

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Волкова Александра Михайловича на диссертацию **Алексея Николаевича Ламанова** выполненную по теме: «Морфологические изменения эндотелия кровеносных капилляров миокарда при COVID-19», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.2. патологическая анатомия, 1.5.22. клеточная биология

Актуальность темы исследования. На современном этапе мультидисциплинарного изучения инфекционного заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, которое в 2020 году сопровождалось пандемией и унесло около 7 миллионов жизней, было установлено, что развивающаяся патология не ограничивается поражением органов дыхания. Следует отметить, что развивающееся при COVID-19 генерализованное сосудистое поражение следует рассматривать как один из механизмов формирования сердечной недостаточности у пациентов с развитием летальных исходов. Гистопатологические наблюдения демонстрируют, что COVID-19 представляет собой (микро) сосудистое и эндотелиальное заболевание, при котором развитие эндотелиальной дисфункции играет важнейшую роль в патогенезе заболевания. Тромботические и микрососудистые осложнения часто наблюдаются у умерших пациентов с COVID-19. Однако вопрос о том, вызвано ли это прямым повреждением вирусом эндотелиальных клеток или активацией эндотелия, вызванной воспалением, остается до конца не решенным. Основная роль в регуляции и функционировании системы микроциркуляции органов и тканей принадлежит эндотелию сосудов, в связи с чем альтерация эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда сопровождается выраженными нарушениями функционирования гистогематического барьера, повышением проницаемости сосудистой стенки, дисрегуляцией гомеостаза. К прогрессирующим

микроциркуляторным расстройствам и развитию полиорганной недостаточности приводит альтерация эндотелиальных клеток. В связи с изложенным тема диссертационной работы А.Н. Ламанова, посвященная изучению патоморфологических, ультраструктурных и молекулярно-биологических изменений эндотелия кровеносных капилляров миокарда при тяжелых формах COVID-19 с развитием летальных исходов, актуальна, научно обоснована и является одной из важных проблем, изучаемых в рамках специальностей 3.3.2. патологическая анатомия, 1.5.22. клеточная биология.

Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов диссертации. В работе А.Н. Ламанова обоснованность научных положений определяется адекватным планированием и проведением исследования, использованием комплексного подхода в изучении патоморфологических изменений кровеносных капилляров миокарда COVID-19. Проведен анализ данных 73 медицинских карт стационарного больного пациентов, находившихся на лечении в период с сентября 2020 по июль 2021 года в ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница №1» г. Новосибирск.» с двухсторонней вирусной полисегментарной пневмонией, вызванной в результате инфицирования вирусом SARS-CoV-2 с летальными исходами. Для световой и поляризационной микроскопии, а также иммуногистохимического исследования была сформирована основная группа, которую составили 43 трупа мужского и женского пола в возрасте от 39 до 68 лет, в среднем ($53 \pm 5,45$) лет. Группу контроля составили 15 случаев скоропостижно умерших мужчин от «острой коронарной смерти» доставленные машиной «Скорая помощи», их средний возраст составил ($47 \pm 4,5$) лет ($p < 0,05$). Для выполнения электронно-микроскопического исследования из основной группы были взяты 8 случаев, 8 случаев – из контрольной группы.

Методическая часть диссертации включает использование световой, поляризационной и электронной микроскопии, морфометрического,

иммуногистохимического исследования и статистического анализа. Выбранные методические подходы соответствуют поставленным цели и задачам работы. Достаточный объем клинических наблюдений, использование сертифицированного оборудования, применение современных методов патоморфологического анализа биоматериала, адекватная статистическая обработка результатов позволили автору получить новые данные о морфологических изменениях эндотелия кровеносных капилляров миокарда при COVID-19.

Новизна исследования, полученных результатов и выводов диссертации. В диссертационной работе А.Н. Ламанова на основании научного анализа установлено, что патоморфологические изменения миокарда при COVID-19 с летальным исходом характеризуются острыми расстройствами кровообращения, очаговыми кровоизлияниями, отеком, десквамацией и пролиферацией эндотелия кровеносных капилляров, острыми очаговыми повреждениями миокарда, и липофусцинозом кардиомиоцитов, развившимися на фоне выраженного повышения уровня С-реактивного белка, повышения тропонина I, снижении фракции выброса левого желудочка и нарушения процесса реполяризации, которые сопровождались стойкой резистентной артериальной гипотонией, несмотря на использование вазопрессорных препаратов.

Автором впервые показано, что уровень экспрессии CD31 и CD34 эндотелиоцитами кровеносных сосудов миокарда при COVID-19 с летальным исходом характеризуется статистически значимым выраженным снижением, что отражает развивающиеся нарушения межклеточного взаимодействия эндотелиоцитов, снижения барьерной функции эндотелия и его прогрессирующую дисфункцию.

Автором впервые был установлен комплекс ультраструктурных изменений эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда левого желудочка сердца, 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.

В диссертационной работе А.Н. Ламанова впервые показано инфицирование эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда вирусом SARS-CoV-2, что характеризовалось наличием вирусных частиц внутриклеточной локализации в цитоплазме клеток в двухмембранных структурах и в одномембранных клеточных вакуолях, а также располагающихся внеклеточно - в просвете кровеносных капилляров и в перикапиллярных пространствах. которое сопровождалось перестройкой клеток, Автор отмечает, что перестройку клеток следует рассматривать как следствие репликации вируса в эндотелиальных клетках.

Значимость для медицинской науки и практики полученных автором диссертации результатов. В диссертационном исследовании Ламанова А.Н. получены новые данные, расширяющие представление о повреждении эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда при COVID-19 и их возможной роли в репликации вируса SARS-CoV-2.

Установленные особенности выраженной экспрессии молекулярных маркеров (CD31 и CD34) эндотелиоцитами дополняют данные об особенностях микроциркуляторных расстройств и эндотелиальной дисфункции при COVID-19. Выявленные особенности ультраструктурных изменений эндотелиоцитов, у больных с летальными исходами от COVID-19 позволяют высказаться о инфицировании клеток вирусом SARS-CoV-2 и процессом его репликации в эндотелии кровеносных капилляров в миокарде левого желудочка и расширяют современные представления о развитии микроциркуляторных расстройств мышцы сердца.

Результаты микроскопического и иммуногистохимического исследования

могут быть использованы в практической работе патологоанатомических отделений ЛПУ и судебно-гистологических лабораторий бюро судебно-медицинской экспертизы для выявления патоморфологических изменений миокарда и повреждений эндотелия кровеносных капилляров мышцы сердца в случаях COVID-19.

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

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 РФ, а также при подготовке клинических ординаторов по специальности «Патологическая анатомия».

Оценка содержания диссертации, ее завершенности. Диссертация представляет собой завершенное исследование, изложенное на 142 страницах компьютерного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы результатов собственных исследований и обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа иллюстрирована 3 таблицами и 27 рисунками. Список литературы содержит 370 библиографических источников, в том числе 81 отечественных и 289 англоязычных.

Целью исследования явилось изучение патоморфологических изменений и молекулярных биомаркеров эндотелия кровеносных сосудов миокарда, а также ультраструктурной организацией эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда при тяжелых формах COVID-19.

Автором четко сформулированы задачи исследования, научная новизна, практическая значимость и научные положения выполненной работы.

Обзор литературы отражает актуальность проведенного исследования, степень разработанности темы, включая эпидемиологические, патогенетические аспекты развития инфекционного заболевания COVID-19, что свидетельствует о глубине знаний по данной проблеме.

Вторая глава посвящена характеристике основной и контрольной групп, последнюю возможно лучше было бы обозначить группой клинического контроля, т.к. в нее вошли умершие подвергнутые судебно-медицинскому исследованию и с заключением после него острая коронарная смерть. Используемые в исследовании методы, в целом соответствуют поставленным задачам. Применение современных методов статистической обработки данных с использованием пакета прикладных компьютерных программ обуславливает достоверность полученных в диссертационном исследовании результатов.

Результаты собственных исследований изложены в третьей главе с подробным описанием и наглядными иллюстрациями в виде таблиц и рисунков. Автор анализирует данные медицинских карт пациентов, умерших от COVID-19. Патоморфологическое исследование миокарда, выполненное с помощью световой и поляризационной микроскопии, иллюстрировано микрофотографиями отличного качества, как и электронограммы, демонстрирующие комплекс ультраструктурных изменений эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда левого желудочка сердца, умерших от новой короновирусной инфекции. Следует отметить, что гистологическое и иммуногистохимическое исследования проведены с адекватной статистической обработкой и выявлением корреляций. Применение метода электронной микроскопии позволило автору выявить не только качественное изменение внутренних структур

эндотелиоцитов, т.е. состояние митохондрий, аппарата Гольджи, транспортные везикулы и т.д., но и провести расширенную морфометрию исследуемых структур и получить весомые результаты. В частности, по изменению транспортных характеристик, отражающих основную функциональную работу эндотелиоцитов. Обсуждение результатов представлено непосредственно после описания полученных данных и в нем полностью обобщены и интерпретированы полученные результаты. Автор обоснованно сопоставляет результаты собственного исследования с литературными данными.

Сформулированные в диссертационной работе А. Н. Ламанова выводы и практические рекомендации отражают полученные результаты, основные положения и являются логичным завершением выполненного диссертационного исследования.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, мнение о научной работе соискателя в целом. Диссертация А.Н. Ламанова является самостоятельным и законченным научным исследованием. Принципиальных замечаний к тексту диссертации нет.

По диссертации в порядке дискуссии к автору возникли следующие вопросы:

1. На какие клинические критерии тяжелых форм COVID-19 вы ориентировались при выполнении работы?
2. Выявленные патоморфологические изменения миокарда являются характерными для новой короновиральной инфекции?
3. Рассмотренные Вами критерии идентификации вируса, предложены Вами или заимствованы из литературы?
4. Идентификацию вируса вы проводили по сравнению с литературными данными или использовали в своей работе инфицированную культуру клеток Vero E6?
5. Выявлялись ли сохраненные некротизированные эндотелиоциты в

капиллярах, т.к. десквамация их вами была зафиксирована и если они были, то по какому типу протекал этот процесс?

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 5 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендуемых ВАК РФ для публикаций основных положений диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук; из них 3 статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования (Scopus, Web of Science). Автореферат в целом отражает содержание диссертационной работы.

Заключение. Диссертационная работа Ламанова Алексея Николаевича на тему «Морфологические изменения эндотелия кровеносных капилляров миокарда при COVID-19», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Сергея Владимировича Савченко и доктора медицинских наук, Бориса Исаевича Айзиковича, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.2. патологическая анатомия и 1.5.22. клеточная биология (медицинские науки), является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи – изучены особенности патоморфологических и ультраструктурных изменений эндотелия кровеносных капилляров миокарда левого желудочка сердца при COVID-19, что имеет большое значение для медицины (патологической анатомии и клеточной биологии).

По актуальности, научной новизне, методическому уровню, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте изложения материалов работы в рецензируемых научных изданиях научно-квалификационная работа Алексея Николаевича Ламанова соответствует требованиям п. 9

«Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года «О порядке присуждения ученых степеней» (с изменениями в соответствии с Постановлением Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г. «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.2. патологическая анатомия, 1.5.22. клеточная биология.

Официальный оппонент:

Врач-патологоанатом патологоанатомического
отделения ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр имени академика Е. Н.
Мешалкина» г. Новосибирск; доктор
медицинских наук (специальность 3.3.2 –
патологическая анатомия)

Телефон: 8-913-914-09-98

e-mail: a_volkov@meshalkin.ru

Волков Александр Михайлович

630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15, ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр им. академика Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, тел.: +7(383)347-60-66,
mail@meshalkin.ru

Подпись доктора медицинских наук Волкова Александра Михайловича заверяю:

Заместитель генерального директора
ФГБУ «НМИЦ
им. академика Е.Н. Мешалкина»,
Минздрава России по научной работе,
доктор медицинских наук

Александр Борисович Романов

«31» октября 2024г.

