. H.Levy // The Lancet Haematology. – 2020. – Vol. 7 (6). – P. e438–e440.

148. Coleman, J. F. Robbins and Cotran's pathologic basis of disease, 8th edition / J. F. Coleman // American Journal of Surgical Pathology. – 2010. – Vol. 34 (1). – P. 132.

149. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases / C. Magro, J. J. Mulvey, D. Berlin [et al.] // Translational Research. – 2020. – Vol. 220. – P. 1–13.

150. Concise review: Evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors / L. E. Sidney, M. J. Branch, S. E. Dunphy [et al.] // Stem Cells. – 2014. – Vol. 32 (6). – P. 1380–1389.

151. Coronary endothelial dysfunction in humans is associated with myocardial perfusion defects / D. Hasdai, R. J. Gibbons, D. R. Holmes Jr. [et al.] // Circulation. – 1997. – Vol. 96 (10). – P. 3390–3395.

152. Coronary microvascular dysfunction in the setting of chronic ischemia is independent of arginase activity / N. R. Sodha, M. Boodhwani, R. T. Clements [et al.] // Microvascular Research. – 2008. – Vol. 75 (2). – P. 238–246.

153. Coronavirus (COVID-19) infection–induced chilblains: A case report with histopathologic findings / A. Kolivras, F. Dehavay, D. Delplace [et al.] // JAAD Case Reports. – 2020. – Vol. 6 (6). – P. 489–492.

154. COVID-19 and heart failure: from epidemiology during the pandemic to myocardial injury, myocarditis, and heart failure sequelae / L. Italia, D. Tomasoni, S. Bisegna [et al.] // Frontiers in Cardiovascular Medicine. – 2021. – Vol. 8. – P. 713560.

155. COVID-19 and the cardiovascular system / Y.-Y. Zheng, Y.-T. Ma, J.-Y. Zhang, X. Xie // Nature Reviews Cardiology. – 2020. – Vol. 17 (5). – P. 259–260.

156. COVID-19 CG enables SARS-CoV-2 mutation and lineage tracking by locations and dates of interest / A. T. Chen, K. Altschuler, S. H. Zhan [et al.] // eLife. – 2021. – Vol. 10. – P. 63409.

157. COVID-19 myocarditis complicating multivessel coronary artery disease / L. Onderko, J. Ortiz, R. Morgan [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 2021. – Vol. 77 (18). – P. 1987.

158. COVID-19: the vasculature unleashed / L. A. Teuwen, V. Geldhof, A. Pasut, P. Carmeliet // Nature Reviews Immunology. – 2020. – Vol. 20 (7). – P. 389–391.

159. COVID-19-associated acute hemorrhagic necrotizing encephalopathy: Imaging features / N. Poyiadji, G. Shahin, D. Noujaim [et al.] // Radiology. – 2020. – Vol. 296 (2). – P. 119–120.

160. COVID-19-associated nonocclusive fibrin microthrombi in the heart / M. C. Bois, N. A. Boire, A. J. Layman [et al.] // Circulation. – 2021. – Vol. 143 (3). – P. 230–243.

161. Crivellato, E. Mast cells and tumour angiogenesis: New insight from experimental carcinogenesis / E. Crivellato, B. Nico, D. Ribatti // Cancer Letters. – 2008. – Vol. 269 (1). – P. 1–6.

162. Curry, F. R. E. Spotlight on microvascular permeability / F. R. E. Curry, T. Noll // Cardiovascular Research. – 2010. – Vol. 87 (2). – P. 195–197.

163. Cytokine-Like 1 Is a novel proangiogenic factor secreted by and mediating functions of endothelial progenitor cells / D. Schneller, R. Hofer-Warbinek, C. Sturtzel [et al.] // Circulation Research. – 2019. – Vol. 124 (2). – P. 243–255.

164. Davies, M. G. The vascular endothelium: A new horizon / M. G. Davies, P. O. Hagen // Annals of Surgery. – 1993. – Vol. 218 (5). – P. 593–609.

165. De Tombe, P. P. Cardiac myofilaments: Mechanics and regulation / P. P. de Tombe // Journal of Biomechanics. – 2003. – Vol. 36 (5). – P. 721–730.

166. Deserranno, D. Incorporation of myofilament activation mechanics into a lumped model of the human heart / D. Deserranno, M. Kassemi, J. D. Thomas // Annals of Biomedical Engineering. – 2007. – Vol. 35 (3). – P. 321–336.

167. Detectable serum SARS-CoV-2 viral load (RNAaemia) is closely correlated with drastically elevated interleukin 6 (IL-6) level in critically ill COVID-19 patients / X. Chen, B. Zhao, Y. Qu [et al.] // Clinical infectious diseases. – 2020. – Vol. 71 (8). – P. 1937–1942.

168. Detection of viral SARS-CoV-2 genomes and histopathological changes in endomyocardial biopsies / F. Escher, H. Pietsch, G. Aleshcheva [et al.] // ESC Heart Failure. – 2020. – Vol. 7 (5). – P. 2440–2447.

169. Deutschman, C. S. Sepsis: Current dogma and new perspectives / C. S. Deutschman, K. J. Tracey // Immunity. – 2014. – Vol. 40 (4). – P. 463–75.

170. Difficulties in differentiating coronaviruses from subcellular structures in human tissues by electron microscopy / H. A. Bullock, C. S. Goldsmith, S. R. Zaki [et al.] // Emerging Infectious Diseases. – 2021. – Vol. 27 (4). – P. 1023–1031.

171. Diffused Myocardial Inflammation in COVID-19 Associated Myocarditis Detected by Cardiac Magnetic Resonance Imaging in Post-COVID Patients / J. A. Luetkens, A. Isaak, S. Zimmer [et al.] // Pakistan Armed Forces Medical Journal. – 2022. – Vol. 13 (5). – P. e010897.

172. Dijk C. G. M. Van [и др.]. The complex mural cell: Pericyte function in health and disease / C. G. van Dijk, F. E. Nieuweboer, J. Y. Pei [et al.] // International Journal of Cardiology. – 2015. – Vol. 190. – P. 75–89.

173. Distinct contributions of the thin and thick filaments to length-dependent activation in heart muscle / X. Zhang, T. Kampourakis, Z. Yan [et al.] // eLife. – 2017. – Vol. 6. – P. e24081.

174. Dou Q. [и др.]. Cardiovascular Manifestations and Mechanisms in Patients with COVID-19 / Q. Dou, X. Wei, K. Zhou [et al.] // Trends in Endocrinology and Metabolism. – 2020. – Vol. 31 (12). – P. 893–904.

175. Dubey, M. K. Spectrum of myocardial involvement in patients with COVID-19 - An echocardiography study / M. K. Dubey, A. Mani, V. Ojha // Journal of Cardiovascular and Thoracic Research. – 2024. – Vol. 16 (1). – P. 45–48.

176. Early Markers of Angiogenesis and Ischemia during Bowel Conduit Neovascularization / O. J. Manrique, P. Ciudad, A. Wong [et al.] // Journal of

Reconstructive Microsurgery. – 2017. – Vol. 33 (9). – P. 605–611.

177. ECG-COVID: An end-to-end deep model based on electrocardiogram for COVID-19 detection / A. S. Sakr, P. Pławiak, R. Tadeusiewicz [et al.] // Information Sciences. – 2023. – Vol. 619. – P. 324–339.

178. Eisenberg, L. M. Cellular recruitment and the development of the myocardium / L. M. Eisenberg, R. R. Markwald // Developmental Biology. – 2004. – Vol. 274 (2). – P. 225–232.

179. Electrocardiogram abnormalities and prognosis in COVID-19 / G. Chevrot, M. Hauguel-Moreau, M. Pépin [et al.] // Frontiers in Cardiovascular Medicine. – 2022. – Vol. 9. – P. 993479.

180. Electrocardiogram analysis of patients with different types of COVID-19 / Y. Wang, L. Chen, J. Wang [et al.] // Annals of Noninvasive Electrocardiology. – 2020. – Vol. 25 (6). – P. e12806.

181. Electron microscopy of SARS-CoV-2: a challenging task / C. S. Goldsmith, S. E. Miller, R. B. Martines [et al.] // The Lancet. – 2020. – Vol. 395 (10238) – P. 99.

182. Elevated fibrinogen and fibrin degradation product are associated with poor outcome in COVID-19 patients: A meta-analysis / J. Nugroho, A. Wardhana, E. P. Mulia [et al.] // Clinical Hemorheology and Microcirculation. – 2021. – Vol. 77 (2). – P. 221–231.

183. Elevated Plasma Fibrinogen Is Associated With Excessive Inflammation and Disease Severity in COVID-19 Patients / J. Sui, D. F. Noubouossie, S. Gandotra, L. Cao // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2021. – Vol. 11. – P. 734005.

184. Elevation of plasma angiotensin II level is a potential pathogenesis for the critically ill COVID-19 patients / Z. Wu, R. Hu, C. Zhang [et al.] // Critical Care. – 2020. – Vol. 24 (1). – P. 290.

185. El-Gendi, S. Lymphatic vessel density as prognostic factor in breast carcinoma: relation to clinicopathologic parameters / S. El-Gendi, M. Abdel-Hadi // Journal of the Egyptian National Cancer Institute. – 2009. – Vol. 21 (2). – P. 139–149.

186. Endothelial cell dysfunction: The syndrome in making / E. O'Riordan, J. Chen, S. V. Brodsky [et al.] // Kidney Int. – 2005. – Vol. 67 (5). – P. 1654–1658.

187. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 / Z. Varga, A. J. Flammer, P. Steiger [et al.] // The Lancet. – 2020. – Vol. 395 (10234). – P. 1417–1418.

188. Endothelial contribution to COVID-19: an update on mechanisms and therapeutic implications / Z. Ma, K. Y. Yang, Y. Huang, K. O. Lui // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 2022. – Vol. 164. – P. 69–82.

189. Endothelial dysfunction in COVID-19: A position paper of the ESC Working Group for Atherosclerosis and Vascular Biology, and the ESC Council of Basic Cardiovascular Science / P. C. Evans, G. E. Rainger, J. C. Mason [et al.] // Cardiovascular Research. – 2020. – Vol. 116 (14). – P. 2177–2184.

190. Endothelial dysfunction in COVID-19: a unifying mechanism and a potential therapeutic target / P. Ambrosino, I. L. Calcaterra, M. Mosella [et al.] // Biomedicines. – 2022. – Vol. 10 (4). – P. 812.

191. Endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress in COVID-19 – mechanisms and therapeutic targets / A. Fodor, B. Tiperciuc, C. Login [et al.] // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2021. – Vol. 2021. – P. 8671713.

192. Endothelial functions of platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (CD31) / P. Lertkiatmongkol, D. Liao, H. Mei [et al.] // Current Opinion in Hematology. – 2016. – Vol. 23 (3). – P. 253–239.

193. Endothelial-Mesenchymal Transition in COVID-19 lung lesions / M. Falleni, D. Tosi, F. Savi [et al.] // Pathology Research and Practice. – 2021. – Vol. 221. – P. 153419.

194. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study / G. Goshua, A. B. Pine, M. L. Meizlish [et al.] // The Lancet Haematology. – 2020. – Vol. 7 (8). – P. e575–e582.

195. Enteric involvement of severe acute respiratory syndrome - Associated coronavirus infection / W. K. Leung, K. F. To, P. K. Chan [et al.] // Gastroenterology. – 2003. – Vol. 125 (4). – P. 1011–1017.

196. Escher, R. ADAMTS13 activity, von Willebrand factor, factor VIII and D-dimers in COVID-19 inpatients / R. Escher, N. Breakey, B. Lämmle // Thrombosis Research. – 2020. – Vol. 192. – P. 174–175.

197. Escher, R. Severe COVID-19 infection associated with endothelial activation / R. Escher, N. Breakey, B. Lämmle // Thrombosis Research. – 2020. – Vol. 190. – P. 62.

198. Esteve, J. I. La función de la molécula CD34: Todavía una incógnita / J. I. Esteve, C. Azqueta, J. G. López // Sangre. – 1996. – Vol. 41 (1). – P. 47–54.

199. Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection / J. Xia, J. Tong, M. Liu [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2020. – Vol. 92(6). – P. 589–594.

200. Evidence of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 replication and tropism in the lungs, airways, and vascular endothelium of patients with fatal coronavirus disease 2019: an autopsy case series / J. Bhatnagar, J. Gary, S. Reagan-Steiner [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2021. – Vol. 223 (5). – P. 752–764.

201. Examination of myocardium and adrenal glands structure in patients with COVID-19 / N. P. Bgatova, S. V. Savchenko, A. N. Lamanov [et al.] // Bioinformatics of genome regulation and structure/systems biology (BGRS/SB-2022) : the thirteenth International multiconference, 04–08 Jule 2022. – Novosibirsk, Russia, 2022. – C. 764.

202. Expression and function of C5a receptor in mouse microvascular endothelial cells / I. J. Laudes, J. C. Chu, M. Huber-Lang [et al.] // The Journal of Immunology. – 2002. – Vol. 169 (10). – P. 5962–5970.

203. Expression of monocyte chemotactic protein and interleukin-8 by cytokine-activated human vascular smooth muscle cells / J. M. Wang, A. Sica, G. Peri [et al.] // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 1991. – Vol. 11 (5). – P. 1166–1174.

204. Extrapulmonary manifestations of COVID-19 / A. Gupta, M. V. Madhavan, K. Sehgal [et al.] // Nature Medicine. – 2020. – Vol. 26 (7). – P. 1017–1032.

205. Farrell, M. J. Cell biology of cardiac development / M. J. Farrell,

M. L. Kirby // International Review of Cytology. – 2001. – Vol. 202. – P. 99–158.

206. Ferrara, N. Vascular endothelial growth factor: Basic science and clinical progress / N. Ferrara // Endocrine Reviews. – 2004. – Vol. 25 (4). – P. 581–611.

207. Ferrara, N. VEGF-A: A critical regulator of blood vessel growth / N. Ferrara // European Cytokine Network. – 2009. – Vol. 20 (4). – P. 158–163.

208. Ferrario, C. M. Advances in biochemical and functional roles of angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-(1-7) in regulation of cardiovascular function / C. M. Ferrario, A. J. Trask, J. A. Jessup // American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology. – 2005. – Vol. 289 (6). – P. 2281–2290.

209. Folkman, J. Angiogenesis: An organizing principle for drug discovery? / J. Folkman // Nature Reviews Drug Discovery. – 2007. – Vol. 6 (4). – P. 273–286.

210. Formation and function of Weibel-Palade bodies / D. J. Metcalf, T. D. Nightingale, H. L. Zenner [et al.] // Journal of Cell Science. – 2008. – Vol. 121 (Pt 1). – P. 19–27.

211. Fozzard, H. A. Physiology of the Heart. Arnold M. Katz / H. A. Fozzard // The Quarterly Review of Biology. – 1993. – Vol. 68 (1). – C. 154–155.

212. Genetic deletion of ACE2 induces vascular dysfunction in C57BL/6 mice: Role of nitric oxide imbalance and oxidative stress / L. A. Rabelo, M. Todiras, V. Nunes-Souza [et al.] // PLoS ONE. – 2016. – Vol. 11 (4). – P. e0150255.

213. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China / A. Wu, Y. Peng, B. Huang [et al.] // Cell Host and Microbe. – 2020. – Vol. 27 (3). – P. 325–328.

214. Global evaluation of echocardiography in patients with COVID-19 / M. R. Dweck, A. Bularga, R. T. Hahn [et al.] // European Heart Journal Cardiovascular Imaging. – 2020. – Vol. 21 (9). – P. 949–958.

215. Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular permeability / C. Chelazzi, G. Villa, P. Mancinelli [et al.] // Critical Care. – 2015. – Vol. 19 (1). – P. 26.

216. Gonçalves, P. G. P. Immunohistochemical study of CD34 and podoplanin in periodontal disease / P. G. P. Gonçalves, S. I. M. Lourenço, B. C. de Vasconcelos Gurgel // Journal of Periodontal Research. – 2019. – Vol. 54 (4). – P. 349–355.

217. Goto, K. Molecular pharmacology and pathophysiological significance of endothelin / K. Goto, H. Hama, Y. Kasuya // Japanese Journal of Pharmacology. – 1996. – Vol. 72 (4). – P. 261–290.

218. Halushka, M. K. Vander Myocarditis is rare in COVID-19 autopsies: cardiovascular findings across 277 postmortem examinations / M. K. Halushka, R. S. Heide // Cardiovascular Pathology. – 2021. – Vol. 50. – P. 107300.

219. Handra-Luca, A. CD31 Immunohistochemical Expression in Tumors / A. Handra-Luca // Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology. – 2019. – Vol. 27 (10). – P. e98–e99.

220. Heart failure in COVID-19 patients: prevalence, incidence and prognostic implications / J. R. Rey, J. Caro-Codón, S. O. Rosillo [et al.] // European Journal of Heart Failure. – 2020. – Vol. 22 (12). – P. 2205–2215.

221. Heart, COVID-19, and echocardiography / L. Capotosto, B. L. Nguyen, M. R. Ciardi [et al.]. // Echocardiography. – 2020. – Vol. 37 (9). – P. 1454–1464.

222. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study / J. Helms, C. Tacquard, F. Severac [et al.] // Intensive Care Medicine. – 2020. – Vol. 46 (6). – P. 1089–1098.

223. Hinderliter, A. L. Assessing endothelial function as a risk factor for cardiovascular disease / A. L. Hinderliter, M. Caughey // Current Atherosclerosis Reports. – 2003. – Vol. 5 (6). – P. 506–513.

224. Histologic, viral, and molecular correlates of heart disease in fatal COVID-19 / L. Mezache, G. J. Nuovo, D. Suster [et al.] // Annals of Diagnostic Pathology. – 2022. – Vol. 60. – P. 151983.

225. Histopathological features in fatal COVID-19 acute respiratory distress syndrome / H. Merdji, S. Mayeur, M. Schenck [et al.] // Medicina Intensiva. – 2021. – Vol. 45 (5). – P. 261–270.

226. Horton, R. Offline: COVID-19 – bewilderment and candour / R. Horton // The Lancet. – 2020. – Vol. 395 (10231). – P. 1178.

227. Hu, K. Vascular endothelial growth factor control mechanisms in skeletal growth and repair / K. Hu, B. R. Olsen // Developmental Dynamics. – 2017. –

Vol. 246 (4). – P. 227–234.

228. Hunting coronavirus by transmission electron microscopy – a guide to SARS-CoV-2-associated ultrastructural pathology in COVID-19 tissues / H. Hopfer, M. C. Herzig, R. Gosert [et al.] // Histopathology. – 2021. – Vol. 78 (3). – P. 358–370.

229. Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit: A report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis / M. Panigada, N. Bottino, P. Tagliabue [et al.] // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2020. – Vol. 18 (7). – P. 1738–1742.

230. IL-1 induces vesicular secretion of il-6 without degranulation from human mast cells / K. Kandere-Grzybowska, R. Letourneau, D. Kempuraj [et al.] // The Journal of Immunology. – 2003. – Vol. 171 (9). – P. 4830–4836.

231. In vitro hypercoagulability and ongoing in vivo activation of coagulation and fibrinolysis in COVID-19 patients on anticoagulation / A. Blasi, F. A. von Meijenfeldt, J. Adelmeijer [et al.] // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2020. – Vol. 18 (10). – P. 2646–2653.

232. Incidental and asymptomatic splenic infaction and infrarenal thormbus in a patient with COVID-19 / C. Do, M. K. Gudipati, S. Ganti, J. Depa // Chest. – 2021. – Vol. 160 (4). – P. A314.

233. Induced dysregulation of ACE2 by SARS-CoV-2 plays a key role in COVID-19 severity / M. E. Mehrabadi, R. Hemmati, A. Tashakor [et al.] // Biomedicine and Pharmacotherapy. – 2021. – Vol. 137. – P. 111363.

234. Infectious bronchitis virus generates spherules from zippered endoplasmic reticulum membranes / H. J. Maier, P. C. Hawes, E. M. Cottam [et al.] // mBio. – 2013. – Vol. 4 (5). – P. e00801–813.

235. Inflammatory profiles across the spectrum of disease reveal a distinct role for GM-CSF in severe COVID-19 / R. S. Thwaites, A. S. S. Uruchurtu, M. K. Siggins [et al.] // Science Immunology. – 2021. – Vol. 6 (57). – P. 9873.

236. Influenza virus-cytokine-protease cycle in the pathogenesis of vascular hyperpermeability in severe influenza / S. Wang, T. Q. Le, N. Kurihara [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2010. – Vol. 202 (7). – P. 991–1001.

237. Inoue, T. How viruses use the endoplasmic reticulum for entry, replication, and assembly / T. Inoue, B. Tsai // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. – 2013. – Vol. 5 (1). – P. a013250.

238. Integrative imaging reveals sars-cov-2-induced reshaping of subcellular morphologies / M. Cortese, J.-Y. Lee, B. Cerikan [et al.] // Cell Host and Microbe. – 2020. – Vol. 28 (6). – P. 853–866.

239. Interleukin-6 causes endothelial barrier dysfunction via the protein kinase C pathway / T. R. Desai, N. J. Leeper, K. L. Hynes, B. L. Gewertz // Journal of Surgical Research. – 2002. – Vol. 104 (2). – P. 118–123.

240. Interleukin-6 promotes a sustained loss of endothelial barrier function via janus kinase-mediated STAT3 phosphorylation and de novo protein synthesis / H. Alsaffar, N. Martino, J. P. Garrett, A. P. Adam // American Journal of Physiology Cell Physiology. – 2020. – Vol. 314 (5). – P. 589–602.

241. Intracellular host cell membrane remodelling induced by SARS-CoV-2 infection in vitro / L. A. Caldas, F. A. Carneiro, F. L. Monteiro [et al.] // Biology of the Cell. – 2021. – Vol. 113 (6). – P. 281–293.

242. Intracellular organelles remodeling in myocardial endotheliocytes in COVID-19: an autopsy-based study / N. Bgatova, S. Savchenko, A. Lamanov [et al.] // Ultrastructural Pathology. – 2024. – Vol. 48 (1). – P. 66–74.

243. Jones, E. A. V. Mechanism of COVID-19-induced cardiac damage from patient, in vitro and animal studies / E. A. V. Jones // Current Heart Failure Reports. – 2023. – Vol. 20 (5). – P. 451–460.

244. Kadota S. [и др.]. In vivo maturation of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes in neonatal and adult rat hearts / S. Kadota, L. Pabon, H. Reinecke, C. E. Murry // Stem Cell Reports. – 2017. – Vol. 8 (2). – P. 278–289.

245. Kazemi, S. Stroke associated with SARS-CoV-2 infection and its pathogenesis: a systematic review / S. Kazemi, A. Pourgholaminejad, A. Saberi // Basic and Clinical Neuroscience. – 2021. – Vol. 12 (5). – P. 569–586.

246. Kim, C. H. SARS-CoV-2 evolutionary adaptation toward host entry and recognition of receptor o-acetyl sialylation in virus–host interaction / C. H. Kim //

International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21 (12). – P. 4549.

247. Kirkpatrick, J. N. American Society of Echocardiography COVID-19 Statement Update: Lessons Learned and Preparation for Future Pandemics / J. N. Kirkpatrick // Journal of the American Society of Echocardiography. – 2023. – Vol. 11 (36).

248. Kittichokechai, P. Dynamic change of an electrocardiogram in myocarditis following mRNA COVID-19 vaccination / P. Kittichokechai, P. Seripanu, T. Laksomya // Cardiology in the Young. – 2022. – Vol. 32.

249. Kothawade, K. Microvascular coronary dysfunction in women-pathophysiology, diagnosis, and management / K. Kothawade, C. N. Bairey Merz // Current Problems in Cardiology. – 2011. – Vol. 36 (8). – P. 291–318.

250. Landmesser, U. Endothelial function: A critical determinant in atherosclerosis? / U. Landmesser, B. Hornig, H. Drexler // Circulation. – 2004. – Vol. 109 (21 Suppl 1). – P. 27–33.

251. Left and right ventricular contributions to the formation of the interventricular septum in the mouse heart / D. Franco, S. M. Meilhac, V. M. Christoffels [et al.] // Developmental Biology. – 2006. – Vol. 294 (2). – P. 366–375.

252. Leisman, D. E. Facing COVID-19 in the ICU: vascular dysfunction, thrombosis, and dysregulated inflammation / D. E. Leisman, C. S. Deutschman, M. Legrand // Intensive Care Medicine. – 2020. – Vol. 46 (6). – P. 1105–1108.

253. Libby, P. COVID-19 is, in the end, an endothelial disease / P. Libby, T. Lüscher // European Heart Journal. – 2020. – Vol. 41 (32). – P. 3038–3044.

254. Lind, L. Endothelium-dependent vasodilation in hypertension: A review / L. Lind, S. O. Granstam, J. Millgård // Blood Pressure. – 2000. – Vol. 9 (1). – P. 4–15.

255. Liu, L. CD31: Beyond a marker for endothelial cells / L. Liu, G. P. Shi // Cardiovascular Research. – 2012. – Vol. 94 (1). – P. 3–5.

256. Liu, X. Hematological findings in coronavirus disease 2019: indications of progression of disease / X. Liu, R. Zhang, G. He // Annals of Hematology. – 2020. – Vol. 99 (7). – P. 1421–1428.

257. Lollar, P. Association of the factor VIII light chain with von Willebrand

factor / P. Lollar, D. C. Hill-Eubanks, C. G. Parker // Journal of Biological Chemistry. – 1988. – Vol. 263 (21). – P. 10451–5.

258. Lollar, P. Subunit Structure of Thrombin-Activated Porcine Factor VIII / P. Lollar, C. G. Parker // Biochemistry. – 1989. – Vol. 28 (2). – P. 666–674.

259. Lowenstein, C. J. Severe COVID-19 Is a Microvascular Disease / C. J. Lowenstein, S. D. Solomon // Circulation. – 2020. – Vol. 142 (17). – P. 1609–1611.

260. Lüscher, T. F. The endothelium: modulator of cardiovascular function / T. F. Lüscher, P. M. Vanhoutte. – Boca Raton : CRC Press, 2020. – 228 p.

261. MacKenzie, J. S. COVID-19: A novel zoonotic disease caused by a coronavirus from China: What we know and what we don't / J. S. MacKenzie, D. W. Smith // Microbiology Australia. – 2020. – Vol. 41 (1). – P. 20013.

262. Marco, A. Von Willebrand factor and ADAMTS13 activity as clinical severity markers in patients with COVID-19 / A. Marco, P. Marco // Journal of Thrombosis and Thrombolysis. – 2021. – Vol. 52 (2). – P. 497–503.

263. Matsuda, N. Alert cell strategy in SIRS-induced vasculitis: Sepsis and endothelial cells / N. Matsuda // Journal of Intensive Care. – 2016. – Vol. 4. – P. 21.

264. McFadyen, J. D. The Emerging Threat of (Micro)Thrombosis in COVID-19 and Its Therapeutic Implications / J. D. McFadyen, H. Stevens, K. Peter // Circulation Research. – 2020. – Vol. 127 (4). – P. 571–587.

265. Mechanisms of plaque formation and rupture / J. F. Bentzon, F. Otsuka, R. Virmani, E. Falk // Circulation Research. – 2014. – Vol. 114 (12). – P. 1852–66.

266. Megakaryocytes and platelet-fibrin thrombi characterize multi-organ thrombosis at autopsy in COVID-19: A case series / A. V. Rapkiewicz, X. Mai, S. E. Carsons [et al.] // EClinicalMedicine. – 2020. – Vol. 24. – P. 100434.

267. Miller, S. E. Caution in identifying coronaviruses by electron microscopy / S. E. Miller, C. S. Goldsmith // Journal of the American Society of Nephrology. – 2020. – Vol. 31 (9). – P. 2223–2224.

268. Miyake, K. Vesicle accumulation and exocytosis at sites of plasma membrane disruption / K. Miyake, P. L. McNeil // Journal of Cell Biology. – 1995. – Vol. 131 (6 Pt 2). – P. 1737–45.

269. Model of intracellular calcium cycling in ventricular myocytes / Y. Shiferaw, M. A. Watanabe, A. Garfinkel [et al.] // Biophysical Journal. – 2003. – Vol. 85 (6). – P. 3666–86.

270. Mosesson, M. W. Fibrinogen and fibrin structure and functions / M. W. Mosesson // J Thromb Haemost. – 2005. – Vol. 3 (8). – P. 1894–904.

271. Myocardial injury in COVID-19 patients: Association with inflammation, coagulopathy and in-hospital prognosis / V. Arévalos, L. Ortega-Paz, J. J. Rodríguez-Arias [et al.] // Journal of Clinical Medicine. – 2021. – Vol. 10 (10). – P. 2096.

272. Myocardial Injury in Severe COVID-19 Compared with Non-COVID-19 Acute Respiratory Distress Syndrome / T. S. Metkus, L. J. Sokoll, A. S. Barth [et al.] // Circulation. – 2021. – Vol. 143 (6). – P. 553–565.

273. Myocardial localization of coronavirus in COVID-19 cardiogenic shock / G. Tavazzi, C. Pellegrini, M. Maurelli [et al.] // European Journal of Heart Failure. – 2020. – Vol. 22 (5). – P. 911–915.

274. Nachman, R. L. Platelets, petechiae, and preservation of the vascular wall / R. L. Nachman, S. Rafii // New England Journal of Medicine. – 2008. – Vol. 359 (12). – P. 1261–1270.

275. Neurological Complications of Coronavirus Disease (COVID-19): Encephalopathy / A. Filatov, P. Sharma, F. Hindi, P. S. Espinosa // Cureus. – 2020. – Vol. 12 (3). – P. e7352.

276. Nielsen, J. S. Novel functions of the CD34 family / J. S. Nielsen, K. M. McNagny // Journal of Cell Science. – 2008. – Vol. 121 (Pt 22). – P. 3683–3692.

277. Noble, D. Modelling the heart: Insights, failures and progress / D. Noble // BioEssays. – 2002. – Vol. 24 (12). – P. 1155–1163.

278. Novel insights into the transmission of SARS-CoV-2 through the ocular surface and its detection in tears and conjunctival secretions: a review / N. Güemes-Villahoz, B. Burgos-Blasco, B. Vidal-Villegas [et al.] // Advances in Therapy. – 2020. – Vol. 37 (10). – P. 4086–4095.

279. Nucleocapsid (N) gene mutations of SARS-CoV-2 can affect real-time RT-PCR diagnostic and impact false-negative results / J. C. C. Lesbon, M. D. Poleti,

E. C. de Mattos Oliveira [et al.] // Viruses. – 2021. – Vol. 13 (12). – P. 2474.

280. Optimal cut points of N-terminal of the prohormone brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in patients with COVID-19 / M. Chehrazi, H. Yavarpour, F. Jalali [et al.] // Egyptian Heart Journal. – 2022. – Vol. 74 (1). – P. 16.

281. Orbitofrontal involvement in a neuroCOVID-19 patient / L. Le Guennec, J. Devianne, L. Jalin [et al.] // Epilepsia. – 2020. – Vol. 61 (8). – P. e90–e94.

282. Organ manifestations of COVID-19: what have we learned so far (not only) from autopsies? / D. Jonigk, C. Werlein, T. Acker [et al.] // Virchows Archiv. – 2022. – Vol. 481 (2). – P. 139–159.

283. Outcomes of cardiovascular magnetic resonance imaging in patients recently recovered from Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) / V. O. Puntmann, M. L. Carerj, I. Wieters [et al.] // JAMA Cardiology. – 2020. – Vol. 5 (11). – P. 1265–1273.

284. Palade, G. E. An electron microscope study of the mitochondrial structure / G. E. Palade // The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society. – 1953. – Vol. 1 (4). – P. 188–211.

285. Palade, G. E. Structural aspects of the permeability of the microvascular endothelium / G. E. Palade, M. Simionescu, N. Simionescu // Acta Physiologica Scandinavica. – 1979. – Vol. 463. – P. 11–32.

286. Pathological features of COVID-19-associated myocardial injury: A multicentre cardiovascular pathology study / C. Basso, O. Leone, S. Rizzo [et al.] // European Heart Journal. – 2020. – Vol. 41 (39). – P. 3827–3835.

287. PECAM-1 is required for transendothelial migration of leukocytes / W. A. Muller, S. A. Weigl, X. Deng, D. M. Phillips // Journal of Experimental Medicine. – 1993. – Vol. 178 (2). – P. 449–460.

288. Pepe, F. A. The myosin filament: immunochemical and ultrastructural approaches to molecular organization / F. A. Pepe // Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. – 1973. – Vol. 37. – P. 97–108.

289. Persistent endothelial dysfunction in post-acute covid-19 syndrome: A case-control study / P. Ambrosino, I. Calcaterra, A. Molino [et al.] // Biomedicines. – 2021. – Vol. 9 (8). – P. 957.

290. Phosphodiesterase 5 attenuates the vasodilatory response in renovascular hypertension / J. Stegbauer, S. Friedrich, S. A. Potthoff [et al.] // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8 (11). – P. e80674.

291. Plasma ACE2 activity is persistently elevated following SARS-CoV-2 infection: Implications for COVID-19 pathogenesis and consequences / S. K. Patel, J. A. Juno, W. S. Lee [et al.] // European Respiratory Journal. – 2021. – Vol. 57 (5). – P. 2003730.

292. Pober, J. S. Evolving functions of endothelial cells in inflammation / J. S. Pober, W. C. Sessa // Nature Reviews Immunology. – 2007. – Vol. 7 (10). – P. 803–815.

293. Polymorphisms and mutations of ACE2 and TMPRSS2 genes are associated with COVID-19: a systematic review / J. Li, Y. Wang, Y. Liu [et al.] // European Journal of Medical Research. – 2022. – Vol. 27 (1). – P. 26.

294. Potential Effects of Coronaviruses on the Cardiovascular System: A Review / M. Madjid, P. Safavi-Naeini, S. D. Solomon, O. Vardeny // JAMA Cardiology. – 2020. – Vol. 5 (7). – P. 831–840.

295. Prasad, A. Single Virus Targeting Multiple Organs: What We Know and Where We Are Heading? / A. Prasad, M. Prasad // Frontiers in Medicine. – 2020. – Vol. 7. – P. 370.

296. Predictors of mortality in hospitalized COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis / W. Tian, W. Jiang, J. Yao [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2020. – Vol. 92 (10). – P. 1875–1883.

297. Prevalence and outcomes of d-dimer elevation in hospitalized patients with COVID-19 / J. S. Berger, D. Kunichoff, S. Adhikari [et al.] // Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology. – 2020. – Vol. 40 (10). – P. 2539–2547.

298. Prevalence of Acute Kidney Injury in Severe and Critical COVID-19 Patients in Wuhan, China / C. Wen, Q. Yali, G. Zirui [et al.] // SSRN Electronic Journal. – 2020. – Vol. 24. – P. 29.

299. Prognostic impact of VEGF, CD31, CD34, and CD105 expression and tumour vessel invasion after radical surgery for IB-IIA non-small cell lung cancer /

T. C. Mineo, V. Ambrogi, A. Baldi [et al.] // Journal of Clinical Pathology. – 2004. – Vol. 57 (6). – P. 591–597.

300. Prognostic value of fibrinogen among covid-19 patients admitted to an emergency department: An italian cohort study / P. D. Micco, V. Russo, N. Carannante [et al.] // Journal of Clinical Medicine. – 2020. – Vol. 9 (12). – P. 4134.

301. Prognostic value of NT-proBNP in patients with severe COVID-19 / L. Gao, D. Jiang, X. S. Wen [et al.] // Respiratory Research. – 2020. – Vol. 21 (1). – P. 83.

302. Protease inhibitors targeting coronavirus and filovirus entry / Y. Zhou, P. Vedantham, K. Lu [et al.] // Antiviral Research. – 2015. – Vol. 116. – P. 76–84.

303. Prothrombotic changes in patients with COVID-19 are associated with disease severity and mortality / F. A. von Meijenfeldt, S. Havervall, J. Adelmeijer [et al.] // Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis. – 2021. – Vol. 5 (1). – P. 132–141.

304. P-selectin anchors newly released ultralarge von Willebrand factor multimers to the endothelial cell surface / A. Padilla, J. L. Moake, A. Bernardo [et al.] // Blood. – 2004. – Vol. 103 (6). – P. 2150–2156.

305. Puchwein-Schwepcke, A. The endothelial glycocalyx: physiology and pathology in neonates, infants and children / A. Puchwein-Schwepcke, O. Genzel-Boroviczény, C. Nussbaum // Frontiers in Cell and Developmental Biology. – 2021. – Vol. 9. – P. 733557.

306. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans / S. E. Fox, A. Akmatbekov, J. L. Harbert [et al.] // The Lancet Respiratory Medicine. – 2020. – Vol. 8 (7). – P. 681–686.

307. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study / L. Carsana, A. Sonzogni, A. Nasr [et al.] // The Lancet Infectious Diseases. – 2020. – Vol. 20 (10). – P. 1135–1140.

308. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19 / M. Ackermann, S. E. Verleden, M. Kuehnel [et al.] // New England Journal of Medicine. – 2020. – Vol. 383 (2). – P. 120–128.

309. Pusztaszeri, M. P. Immunohistochemical expression of endothelial markers CD31, CD34, von Willebrand factor, and Fli-1 in normal human tissues / M. P. Pusztaszeri, W. Seelentag, F. T. Bosman // Journal of Histochemistry and Cytochemistry. – 2006. – Vol. 54 (4). – P. 385–395.

310. RNA replication of mouse hepatitis virus takes place at double-membrane vesicles / R. Gosert, A. Kanjanahaluethai, D. Egger [et al.] // Journal of Virology. – 2002. – Vol. 76 (8). – P. 3697–3708.

311. Role of the early secretory pathway in SARS-CoV-2 Infection / D. Sicari, A. Chatziioannou, T. Koutsandreas [et al.] // Journal of Cell Biology. – 2020. – Vol. 219 (9). – P. e202006005.

312. Romanov, Y. A. SARS-CoV-2, COVID-19 and cardiovascular complications from the position of vascular endothelium / Y. A. Romanov // Kardiologicheskii vestnik. – 2022. – Vol. 17 (1). – P. 21.

313. Rubanyi, G. M. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases / G. M. Rubanyi // J Cardiovasc Pharmacol. – 1993. – Vol. 22 (S 4). – P. S1–14.

314. SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of modified endoplasmic reticulum / K. Knoops, M. Kikkert, S. H. Worm [et al.] // PLoS Biology. – 2008. – Vol. 6 (9). – P. e226.

315. SARS-coronavirus-2 replication in Vero E6 cells: Replication kinetics, rapid adaptation and cytopathology / N. S. Ogando, T. J. Dalebout, J. C. Zevenhoven-Dobbe [et al.] // Journal of General Virology. – 2020. – Vol. 101 (9). – P. 925–940.

316. SARS-CoV-2, myocardial injury and inflammation: insights from a large clinical and autopsy study / M. D. Ferro, R. Bussani, A. Paldino // Clinical Research in Cardiology. – 2021. – Vol. 110 (11). – P. 1822–1831.

317. SARS-CoV-2, the pandemic coronavirus: Molecular and structural insights / S. B. Kadam, G. S. Sukhramani, P. Bishnoi [et al.] // Journal of Basic Microbiology. – 2021. – Vol. 61 (3). – P. 180–202.

318. Sexton N. R. [и др.]. Homology-Based Identification of a Mutation in the Coronavirus RNA-Dependent RNA Polymerase That Confers Resistance to Multiple

Mutagens / N. R. Sexton, E. C. Smith, H. Blanc [et al.] // Journal of Virology. – 2016. – Vol. 90 (16). – P. 7415–7428.

319. Shah, V. I. CD34 expression in undifferentiated endometrial carcinoma / V. I. Shah, P. Ramalingam, W. G. McCluggage // Histopathology. – 2016. – Vol. 69 (5). – P. 894–897.

320. Signaling Pathways Involved in Renal Oxidative Injury: Role of the Vasoactive Peptides and the Renal Dopaminergic System / N. L. Rukavina Mikusic, M. C. Kravetz, N. M. Kouyoumdzian [et al.] // Journal of Signal Transduction. – 2014. – Vol. 2014. – P. 731350.

321. Simionescu, M. Functional ultrastructure of the vascular endothelium: Changes in various pathologies / M. Simionescu, F. Antohe // Handbook of Experimental Pharmacology. – 2006. – Vol. 176 (1). – P. 41–69.

322. Six I. [и др.]. The endothelium and COVID-19: an increasingly clear link brief title: endotheliopathy in COVID-19 / I. Six, N. Guillaume, V. Jacob [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23 (11). – P. 6196.

323. Skeletal and cardiac muscle pericytes: Functions and therapeutic potential / I. R. Murray, J. E. Baily, W. C. W. Chen [et al.] // Pharmacology and Therapeutics. – 2017. – Vol. 171. – P. 65–74.

324. Spike gene evolution and immune escape mutations in patients with mild or moderate forms of COVID-19 and treated with monoclonal antibodies therapies / A. Jary, S. Marot, A. Faycal [et al.] // Viruses. – 2022. – Vol. 14 (2). – P. 226.

325. Spotnitz H. M. Macro design, structure, and mechanics of the left ventricle / H. M. Spotnitz // Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 2000. – Vol. 119 (5). – P. 1053–1077.

326. SREBP-dependent lipidomic reprogramming as a broad-spectrum antiviral target / S. Yuan, H. Chu, J. F.-W. Chan [et al.] // Nature Communications. – 2019. – Vol. 10 (1). – P. 120.

327. Structural basis for human coronavirus attachment to sialic acid receptors / M. A. Tortorici, A. C. Walls, Y. Lang [et al.] // Nature Structural and Molecular Biology. – 2019. – Vol. 26 (6). – P. 481–489.

328. Structure and expression of a calcium-binding protein gene contained within a calmodulin-regulated protein kinase gene / M. Collinge, P. E. Matrisian, W. E. Zimmer [et al.] // Molecular and Cellular Biology. – 1992. – Vol. 12 (5). – P. 2359–2371.

329. Structures and functions of coronavirus replication–transcription complexes and their relevance for SARS-CoV-2 drug design / B. Malone, N. Urakova, E. J. Snijder, E. A. Campbell // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2022. – Vol. 23 (1). – P. 21–39.

330. Suspected subclinical myocarditis detected by cardiac magnetic resonance imaging late post COVID-19 recovery / N. R. Ghugre, A. Orbach, L. Biswas [et al. // Journal of Cardiology Cases. – 2021. – Vol. 24 (5). – P. 203–205.

331. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps / B. J. Barnes, J. M. Adrover, A. Baxter-Stoltzfus [et al.] // Journal of Experimental Medicine. – 2020. – Vol. 217 (6). – P. e20200652.

332. The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2 / L. Chen, X. Li, M. Chen [et al.] // Cardiovascular Research. – 2020. – Vol. 116 (6). – P. 1097–1100.

333. The correlation of gene mutation of coagulopathy cascade with elevated D-dimer levels in COVID-19 patients / M. M. Albalbaki, O. Al-Fawares, W. Aburayyan [et al.] // Journal of Applied Pharmaceutical Science. – 2024. – Vol. 14 (1). – P. 054–063.

334. The evolution of pulmonary pathology in fatal COVID-19 disease: an autopsy study with clinical correlation / H. Bösmüller, S. Traxler, M. Bitzer [et al.] // Virchows Archiv. – 2020. – Vol. 477 (3). – P. 349–357.

335. The molecular story of COVID-19; NAD+ depletion addresses all questions in this infection / R. K. Mohapatra [et al.] // Article in Journal of Medical Virology. – 2020. Vol. 9 (93).

336. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection / P. Verdecchia, C. Cavallini, A. Spanevello, F. Angelib // European Journal of Internal Medicine. – 2020. – Vol. 76. – P. 14–20.

337. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome / M. Ranucci, A. Ballotta, U. D. Dedda [et al.] // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2020. – Vol. 18 (7). – P. 1747–1751.

338. The relationship between N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) levels and diastolic heart failure in patients with COVID-19 / N. Ziaie, K. Ezoji, S. G. Ziaei [et al.] // International Journal of Cardiovascular Imaging. – 2022. – Vol. 38 (6). – P. 1289–1296.

339. The role of the cytoskeleton in heart failure / S. Hein, S. Kostin, A. Heling [et al.] // Cardiovascular Research. – 2000. – Vol. 45 (2). – P. 273–278.

340. The SARS-CoV-2 Spike protein disrupts human cardiac pericytes function through CD147 receptor-mediated signalling: A potential non-infective mechanism of COVID-19 microvascular disease / E. Avolio, M. Carrabba, R. Milligan [et al.] // Clinical Science. – 2021. – Vol. 135 (24). – P. 2667–2689.

341. The science underlying COVID-19: implications for the cardiovascular system / P. P. Liu, A. Blet, D. Smyth, H. Li // Circulation. – 2020. – Vol. 142 (1). – P. 68–78.

342. Thrombo-Inflammation in cardiovascular disease: an expert consensus document from the third maastricht consensus conference on thrombosis / E. d'Alessandro, C. Becker, W. Bergmeier [et al.] // Thrombosis and Haemostasis. – 2020. – Vol. 120 (4). – P. 538–564.

343. Thrombotic complications of patients admitted to intensive care with COVID-19 at a teaching hospital in the United Kingdom / W. Thomas, J. Varley, A. Johnston [et al.] // Thrombosis Research. – 2020. – Vol. 191. – P. 76–77.

344. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis / I. Hamming, W. Timens, M. L. C. Bulthuis [et al.] // Journal of Pathology. – 2004. – Vol. 203 (2). – P. 631–637.

345. TMPRSS2 contributes to virus spread and immunopathology in the airways of murine models after coronavirus infection / N. Iwata-Yoshikawa, T. Okamura, Y. Shimizu [et al.] // Journal of Virology. – 2019. – Vol. 93 (6). –

P. 1815–1818.

346. TNF-α increases tyrosine phosphorylation of vascular endothelial cadherin and opens the paracellular pathway through fyn activation in human lung endothelia / D. J. Angelini, S. W. Hyun, D. N. Grigoryev [et al.] // American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology. – 2006. – Vol. 291 (6). – P. 1232–1245.

347. Tooze, J. Replication of coronavirus MHV-A59 in sac- cells: determination of the first site of budding of progeny virions / J. Tooze, S. Tooze, G. Warren // European Journal of Cell Biology. – 1984. – Vol. 33 (2). – P. 281–293.

348. Traumatic endotheliopathy: A prospective observational study of 424 severely injured patients / P. I. Johansson, H. H. Henriksen, J. Stensballe [et al.] // Annals of Surgery. – 2017. – Vol. 265 (3). – P. 597–603.

349. Tucker, W. D. Anatomy, Blood Vessels / W. D. Tucker, K. Mahajan // StatPearls. – 2018.

350. Tucker, W. D. Anatomy, Blood Vessels / W. D. Tucker, Y. Arora, K. Mahajan. – StatPearls, 2023.

351. Tveita, T. Changes in myocardial ultrastructure induced by cooling as well as rewarming / T. Tveita, R. Myklebust, K. Ytrehus // Research in Experimental Medicine. – 1997. – Vol. 197 (5). – P. 243–254.

352. Uncontrolled Innate and Impaired Adaptive Immune Responses in Patients with COVID-19 Acute Respiratory Distress Syndrome / S. Hue, A. Beldi-Ferchiou, I. Bendib [et al.] // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2020. – Vol. 202 (11). – P. 1509–1519.

353. Unusual arterial thrombotic events in COVID-19 patients / C. de Roquetaillade, B. G. Chousterman, D. Tomasoni [et al.] // International Journal of Cardiology. – 2021. – Vol. 323. – P. 281–284.

354. Updates of cardiovascular manifestations in COVID-19: Korean experience to broaden worldwide perspectives / I. C. Kim, H. A. Kim, J. S. Park, C. W. Nam // Korean Circulation Journal. – 2020. – Vol. 50 (7). – P. 543–554.

355. Vanhoutte, P. M. Other endothelium-derived vasoactive factors /

P. M. Vanhoutte // Circulation. – 1993. – Vol. 87 (5).

356. Varga, Z. Covid-19 Endothelitis / Z. Varga, A. Flammer, P. Steiger // Lancet (London, England). – 2020. – Vol. 395 (10234).

357. Vascular endothelial cell biology: An update / A. Krüger-Genge, A. Blocki, R. P. Franke, F. Jung // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – Vol. 20 (18). – P. 4411.

358. Vinayagam, S. SARS-CoV-2 and coagulation disorders in different organs / S. Vinayagam, K. Sattu // Life Sciences. – 2020. – Vol. 260. – P. 118431.

359. Viral presence and immunopathology in patients with lethal COVID-19: a prospective autopsy cohort study / B. Schurink, E. Roos, T. Radonic [et al.] // The Lancet Microbe. – 2020. – Vol. 1 (7). – P. e290–e299.

360. Weibel, E. Stereological method / E. Weibel. – London : Academ. Pr., 1979. – 415 c.

361. Weibel, E. R. New cytoplasmic components in arterial endothelia / E. R. Weibel, G. E. Palade // The Journal of cell biology. – 1964. – Vol. 23 (1). – P. 101–112.

362. WHO Coronavirus disease (COVID-2019) situation reports // World Health Organisation. – 2020. – 170 p.

363. Why misinterpretation of electron micrographs in SARS-CoV-2-infected tissue goes viral / C. Dittmayer, J. Meinhardt, H. Radbruch [et al.] // The Lancet. – 2020. – Vol. 396 (10260). – P. e64–e65.

364. Woodfin, A. PECAM-1: A multi-functional molecule in inflammation and vascular biology / A. Woodfin, M. B. Voisin, S. Nourshargh // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2007. – Vol. 27 (12). – P. 2514–2523.

365. Worldwide survey of COVID-19-associated arrhythmias / E. J. Coromilas, S. Kochav, I. Goldenthal [et al.] // Circulation Arrhythmia and Electrophysiology. – 2021. – Vol. 14 (3). – P. e009458.

366. Xu, S.-W. Endothelial dysfunction in COVID-19: an overview of evidence, biomarkers, mechanisms and potential therapies / S.-W. Xu, I. Ilyas, J.-P. Weng // Acta Pharmacologica Sinica. –2023. – Vol. 44 (4). – P. 695–709.

367. Yau, J. W. Endothelial cell control of thrombosis / J. W. Yau, H. Teoh, S. Verma // BMC Cardiovascular Disorders. – 2015. – Vol. 15. – P. 130.

368. Zhang, J. Endothelial dysfunction contributes to COVID-19-associated vascular inflammation and coagulopathy / J. Zhang, K. M. Tecson, P. A. McCullough // Reviews in Cardiovascular Medicine. – 2020. – Vol. 21 (3). – P. 315–319.

369. Zheng, X. L. ADAMTS13 and von willebrand factor in thrombotic thrombocytopenic purpura / X. L. Zheng // Annual Review of Medicine. – 2015. – Vol. 66. – P. 211–225.

370. Zinzula, L. Strategies of highly pathogenic RNA viruses to block dsRNA detection by RIG-I-like receptors: Hide, mask, hit / L. Zinzula, E. Tramontano // Antiviral Research. – 2013. – Vol. 100 (3). – P. 615–635.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Агрегация, сладжирование эритроцитов в капиллярах и резко выраженный отек стромы миокарда пациента с COVID-19. × 200. Окраска гематоксилин-эозин. . . . . С. 63
2. Волнообразная деформация мышечных волокон, метахромазия кардиомиоцитов и стромальный отек миокарда пациента COVID-19 × 100. Окраска гематоксилин-эозин. . . . . С. 63
3. Рисунок 3 – Спазм мелкой интрамуральной артерии, отек стенки сосуда, десквамация эндотелия, метахромазия и продольное расщепление кардиомиоцитов, отек стромы пациента COVID-19. × 100. Окраска гематоксилин-эозин. . . . . С. 64
4. Рисунок 4 – Отек стенки артерии, набухание эндотелия, эндотелиоциты в виде «частокола», в просвете клетки белой крови, фибриновые массы. × 400. Окраска гематоксилин-эозин. . . . . С. 64
5. Рисунок 5 – Эндотелиоциты спазмированной артерии в виде частокола, отек стенки сосуда, десквамация эндотелия, метахромазия и продольное расщепление кардиомиоцитов, отек стромы пациента COVID-19. × 100. Окраска гематоксилин-эозин С. 65
6. Рисунок 6 – Набухшие эндотелиоциты кровеносных капилляров с признаками пролиферации, фибриновые массы в просвете сосуда пациента COVID-19. × 100. Окраска гематоксилин-эозин. . . . . С. 65
7. Рисунок 7 – Отек стенки артерии, десквамация эндотелия, в просвете сосуда клетки белой крови и фибриновые массы у пациента с COVID-19. × 100. Окраска гематоксилин-эозин. . . . . С. 66
8. Рисунок 8 – Скопление зёрен липофусцина в саркоплазме кардиомиоцитов. × 200. Окраска гематоксилин-эозин. . . . . С. 66
9. Рисунок 9 – Скопления зёрен липофусцина в перинуклеарной зоне клетки. × 200. Окраска гематоксилин-эозин. . . . . С. 67
10. Рисунок 10 – Периваскулярные диапедезные кровоизлияния. × 200.

Окраска гематоксилин-эозин. . . . . С. 67
11. Рисунок 11 – Перимускулярные диапедезные кровоизияния. × 200. Окраска гематоксилин-эозин. . . . . С. 68
12. Рисунок 12 – Отек стенки артерии, выбухание эндотелиальной выстилки в просвет сосуда, фибриновые массы оранжевого цвета у пациента с COVID-19. × 100. Окраска ОКГ. . . . . С. 68
13. Рисунок 13 – Эритроцитарно-лейкоцитарно-фибриновый тромб в просвете интрамуральной артерии, фибрин красного и голубого цвета у пациента с COVID-19. × 200. Окраска ОКГ. . . . . С. 69
14. Рисунок 14 – Множественные контрактуры кардиомиоцитов у пациента с COVID-19. × 200. Поляризационная микроскопия. . . . . С. 70
15. Рисунок 15 – Контрактуры III степени и глыбчатый распад кардиомиоцитов у пациента с COVID-19. × 200. Поляризационная микроскопия. . . . . С. 71
16. Рисунок 16 – Эндотелиоциты кровеносных капилляров миокарда левого желудочка контрольной группы с большим содержанием кавеол и свободных транспортных везикул (стрелки). Электронограмма, × 30 000. . . . . С. 73
17. Рисунок 17 – Эндотелиоциты в состоянии отека-набухания с большим содержанием рибосом и мембран эндоплазматического ретикулума (стрелки). Электронограмма, × 30 000. . . . . С. 4
18. Рисунок 18 – Вирусные частицы в эндотелиоците: А, Е – вирусные частицы в просвете капилляра (стрелка), Б – вирусная частица в перикапиллярном пространстве (стрелка), В – контакт вирусной частицы с выростом цитоплазмы кровеносного капилляра (стрелка), Г, Д – контакт вирусной частицы с клеточной мембраной эндотелиоцита кровеносного капилляра (стрелка). Электронограммы, ×30 000. . . . . С. 75
19. Рисунок 19 – Ультраструктурная перестройка эндотелиоцитов: А – вакуоли в околоядерной зоне (стрелка), Б – электроннoплотный

материал в цистернах комплекса Гольджи (стрелки), В, Г – различная степень накопления везикулярных структур (стрелки), Д, Е – липидная капля в цитоплазме эндотелиоцита (стрелки). Электронограммы, × 30 000. . . . . С. 76

20. Рисунок 20 – Ультраструктурная перестройка инфицированных эндотелиоцитов: А, Б – двумембранные везикулы с электронноплотным материалом (стрелки), В – мембраны эндоплазматического ретикулума с застежкой-молнией, Г – закрученные спирально мембраны (черные стрелки), липидная капля в цитоплазме эндотелиоцита (белая стрелка), Д – вирусные частицы в двухмембранной структуре (стрелка), Е – вирусные частицы в одномембранной вакуоли (стрелка). Электронограммы, × 30 000. . . . . С. 78

21. Рисунок 21 – Ультраструктурная перестройка инфицированных эндотелиоцитов: А – набухшие митохондрии, в которых не выявлялись кристы, Б – контроль. Электронограммы, × 30 000 С. 79

22. Рисунок 22 – Экспрессия молекул CD31. PECAM определяются в эндотелиальных клетках и в единичных клетках стромы миокарда контрольной группы. Иммуногистохимическое исследование × 400 С. 83

23. Рисунок 23 – Экспрессия молекул CD31. PECAM присутствует в отдельных клетках капилляров миокарда пациента с COVID-19. Иммуногистохимическое исследование × 400. . . . . С. 84

24. Рисунок 24 – Объемная плотность (Vv, %) сосудов миокарда при экспрессии эндотелиального фактора CD31 в основной группе и пациентов с COVID-19 (M ± SD) . . . . . С. 84

25. Рисунок 25 – Экспрессия эндотелиального фактора CD34 определяется в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов миокарда контрольной группы. Иммуногистохимическое исследование × 400. . . . . С. 85

26. Рисунок 26 – Снижение экспрессии эндотелиального фактора

(CD34), которая плохо просматривается и определяется в отдельных капиллярах миокарда у пациента с COVID-19. Иммуногистохимическое исследование × 400. . . . . С. 85

27. Рисунок 27 – Объемная плотность (Vv, %) сосудов миокарда при экспрессии эндотелиального фактора CD34 в основной и контрольной группах (M ± SD) . . . . . С. 86

28. Таблица 1 – Характеристика клинических, лабораторных и функциональных параметров у пациентов с тяжелой формой COVID-19. . . . . С. 58

29. Таблица 2 – Результаты морфометрии эндотелиоцитов кровеносных капилляров с преобладанием рибосом и мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума (M ± SD) . . . . . С. 79

30. Таблица 3 – Иммуногистохимическое исследование объемной плотности (Vv, %) сосудов миокарда при экспрессии эндотелиального фактора CD31 и эндотелиального фактора CD34 в группе пациентов с COVID-19 и контрольной группах (M ± SD) . . . . С. 86