

## Поражение миокарда у пациентов с COVID-19: серия аутопсийных случаев

Ю.А. Ермола, А.А. Галышевская, А.А. Давыдова,  
А.А. Бекетов, Т.П. Макалиш, М.А. Кривенцов

ФГАОУ ВО Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», Симферополь, Россия

**Резюме.** *Введение.* Морфологические данные о повреждении сердца при тяжелом течении инфекции, вызванной SARS-CoV-2, ограничены. Хотя клинико-морфологические паттерны поражения сердца при данной инфекции описаны и включают ишемическое поражение миокарда, в том числе острый коронарный синдром и острый миокардит, преобладающие типы повреждения и его последствия до сих пор остаются предметом дискуссий. Цель исследования – оценка морфологических особенностей поражения миокарда у пациентов с COVID-19 с использованием описательного гистологического анализа, а также иммуногистохимического метода (CD45) для подтверждения воспалительной инфильтрации миокарда.

*Материалы и методы.* В исследовании с использованием описательного гистологического и иммуногистохимического методов проведен анализ образцов миокарда левого желудочка, полученных во время посмертного патологоанатомического исследования 48 пациентов в критическом состоянии с COVID-19, скончавшихся от пневмонии, ассоциированной с SARS-CoV-2.

*Результаты.* Выявлены несколько гистопатологических паттернов COVID-19-ассоциированного поражения миокарда, включая явления выраженного ишемического повреждения миокарда (25% случаев), и изменения воспалительного характера, расценивающиеся в качестве пограничного миокардита (18,75% случаев). Как другие значимые изменения в миокарде выступали явления тромбоза сосудов микроциркуляторного русла.

*Заключение.* Полученные результаты представляют интерес для дальнейшего изучения поражений сердечно-сосудистой системы при COVID-19 и могут способствовать разработке новых стратегий ведения пациентов с тяжелым течением COVID-19.

**Ключевые слова:** SARS-CoV-2, сердце, ишемия, миокардит

**Для корреспонденции:** Максим Андреевич Кривенцов. E-mail: maksimkgmu@mail.ru

**Для цитирования:** Ермола Ю.А., Галышевская А.А., Давыдова А.А., Бекетов А.А., Макалиш Т.П., Кривенцов М.А. Поражение миокарда у пациентов с COVID-19: серия аутопсийных случаев. Клиническая и экспериментальная морфология. 2022;11(4):59–69. DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.59-69.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, программа «Приоритет-2030», № 075-15-2021-1323.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 18.08.2022. Получена после рецензирования 12.09.2022. Принята в печать 15.09.2022.

## Myocardial lesions in patients with COVID-19: autopsy case series

Yu.A. Yermola, A.A. Galyshevskaya, A.A. Davydova,  
A.A. Beketov, T.P. Makalish, M.A. Kriventsov

V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, Simferopol, Russia

**Abstract.** *Introduction.* Morphological data on SARS-CoV-2-associated heart damage and its mechanisms are rather limited. However, clinical and morphological features of myocardial lesions in COVID-19 patients have been described and include myocardial ischemia, acute coronary syndrome, and acute myocarditis. The prevailing features of myocardial lesions and their consequences are still controversial. The aim of our research was to evaluate the morphological features of myocardial lesions in patients with severe COVID-19, using routine histological examination and immunohistochemistry (CD45) to confirm myocardial inflammatory infiltration.

*Materials and methods.* We analyzed samples of the left ventricular myocardium obtained during autopsy examination of 48 patients with severe COVID-19 who died from SARS-CoV-2-associated pneumonia. We used histological description and immunohistochemical methods.

*Results.* The results revealed several histopathological features of COVID-19-associated myocardial lesions, including acute ischemia (25% of cases) and mild inflammatory changes termed borderline myocarditis (18.75% of cases). Other significant findings in the myocardium included microcirculatory vessel thrombosis.

*Conclusion.* The study confirms the existing data on damage to myocardium in severe COVID-19. However, further studies are warranted. It may contribute to the development of new management strategies for severe COVID-19 patients.

**Keywords:** SARS-CoV-2, heart, ischemia, myocarditis

**Corresponding author:** Maxim A. Kriventsov. E-mail: maksimkgmu@mail.ru

**For citation:** Yermola Yu.A., Galyshevskaya A.A., Davydova A.A., Beketov A.A., Makalish T.P., Kriventsov M.A. Myocardial lesions in patients with COVID-19: autopsy case series. Clin. exp. morphology. 2022;11(4):59–69 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.59-69.

**Funding.** This study was carried out within the framework of the Priority 2030 program of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, No. 075-15-2021-1323.

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

**Received** 18.08.2022. **Received in revised form** 12.09.2022. **Accepted** 15.09.2022.

## Введение

Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19), начавшаяся в декабре 2019 года в городе Ухань, провинция Хубэй (Китай) [1], несмотря на широкомасштабные кампании вакцинации по всему миру, обновила антирекорды по заболеваемости и смертности в разных странах. По данным ВОЗ, общее число официально зарегистрированных случаев заражения SARS-CoV-2 составляет более 260 млн, из них более 5 млн летальных. SARS-CoV-2, так же как и SARS-CoV, имеет ряд характерных признаков, основным из которых является способность связываться с рецепторами ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2) на клеточных мембранах [2, 3], что делает возможным прямое вирусное цитопатическое повреждение различных клеток, экспрессирующих этот рецептор. И действительно, в некоторых недавних исследованиях с использованием методов электронной микроскопии и иммуногистохимии было показано, что вирус оказывает прямое повреждающее действие на многие органы и ткани, включая сердце [4, 5].

Клинико-морфологические паттерны повреждения сердца включают в себя в основном острое ишемическое повреждение миокарда и острый лимфоцитарный миокардит. Прогрессирующая сердечная недостаточность и кардиогенный шок наблюдаются вплоть до 10% случаев среди всех пациентов с COVID-19 и до 41% случаев при тяжелом течении инфекции [6, 7]. Тем не менее доступная информация о повреждении сердца при COVID-19 часто противоречива в отношении преобладающих морфологических паттернов и их исхода. Невьясненной остается и распространенность SARS-CoV-2-ассоциированного миокардита в разных субпопуляциях, таких как пожилые люди или пациенты с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями. На основании изменений со стороны ЭКГ, повышения уровня тропонина в сыворотке крови и данных

магнитно-резонансной томографии сердца в нескольких клинических случаях у пациентов с COVID-19 был описан острый вирусный миокардит [8–11]. Вместе с тем для подтверждения диагноза миокардита необходимо патоморфологическое обнаружение лимфоцитарной и/или макрофагальной (CD3<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> клеток) воспалительной инфильтрации с поражением кардиомиоцитов (острый миокардит) или без такового (пограничный миокардит) [12, 13]. По данным посмертного исследования 21 пациента, умершего от COVID-19, лимфоцитарный миокардит был подтвержден в 14% случаев [14], в то время как в рамках другого аналогичного исследования, включавшего также 21 случай, миокардит выявлен не был [15]. По данным исследований на основании изучения аутопсийных материалов, полученных от пациентов с тяжелой SARS-CoV-2-ассоциированной инфекцией [16, 17], частота миокардита у пациентов с COVID-19 варьирует в пределах от 4,5% до 7%. Большая часть имеющихся данных о миокардите при COVID-19 основана на клиническом наблюдении без патоморфологического подтверждения или на описании ограниченного, относительно небольшого числа патологоанатомических случаев.

При рассмотрении вопросов вовлечения миокарда в патологический процесс при COVID-19 следует учитывать ряд различных потенциальных механизмов, в том числе (1) прямой и непрямой вирусопосредованный цитопатический эффект; (2) повреждение эндотелия; (3) воспаление, в том числе в качестве проявления системной воспалительной реакции; (4) системные эффекты, опосредованные ренин-ангиотензин-альдостероновой системой [18]. Также необходимо учитывать имевшие место сопутствующие и фоновые сердечно-сосудистые заболевания, эндокринные и метаболические нарушения.

Несмотря на некоторую неопределенность в отношении преобладающих паттернов поражения сердца

на фоне COVID-19, применительно к разным популяциям пациентов было предложено несколько патогенетических механизмов повреждения миокарда, связанного с SARS-CoV-2. Во-первых, на этапе проникновения вируса в клетки-мишени ключевую роль играет взаимодействие вируса SARS-CoV-2 с рецептором ACE2, который экспрессируется, в том числе, в тканях легких и сердца. Рецептор ACE2, расположенный на мембранах перитцитов, эндотелия сосудов, гладкомышечных клеток, фибробластов и кардиомиоцитов [19], обеспечивает проникновение вируса с развитием цитопатического эффекта и воспалительного ответа [20]. Вторым механизмом повреждения миокарда является высокий уровень провоспалительных цитокинов [21]. У пациентов с тяжелым течением COVID-19 обнаруживаются повышенные уровни гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GM-CSF), интерферониндуцируемого белка-10 (IP-10), моноцитарного хемоаттрактантного белка (MCP-1) и фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) в плазме крови, что указывает на взаимосвязь между уровнем цитокинов и тяжестью течения заболевания [22]. Этот иммунный дисбаланс представляет собой важный механизм повреждения миокарда и развития в последующем полиорганной недостаточности. Еще одним механизмом повреждения миокарда является ишемия. Повышенное потребление кислорода миокардом из-за системной инфекции в сочетании с нарастающей гипоксией из-за дыхательной недостаточности приводит к ишемизации миокарда, наиболее заметной при наличии предшествующих хронических сердечно-сосудистых заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца и сердечная недостаточность [23]. Кроме того, потенциальной кардиотоксичностью обладают и используемые для лечения COVID-19 лекарственные препараты, такие как лопинавир или дексаметазон [24]. Еще одним патогенетическим фактором, усугубляющим повреждение миокарда, может быть нарушение коагуляции вследствие системного повреждения эндотелия с развитием тромбозов и кровоизлияний [25]. Таким образом, патогенез поражения миокарда на фоне SARS-CoV-2-ассоциированной инфекции сложен и может включать множество факторов.

Целью данного описания серии случаев является предоставление дополнительной информации о распространенных гистопатологических типах поражения миокарда у пациентов в критическом состоянии с COVID-19, для лучшего понимания патологического процесса, дальнейшего прогнозирования лечебной тактики, определения критериев тяжести заболевания, раннего выявления осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы и поиска эффективных методов профилактики, лечения и реабилитации таких пациентов.

### Материалы и методы

Исследование проведено с использованием образцов миокарда левого желудочка, взятых в рамках стандартного посмертного патоморфологического

исследования 48 пациентов, скончавшихся от SARS-CoV-2-ассоциированной пневмонии. Взятие материала осуществлялось, исходя из макроскопических изменений в миокарде левого желудочка, если таковые имели место. Согласно действующим рекомендациям по контролю и профилактике новой коронавирусной инфекции, диагноз у всех пациентов был подтвержден на основании комплекса анализов методом ПЦР на РНК вируса SARS-CoV-2, результатов рентгенологического исследования органов грудной клетки и клинической картины. Все пациенты на момент смерти находились в отделении реанимации. Патологоанатомические исследования и взятие образцов осуществлялись в период с февраля по май 2021 года. Данное исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и одобрено локальным комитетом по биоэтике (№ А16-116072810135-5 от 20 января 2021 года). Патологоанатомические вскрытия проводились в рамках общепринятой медицинской практики, регламентированной Федеральным законом от 21.11.2011 № 323-ФЗ (в редакции от 02.07.2021), что исключает необходимость получения информированного согласия пациентов при жизни или их родственников после смерти пациента, без нарушения прав умерших пациентов или их ближайших родственников. Все персональные данные умерших пациентов были обезличены.

Фрагменты миокарда левого желудочка фиксировали в нейтральном забуференном 10% формалине в течение 24–48 часов с последующей гистологической обработкой с использованием гибридного гистологического процессора Logos (Milestone Medical, Италия) и модуля Leica EG1150 (Leica Biosystems, Германия). Гистологические срезы (~4 мкм) были получены из фиксированных в 10% формалине и залитых в парафин блоков с использованием автоматического ротационного микротомы Leica RM2255 (Leica Biosystems, Германия) и окрашены гематоксилином и эозином для проведения описательного гистологического анализа.

Для подтверждения наличия клеток воспалительного инфильтрата проводили иммуногистохимическое окрашивание (CD45). Окрашивание осуществляли с использованием полуавтоматического иммуногистохимического BondMax (Leica Biosystems, Германия). Протокол окрашивания включал депарафинизацию, демаскирование антигена с использованием раствора Bond Epitope Retrieval 2 (Leica Biosystems, Германия), pH 9, в течение 20 минут при температуре +96°C, блокирование пероксидазной активности, инкубацию с антителом в течение 15 минут при комнатной температуре и визуализацию с помощью системы Bond Polymer Refine Detection (Leica Biosystems, Германия). Использовали мышинные моноклональные антитела IgG к CD45 (X16/99, RTU, Leica Biosystems, Великобритания). Для лучшей визуализации осуществляли докрасивание ядер гематоксилином по стандартной методике. Гистологические препараты сканировали с помощью сканера микропрепаратов Aperio CS2 (Leica Biosystems,

Германия) с последующим анализом цифровых изображений с использованием программного обеспечения Aperio ImageScope (Leica Biosystems, Германия).

В соответствии с диагностическими критериями [26, 27], дополненными иммуногистохимической реакцией на CD45<sup>+</sup> клетки [28], миокардит диагностировали при наличии воспалительной инфильтрации (более 14 CD45<sup>+</sup> клеток на 1 мм<sup>2</sup>), не связанной с типичным ишемическим поражением миокарда, при условии некробиотических изменений со стороны кардиомиоцитов. Количественные данные в тексте, относящиеся к количеству клеток CD45<sup>+</sup> на 1 мм<sup>2</sup> (1 000 000 мкм<sup>2</sup>), представлены в виде медианы и диапазона значений (мин; макс). Клетки CD45<sup>+</sup> подсчитывали в одном наиболее репрезентативном поле (1 мм<sup>2</sup>) на каждый случай с последующим расчетом обобщенного медианного значения. Поскольку CD45 использовался для подтверждения миокардита, количественные данные представлены только для случаев с подозрением на миокардит при проведении описательного гистологического анализа.

## Результаты

Из 48 пациентов, скончавшихся от осложнений COVID-19, было 18 мужчин (37,5%) и 30 женщин (62,5%). Средний возраст составил 76 лет (диапазон от 39 до 95 лет). Все пациенты находились на лечении в отделении интенсивной терапии и получали респираторную поддержку. Во всех случаях диагноз ассоциированной с SARS-CoV-2 инфекции был подтвержден повторными положительными ПЦР-тестами на вирусную РНК, а также клинико-рентгенологическими данными с характерным диффузным двусторонним поражением легких. Некоторые демографические, а также анамнестические, клинические и лабораторные данные были недоступны. Данные, касающиеся возраста, пола

и клинического диагноза пациентов, включенных в исследование, обобщены в таблице.

Во всех случаях в качестве основного диагноза выступала новая коронавирусная инфекция (COVID-19) с двусторонней пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2 и острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС). Наиболее частыми сопутствующими заболеваниями были ишемическая болезнь сердца (38 случаев; 79,2%), сердечная недостаточность (33 случая; 68,7%), артериальная гипертензия (22 случая; 45,8%), нарушение толерантности к глюкозе/сахарный диабет 2-го типа (восемь случаев; 16,7%), нарушения сердечного ритма (пять случаев; 10,4%) и ожирение (четыре случая; 8,3%). Другие сопутствующие патологические состояния включали мочекаменную болезнь (три случая; 6,25%), хронический пиелонефрит, хронический панкреатит, ревматоидный артрит, язвенную болезнь, ВИЧ-инфекцию, рак предстательной железы и легкого (по одному случаю; 2,1%).

Посмертные образцы миокарда характеризовались отсутствием аутолитических изменений при сохранении в целом гистоархитектоники миокарда. В большинстве проанализированных случаев выявлены диффузный кардиосклероз (35 случаев, 72,9%) и компенсаторная гипертрофия кардиомиоцитов (38 случаев, 79,1%), которая была связана с имеющейся сопутствующей сердечно-сосудистой патологией. Аналогичным образом, учитывая возрастную группу выборки, в большинстве случаев выявлялись старческие или возрастные изменения кардиомиоцитов с внутриклеточным накоплением гранул липофусцина. Во всех случаях определялись разной степени дегенеративные изменения со стороны сократительных кардиомиоцитов. Миофибриллы характеризовались диссоциацией и приобретали волнообразный ход.

Таблица | Table

Основные характеристики пациентов, включенных в исследование |  
Basic characteristics of the studied patients

№ случая   Case No.	Пол   Sex	Возраст, лет   Age, years	Сопутствующие заболевания   Concomitant diseases
1	Ж   F	76	Аритмия (мерцательная аритмия), АГ, СН   Arrhythmia (atrial fibrillation), АН, HF
2	Ж   F	72	Аритмия (мерцательная аритмия), ИБС, АГ, СН, НТГ   Arrhythmia (atrial fibrillation), CAD, АН, HF, IGT
3	Ж   F	69	ИБС, АГ, СН, НТГ   CAD, АН, HF, IGT
4	М   M	95	ИБС, АГ, СН   CAD, АН, HF
5	Ж   F	58	ИБС, хронический пиелонефрит, ВИЧ-инфекция   CAD, chronic pyelonephritis, HIV
6	Ж   F	73	ИБС, АГ, СН, ожирение   CAD, АН, HF, obesity
7	Ж   F	79	Аритмия (мерцательная аритмия), ИБС, АГ, СН, СД 2-го типа   Arrhythmia (atrial fibrillation), CAD, АН, HF, type 2 DM
8	М   M	83	ИБС, АГ, СН   CAD, АН, HF
9	М   M	75	Аритмия (мерцательная аритмия, полная блокада левой ножки пучка Гиса), СН   Arrhythmia (atrial fibrillation, complete left bundle branch block), HF
10	М   M	72	ИБС, АГ   CAD, АН

Окончание таблицы | End of table

№ случая   Case No.	Пол   Sex	Возраст, лет   Age, years	Сопутствующие заболевания   Concomitant diseases
11	М   М	83	Рак предстательной железы   Prostate cancer
12	Ж   F	85	Аритмия (мерцательная аритмия), ИБС, АГ, СН, СД 2-го типа   Arrhythmia (atrial fibrillation), CAD, AH, HF, type 2 DM
13	Ж   F	86	ИБС, АГ, СН, СД 2-го типа   CAD, AH, HF, type 2 DM
14	М   М	64	ИБС, СН   CAD, HF
15	Ж   F	60	ИБС, СН   CAD, HF
16	М   М	75	ИБС   CAD
17	Ж   F	73	АГ   АН
18	М   М	72	ИБС, АГ, СН   CAD, AH, HF
19	Ж   F	70	ИБС, СН   CAD, HF
20	Ж   F	90	ИБС   CAD
21	Ж   F	87	ИБС, СН   CAD, HF
22	М   М	39	СН, хронический панкреатит, новообразование легких   HF, chronic pancreatitis, lung neoplasm
23	Ж   F	90	ИБС, СН   CAD, HF
24	М   М	84	ИБС, АГ, СН   CAD, AH, HF
25	М   М	77	ИБС   CAD
26	Ж   F	89	ИБС, АГ, СН   CAD, AH, HF
27	М   М	60	АГ, СН   АН, HF
28	М   М	60	ИБС   CAD
29	Ж   F	87	ИБС, АГ, СН   CAD, AH, HF
30	М   М	43	ИБС   CAD
31	Ж   F	80	ИБС, СН   CAD, HF
32	Ж   F	80	ИБС, СН   CAD, HF
33	Ж   F	82	ИБС, АГ, СН   CAD, AH, HF
34	Ж   F	83	АГ, СД 2-го типа, ревматоидный артрит   АН, type 2 DM, rheumatoid arthritis
35	Ж   F	72	ИБС, АГ, СН   CAD, AH, HF
36	Ж   F	88	ИБС, СН   CAD, HF
37	Ж   F	62	ИБС, гипертрофия миокарда левого желудочка, ожирение   CAD, left ventricular myocardial hypertrophy, obesity
38	Ж   F	76	ИБС, АГ, СН   CAD, AH, HF
39	Ж   F	74	ИБС, СН, ожирение   CAD, HF, obesity
40	Ж   F	82	ИБС, СН, СД 2-го типа   CAD, HF, type 2 DM
41	М   М	85	ИБС   CAD
42	М   М	60	ИБС, СН   CAD, HF
43	Ж   F	85	ИБС, СН   CAD, HF
44	Ж   F	83	ИБС, АГ, СН   CAD, AH, HF
45	М   М	83	ИБС, СН, ожирение, язвенная болезнь   CAD, HF, obesity, peptic ulcer
46	М   М	76	ИБС, СД 2-го типа   CAD, type 2 DM
47	Ж   F	64	ИБС, СН   CAD, HF
48	Ж   F	70	ИБС, АГ   CAD, AH

ИБС – ишемическая болезнь сердца; АГ – артериальная гипертензия/гипертоническая болезнь; СН – сердечная недостаточность; СД – сахарный диабет; НТГ – нарушение толерантности к глюкозе; ВИЧ – вирус иммунодефицита человека  
 CAD – coronary artery disease; AH – arterial hypertension/essential hypertension; HF – heart failure; DM – diabetes mellitus; IGT – impaired glucose tolerance; HIV – human immunodeficiency virus



Кардиомиоциты имели признаки вакуолизации цитоплазмы с распадом отдельных участков миофибрилл.

В 12 из 48 случаев (25%) выявлено острое ишемическое поражение миокарда, в том числе в двух случаях – обширный ишемический инфаркт миокарда

да с периферической геморрагической зоной. Случаи очаговой ишемии представлены множеством мелких очагов с выраженной деструкцией кардиомиоцитов с гиперхромными ядрами, распадом и лизисом миофибрилл (рис. 1). В семи случаях (14,6%) выявлены

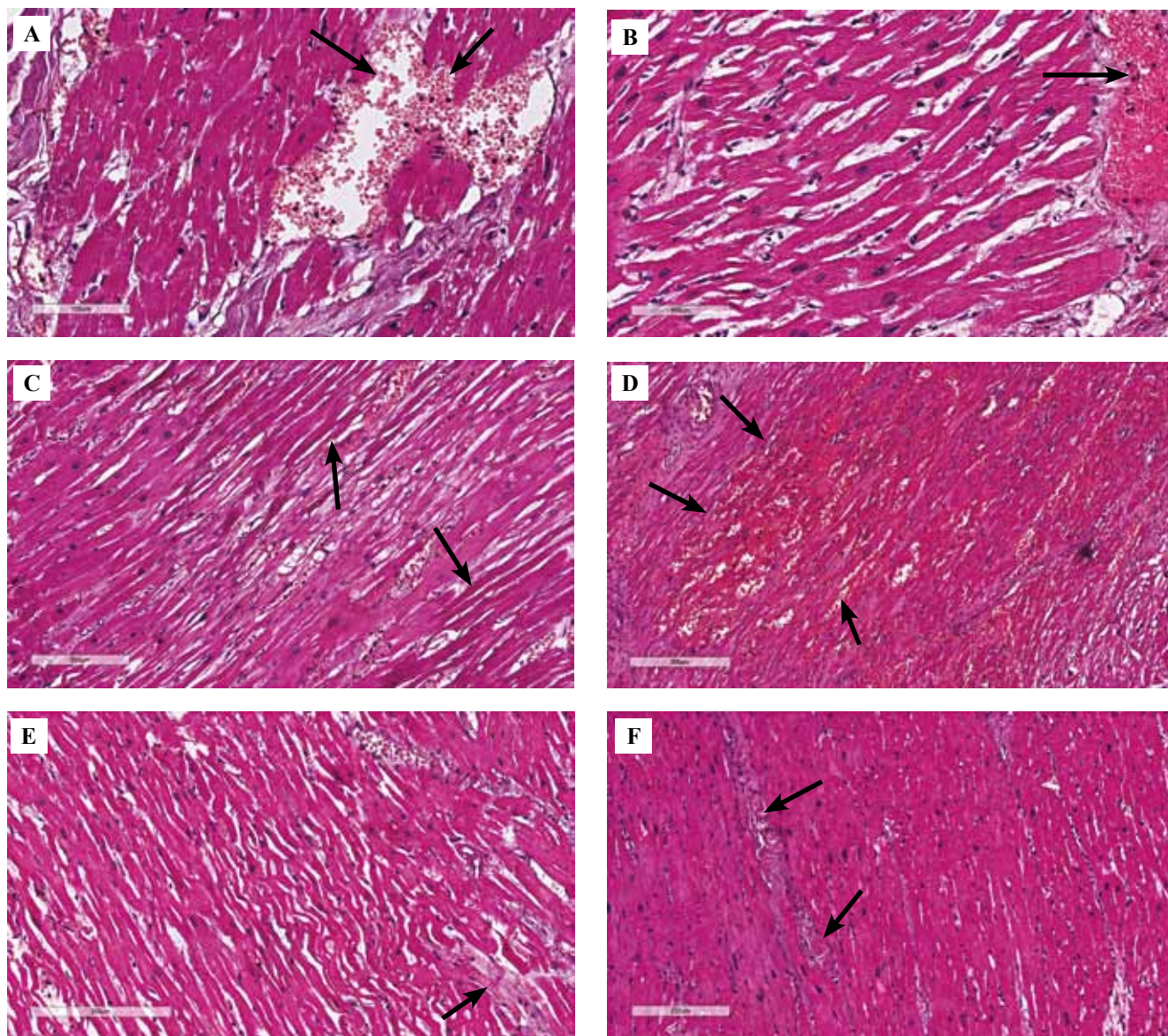


Рис. 1. Микроскопические характеристики миокарда у пациентов с COVID-19.

А – кардиосклероз и дегенеративные изменения кардиомиоцитов на фоне мелкоочагового кровоизлияния (стрелки). Случай № 42. В – гипертрофированные кардиомиоциты и интерстициальный отек; полнокровный кровеносный сосуд (стрелка). Случай № 5. С – очаговая зона ишемического повреждения кардиомиоцитов с литическими изменениями (стрелки). Случай № 24. D – инфаркт миокарда с зоной кровоизлияния (стрелки). Случай № 32. E – волнообразный ход пучков кардиомиоцитов с дегенеративными изменениями на фоне тромбоза микроциркуляторного русла (стрелка). Случай № 28. F – тромбоз сосудов микроциркуляторного русла (стрелки) с выраженными очаговыми ишемическими некробиотическими изменениями кардиомиоцитов. Случай № 17. A–F – окраска гематоксилином и эозином, A, B, E, F – масштабная линейка 100 мкм, C – 200 мкм, D – 300 мкм

Fig. 1. Microscopic features of the myocardium in patients with COVID-19.

A – cardioclerosis and degenerative changes in cardiomyocytes on the background of mild focal hemorrhage (arrows). Case No. 42. B – hypertrophic cardiomyocytes and interstitial edema; plethoric blood vessel (arrow). Case No. 5. C – focal zone of ischemic necrosis of cardiomyocytes with lytic changes (arrows). Case No. 24. D – myocardial infarction with hemorrhage (arrows). Case No. 32. E – wavy appearance of cardiomyocyte bundles with degenerative changes on the background of microvascular thrombosis (arrow). Case No. 28. F – well defined microvascular thrombosis (arrows) with prominent focal ischemic necrotic changes in cardiomyocytes. Case No. 17. A–F – H&E stain, A, B, E, F – scale bar 100  $\mu$ m, C – 200  $\mu$ m, D – 300  $\mu$ m



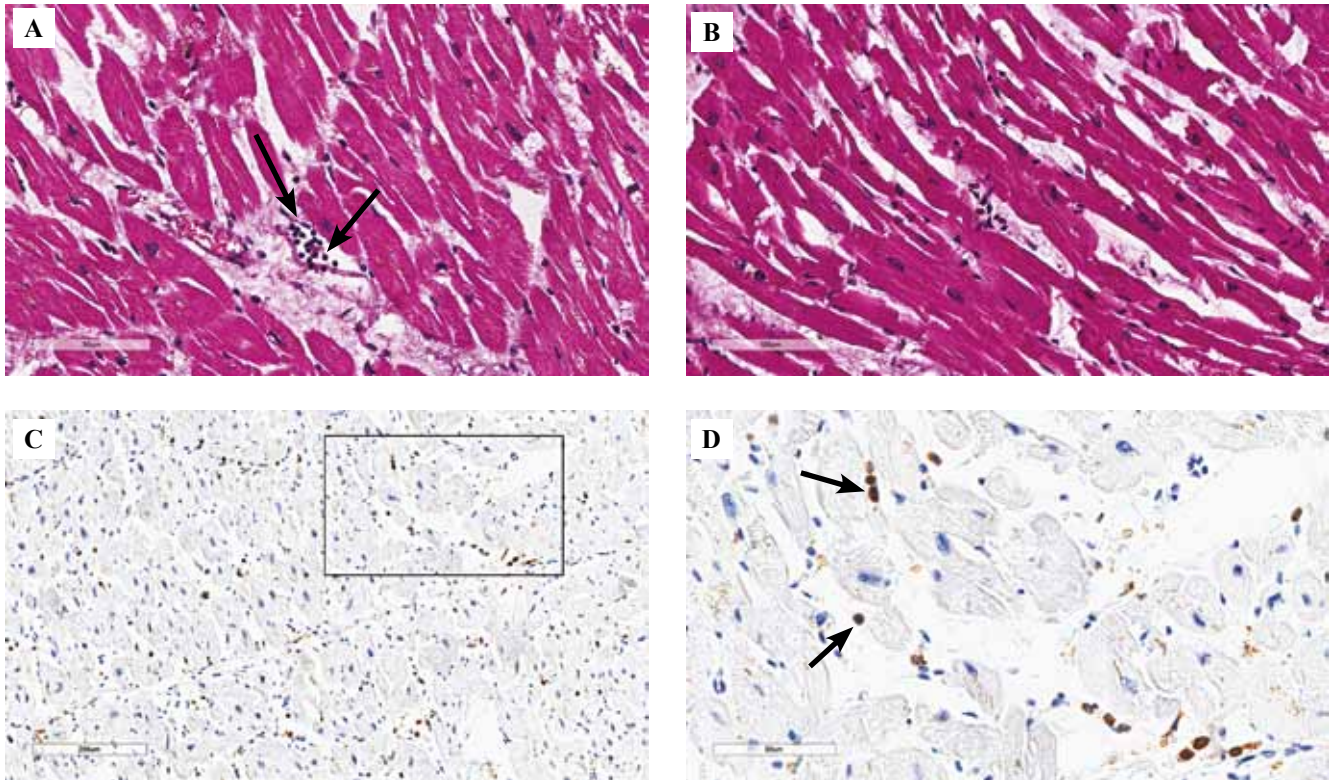


Рис. 2. Воспалительный инфильтрат в миокарде пациентов с COVID-19.

А – очаговая периваскулярная воспалительная лимфоцитарная инфильтрация (стрелки). Случай № 45.

В – интерстициальный отек и незначительная диффузная воспалительная инфильтрация за счет лимфоцитов, гистиоцитов и плазматических клеток. Случай № 49. С – незначительная диффузная инфильтрация CD45<sup>+</sup> клеток. Случай № 48. D – большее увеличение того же гистологического препарата с типичной морфологией CD45<sup>+</sup> клеток (стрелки) в непосредственном контакте с сарколеммой сократительных кардиомиоцитов. Случай № 48. А, В – окраска гематоксилином и эозином, А – масштабная линейка 90 мкм, В – масштабная линейка 100 мкм. С, D – ИГХ окрашивание с антителами к CD45. С – масштабная линейка 200 мкм, D – 80 мкм

Fig. 2. Inflammatory myocardial infiltrates in COVID-19 patients.

A – focal extravascular inflammatory infiltration due to accumulated lymphocytes (arrows). Case No. 45. B – interstitial edema and diffuse mild inflammatory infiltration by lymphocytes, histiocytes, and plasma cells. Case No. 49. C – diffuse mild infiltration with CD45<sup>+</sup> cells. Case No. 48. D – higher magnification of the same histological slide with typical lymphocytic morphology of CD45<sup>+</sup> cells (arrows) in direct contact with the sarcolemma of contractile cardiomyocytes. Case No. 48.

A, B – H&E stain, A – scale bar 90  $\mu$ m, B – 100  $\mu$ m. C, D – IHC assay with antibodies to CD45. C – 200  $\mu$ m, D – 80  $\mu$ m

признаки тромбоза сосудов микроциркуляторного русла, сопровождающегося некрозом кардиомиоцитов, с нарушением целостности сосудистой стенки, повышенной проницаемостью, интерстициальным отеком и кровоизлияниями.

Признаки воспалительной реакции (за исключением случаев перифокального демаркационного воспаления в условиях ишемического некроза) выявлены в девяти случаях (18,75%). Вместе с тем ни в одном из этих случаев имеющая место лимфогистиоцитарная инфильтрация не была выраженной (рис. 2 А, В). Отмечали небольшие скопления CD45<sup>+</sup> клеток в периваскулярных пространствах или их диффузное расположение в межмышечных пространствах в непосредственном контакте с сарколеммой кардиомиоцитов (рис. 2 С, D). В большинстве случаев CD45<sup>+</sup> клетки, основываясь на типичных морфологических признаках, соответствовали макрофагам и клеткам лимфоидного ряда.

Совокупная медиана количества CD45<sup>+</sup> клеток (по данным анализа девяти из 48 случаев с подозрением на миокардит) составила 28,00 (17–36) на 1 мм<sup>2</sup>. Вместе с тем ни один из этих случаев не сопровождался выраженными некробиотическими изменениями со стороны кардиомиоцитов и не расценивался как острый лимфоцитарный миокардит. Принимая во внимание изложенное выше, такие случаи могут быть отнесены к явлениям так называемого пограничного миокардита, хотя отдельное выделение данного патологического состояния в настоящее время подвергается критике.

### Обсуждение

С начала пандемии исследования предоставили значительный объем данных о поражении сердечно-сосудистой системы, в том числе в отношении (1) венозного и артериального тромбоза, (2) явлений тромбоэмболии, (3) острого ишемического повреждения

миокарда, включая инфаркт миокарда, и (4) активного и пограничного миокардита [14, 25, 29, 30]. Хотя связь между тяжелым течением COVID-19 и повреждением миокарда считается доказанной, патогенез повреждения миокарда на фоне SARS-CoV-2-ассоциированной инфекции до конца не изучен. Остается открытым вопрос о генезе повреждения миокарда. Являются ли клиничко-морфологические проявления поражения сердца следствием острого респираторного дистресс-синдрома и системной воспалительной реакции или обусловлены преимущественно кардиотропным действием вируса? После обнаружения способности SARS-CoV-2 связываться с рецепторами ACE2 на клеточных мембранах возник закономерный вопрос: может ли вирус проникать в кардиомиоциты и вызывать цитопатический эффект? Несмотря на значительное количество исследований, однозначный ответ пока не получен. С использованием методов электронной микроскопии, иммуногистохимии и молекулярной генетики установлено наличие вирусных частиц в кардиомиоцитах, эндотелии, перичитах и клетках моноцитарного происхождения [20, 31, 32]. Тем не менее одни исследователи склонны считать, что поражение миокарда опосредовано повреждением эндотелия сосудов микроциркуляторного русла [33, 34], другие придерживаются теории вирусного повреждения кардиомиоцитов [20, 32]. Наши данные свидетельствуют о значительной доле тромбозов сосудов в микроциркуляторном русле (в 25% случаев), сопровождающихся различной степенью ишемии миокарда, что соответствует эндотелиально-опосредованному поражению сердца. Также ни в одном из проанализированных случаев не были выявлены морфологические признаки прямого цитопатического эффекта на кардиомиоциты.

Вирус SARS-CoV-2, воздействуя на клетки, экспрессирующие ACE2, по-видимому, вызывает эндотелиальную дисфункцию, играющую ключевую роль в большинстве описанных механизмов развития осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы. Эндотелиальная дисфункция запускает каскад реакций, вызывающих вазоконстрикцию и гиперкоагуляцию, которые в сочетании с системной воспалительной реакцией приводят к тромботическим осложнениям.

Поражения сердца при COVID-19 можно разделить по клиничко-морфологическим проявлениям на ишемические и воспалительные изменения. Первый тип поражения может возникать в результате повреждения микрососудов и тромбоза вследствие коагулопатии в ответ на вирусную инфекцию, системного воспаления [35], системной гипоксии и несоответствия потребности миокарда в кислороде [23]. Что касается воспалительных изменений, они могут быть связаны с проявлением системной воспалительной реакции и цитокинового шторма либо быть опосредованы прямым вирусным поражением миокарда. При этом отличить миокардит, связанный с системной воспалительной реакцией, и миокардит, вызванный цитопатическим действием

вируса SARS-CoV-2, практически не представляется возможным. Терапия кортикостероидами, используемая при тяжелой SARS-CoV-2-ассоциированной инфекции, также может маскировать патоморфологические признаки лимфоцитарного миокардита (по крайней мере, активного миокардита) [36]. Примечательно, что результаты, полученные в исследовании, подтверждают диффузное распределение клеток воспалительного инфильтрата при миокардите, ассоциированном с COVID-19. Как было показано в исследовании S.E. Fox et al., увеличение количества диффузно расположенных CD68<sup>+</sup> клеток с примесью Т-лимфоцитов и нейтрофилов в миокарде может быть характерным признаком SARS-CoV-2-ассоциированного поражения [37].

По данным разных исследователей, патогенетические механизмы, лежащие в основе острого повреждения миокарда, могут быть разнонаправлены. Миокардит, кардиомиопатия, дисфункция микроциркуляторного русла, системное воспаление и цитокиновый шторм, гипоксемия на фоне острого респираторного дистресс-синдрома могут приводить к различным патоморфологическим проявлениям в миокарде при новой коронавирусной инфекции [38]. Показано, что развитие острого ишемического поражения миокарда у пациентов с COVID-19 существенно ухудшает прогноз и является независимым предиктором летального исхода [39]. Пациенты с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями подвергаются наибольшему риску [40].

Таким образом, повреждение миокарда при SARS-CoV-2-ассоциированной инфекции может включать множество взаимосвязанных механизмов, которые в настоящее время до конца не изучены. Это диктует необходимость дальнейших исследований для понимания патогенеза и разработки более эффективных терапевтических стратегий.

## Заключение

Исследование аутопсийных образцов миокарда 48 пациентов, скончавшихся на фоне тяжелого течения COVID-19, позволило выявить ишемическое поражение миокарда (в 25% случаев), тромбоз сосудов микроциркуляторного русла (14,6%) и воспалительные изменения по типу пограничного миокардита (18,75%). Учитывая недостаточность имеющейся информации о преобладающих закономерностях поражения сердца и его последствиях, полученные результаты представляют интерес с точки зрения дальнейшего изучения поражения сердечно-сосудистой системы при COVID-19 и ведения пациентов с тяжелым течением SARS-CoV-2-ассоциированной инфекции.

## Ограничения исследования

Несмотря на достоверность полученных результатов, авторы признают наличие ряда объективных ограничений данного исследования. Эта работа была проведена на относительно небольшом количестве аутопсийных образцов (48 образцов). В исследовании не были в полной мере выполнены рекомендации Европейского общества кардиологов (ESC) по иммуногистохимическому под-



тверждению наличия CD3<sup>+</sup> и CD68<sup>+</sup> клеток (критерии Далласа); вместо этого использовали критерий количества клеток CD45<sup>+</sup> наряду с подтверждением типичной морфологии макрофагов/лимфоидных клеток. Кроме того, критерии Далласа были разработаны для диагностики миокардита на основе эндомикардиальной биопсии, а не аутопсии.

### Study Limitations

The authors acknowledge a number of objective limitations of this research. This work was carried out on a relatively small number of autopsy specimens (48 samples). The study did not fully comply with the recommendations of the European Society of Cardiology (ESC) requiring immunohistochemical CD3<sup>+</sup> and CD68<sup>+</sup> cell confirmation (Dallas criteria); instead, CD45<sup>+</sup> cell count criteria was used with confirmation of typical macrophage/lymphoid cell morphology. In addition, the Dallas criteria were developed to diagnose myocarditis in endomyocardial biopsies rather than autopsy samples.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – М.А. Кривенцов.  
Сбор и обработка материала – А.А. Галышевская, Ю.А. Ермола, Т.П. Макалиш, М.А. Кривенцов, А.А. Давыдова, А.А. Бекетов.  
Написание текста – А.А. Галышевская, Ю.А. Ермола, М.А. Кривенцов.  
Редактирование – А.А. Галышевская, Ю.А. Ермола, Т.П. Макалиш, М.А. Кривенцов, А.А. Давыдова, А.А. Бекетов.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – М.А. Kriventsov.  
Collected the data and performed the analysis – А.А. Galyshevskaya, Yu.A. Yermola, T.P. Makalish, M.A. Kriventsov, A.A. Davydova, A.A. Beketov.  
Wrote the paper – А.А. Galyshevskaya, Yu.A. Yermola, M.A. Kriventsov.  
Edited the manuscript – А.А. Galyshevskaya, Yu.A. Yermola, T.P. Makalish, M.A. Kriventsov, A.A. Davydova, A.A. Beketov.

### Литература/References

1. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507–13. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
2. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271–280.e8. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
3. Ou X, Liu Y, Lei X, Li P, Mi D, Ren L et al. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat Commun*. 2020;11(1):1620. DOI: 10.1038/s41467-020-15562-9.
4. Pesaresi M, Pirani F, Tagliabracchi A, Valsecchi M, Procopio AD, Busardò FP et al. SARS-CoV-2 identification in lungs, heart and kidney specimens by transmission and scanning electron microscopy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24(9):5186–8. DOI: 10.26355/eurrev\_202005\_21217.
5. Egas D, Guadalupe JJ, Prado-Vivar B, Becerra-Wong M, Márquez S, Castillo S et al. SARS-CoV-2 detection and sequencing in heart tissue associated with myocarditis and persistent arrhythmia: A case report. *IDCases*. 2021;25:e01187. DOI: 10.1016/j.idcr.2021.e01187.
6. Italia L, Tomasoni D, Bisegna S, Pancaldi E, Stretti L, Adamo M et al. COVID-19 and heart failure: From epidemiology during the pandemic to myocardial injury, myocarditis, and heart failure sequelae. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:713560. DOI: 10.3389/fcvm.2021.713560.
7. Shaha KB, Manandhar DN, Cho JR, Adhikari A, KC MB. COVID-19 and the heart: What we have learned so far. *Postgrad Med J*. 2021;97(1152):655–66. DOI: 10.1136/postgradmedj-2020-138284.
8. Doyen D, Mocerri P, Ducreux D, Dellamonica J. Myocarditis in a patient with COVID-19: a cause of raised troponin and ECG changes. *Lancet*. 2020;395(10235):1516. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30912-0.
9. Oleszak F, Maryniak A, Botti E, Abraham C, Salifu MO, Youssef M et al. Myocarditis associated with COVID-19. *Am J Med Case Rep*. 2020;8(12):498–502. DOI: 10.12691/ajmcr-8-12-19.
10. Beaudry JT, Dietrick B, Lammert DB, Constat A, McCaw J, Hammond J et al. Fatal SARS-CoV-2 inflammatory syndrome and myocarditis in an adolescent: A case report. *Pediatr Infect Dis J*. 2021;40(2):e72–e76. DOI: 10.1097/INF.0000000000002978.
11. Luetkens JA, Isaak A, Öztürk C, Mesropyran N, Monin M, Schlabe S et al. Cardiac MRI in suspected acute COVID-19 myocarditis. *Radiol Cardiothorac Imaging*. 2021;3(2):e200628. DOI: 10.1148/ryct.2021200628.
12. Caforio AL, Pankuweit S, Arbustini E, Basso C, Gimeno-Blanes J, Felix SB et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2013;34(33):2636–48, 2648a–2648d. DOI: 10.1093/eurheartj/ehd210.
13. Basso C, Calabrese F, Angelini A, Carturan E, Thiene G. Classification and histological, immunohistochemical, and molecular diagnosis of inflammatory myocardial disease. *Heart Fail Rev*. 2013;18(6):673–81. DOI: 10.1007/s10741-012-9355-6.
14. Lindner D, Fitzek A, Bräuningner H, Aleshcheva G, Edler C, Meissner K et al. Association of cardiac infection with SARS-CoV-2 in confirmed COVID-19 autopsy cases. *JAMA Cardiol*. 2020;5(11):1281–5. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.3551.
15. Menter T, Haslbauer JD, Nienhold R, Savic S, Hopfer H, Deigendesch N et al. Postmortem examination of COVID-19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings in lungs and other organs suggesting vascular dysfunction. *Histopathology*. 2020;77(2):198–209. DOI: 10.1111/his.14134.
16. Halushka MK, VanderHeide RS. Myocarditis is rare in COVID-19 autopsies: cardiovascular findings across 277 postmortem examinations. *Cardiovasc Pathol*. 2021;50:107300. DOI: 10.1016/j.carpath.2020.107300.
17. Kawakami R, Sakamoto A, Kawai K, Gianatti A, Pellegrini D, Nasr A et al. Pathological evidence for SARS-CoV-2 as a cause of myocarditis: JACC review topic of the week. *J Am Coll Cardiol*. 2021;77(3):314–25. DOI: 10.1016/j.jacc.2020.11.031.
18. Tersalvi G, Vicenzi M, Calabretta D, Biasco L, Pedrazzini G, Winterton D. Elevated troponin in patients with coronavirus disease 2019: Possible mechanisms. *J Card Fail*. 2020;26(6):470–5. DOI: 10.1016/j.cardfail.2020.04.009.

19. Chen L, Li X, Chen M, Feng Y, Xiong C. The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2. *Cardiovasc Res.* 2020;116(6):1097–100. DOI: 10.1093/cvr/cvaa078.
20. Bailey AL, Dmytrenko O, Greenberg L, Bredemeyer AL, Ma P, Liu J et al. SARS-CoV-2 infects human engineered heart tissues and models COVID-19 myocarditis. *JACC Basic Transl Sci.* 2021;6(4):331–45. DOI: 10.1016/j.jacbs.2021.01.002.
21. Trpkov C, MacMullan P, Feuchter P, Kachra R, Heydari B, Merchant N et al. Rapid response to cytokine storm inhibition using Anakinra in a patient with COVID-19 Myocarditis. *CJC Open.* 2021;3(2):210–3. DOI: 10.1016/j.cjco.2020.10.003.
22. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine storm. *N Engl J Med.* 2020;383(23):2255–73. DOI: 10.1056/NEJMra2026131.
23. Talanas G, Dossi F, Parodi G. Type 2 myocardial infarction in patients with coronavirus disease 2019. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2021;22(7):603–5. DOI: 10.2459/JCM.0000000000001136.
24. Liu D, Zeng X, Ding Z, Lv F, Mehta JL, Wang X. Adverse cardiovascular effects of anti-COVID-19 drugs. *Front Pharmacol.* 2021;12:699949. DOI: 10.3389/fphar.2021.699949.
25. Panigada M, Bottino N, Tagliabue P, Grasselli G, Novembrino C, Chantarangkul V et al. Hypercoagulability of COVID-19 patients in Intensive Care Unit. A report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis. *J Thromb Haemost.* 2020;18(7):1738–42. DOI: 10.1111/jth.14850.
26. Aretz HT, Billingham ME, Edwards WD, Factor SM, Fallon JT, Fenoglio JJ Jr et al. Myocarditis. A histopathologic definition and classification. *Am J Cardiovasc Pathol.* 1987;1(1):3–14. PMID: 3455232.
27. Baughman KL. Diagnosis of myocarditis: Death of Dallas criteria. *Circulation.* 2006;113(4):593–5. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.589663.
28. Woudstra L, Biesbroek PS, Emmens RW, Heymans S, Juffermans LJ, van der Wal AC et al. CD45 is a more sensitive marker than CD3 to diagnose lymphocytic myocarditis in the endomyocardium. *Hum Pathol.* 2017;62:83–90. DOI: 10.1016/j.humpath.2016.11.006.
29. Katsoularis I, Fonseca-Rodríguez O, Farrington P, Lindmark K, Fors Connolly AM. Risk of acute myocardial infarction and ischaemic stroke following COVID-19 in Sweden: A self-controlled case series and matched cohort study. *Lancet.* 2021;398(10300):599–607. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00896-5.
30. Fox SE, Heide RSV. COVID-19: The heart of the matter-pathological changes and a proposed mechanism. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2021;26(3):217–24. DOI: 10.1177/1074248421995356.
31. Bulfamante GP, Perrucci GL, Falleni M, Sommariva E, Tosi D, Martinelli C et al. Evidence of SARS-CoV-2 transcriptional activity in cardiomyocytes of COVID-19 patients without clinical signs of cardiac involvement. *Biomedicines.* 2020;8(12):626. DOI: 10.3390/biomedicines8120626.
32. Nakamura Y, Katano H, Nakajima N, Sato Y, Suzuki T, Sekizuka T et al. SARS-CoV-2 is localized in cardiomyocytes: A postmortem biopsy case. *Int J Infect Dis.* 2021;111:43–6. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.08.015.
33. Maccio U, Zinkernagel AS, Shambat SM, Zeng X, Cathomas G, Ruschitzka F et al. SARS-CoV-2 leads to a small vessel endotheliitis in the heart. *EBioMedicine.* 2021;63:103182. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.103182.
34. Avolio E, Carrabba M, Milligan R, Kavanagh Williamson M, Beltrami A, Gupta K et al. 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. *Clin Sci (Lond).* 2021;135(24):2667–89. DOI: 10.1042/CS20210735.
35. Chen L, Hu W, Guo X, Zhao P, Tang J, Gu Y et al. Association of coagulation dysfunction with cardiac injury among hospitalized patients with COVID-19. *Sci Rep.* 2021;11(1):4432. DOI: 10.1038/s41598-021-83822-9.
36. Robinson PC, Morand E. Divergent effects of acute versus chronic glucocorticoids in COVID-19. *Lancet Rheumatol.* 2021;3(3):e168–e170. DOI: 10.1016/S2665-9913(21)00005-9.
37. Fox SE, Falgout L, Vander Heide RS. COVID-19 myocarditis: Quantitative analysis of the inflammatory infiltrate and a proposed mechanism. *Cardiovasc Pathol.* 2021;54:107361. DOI: 10.1016/j.carpath.2021.107361.
38. Fried JA, Ramasubbu K, Bhatt R, Topkara VK, Clerkin KJ, Horn E et al. The variety of cardiovascular presentations of COVID-19. *Circulation.* 2020;141(23):1930–6. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047164.
39. Shi S, Qin M, Shen B, Cai Y, Liu T, Yang F et al. Association of cardiac injury with mortality in hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol.* 2020;5(7):802–10. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.0950.
40. Aladağ N, Atabey RD. The role of concomitant cardiovascular diseases and cardiac biomarkers for predicting mortality in critical COVID-19 patients. *Acta Cardiol.* 2021;76(2):132–9. DOI: 10.1080/00015385.2020.1810914.

### Информация об авторах

Юлианна Аркадьевна Ермола – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

Анна Александровна Гальшешевская – ординатор кафедры патологической анатомии с секционным курсом Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

Александра Александровна Давыдова – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

Алексей Алексеевич Бекетов – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

Татьяна Павловна Макалиш – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

Максим Андреевич Кривенцов – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой патологической анатомии с секционным курсом Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

### Author information

Yulianna A. Yermola – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Pathological Anatomy Department with dissection course, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.  
<https://orcid.org/0000-0003-4474-3714>

Anna A. Galyshevskaya – Resident, Pathological Anatomy Department with dissection course, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.  
<https://orcid.org/0000-0003-4406-3540>

Alexandra A. Davydova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Pathological Anatomy Department with dissection course, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.  
<https://orcid.org/0000-0003-0843-1465>

Alexey A. Beketov – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Pathological Anatomy Department with dissection course, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.  
<https://orcid.org/0000-0002-0369-5165>

Tatyana P. Makalish – Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Central Research Laboratory, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.  
<https://orcid.org/0000-0003-1884-2620>

Maxim A. Kriventsov – Dr. Sci. (Med.), Head of the Pathological Anatomy Department with dissection course, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University  
<https://orcid.org/0000-0001-5193-4311>