

Клинико-морфологическое и молекулярно-биологическое исследование миокарда у пациентов с COVID-19

Митрофанова Л. Б.¹, Макаров И. А.¹, Рунов А. Л.^{1,2}, Вонский М. С.^{1,2}, Данилова И. А.¹, Сидорин В. С.¹, Моисева О. М.¹, Конради А. О.¹

Наличие коронавирусного миокардита остается спорным, несмотря на повышение сердечного тропонина и натрийуретического пептида у многих пациентов.

Цель. Оценить морфологические изменения миокарда у пациентов, умерших от новой коронавирусной инфекции (COVID-19), и сопоставить их с прижизненным уровнем сердечных биомаркеров.

Материал и методы. Проанализировано 420 историй болезни и 77 аутопсий умерших от COVID-19. В 15 из 77 случаев (19%) с гистологически заподозренным миокардитом выполнялось иммуногистохимическое исследование миокарда с антителами к CD3, CD45, CD8, CD68, CD34, Ang1, VWF, VEGF, HLA-DR, MHC1, C1q, VP1 энтеровирусов, а у 8 пациентов с иммуногистохимически подтвержденным миокардитом (10% от 77) — полимеразная цепная реакция на SARS-CoV-2.

Результаты. Кровоизлияния, тромбоз интрамуральных артерий, некоронарогенные некрозы, инфаркт миокарда и лимфоцитарный миокардит были выявлены в 43, 10, 17, 19 и 10% случаев, соответственно, без присутствия последовательностей генов *N* и *E* коронавируса в миокарде. Определялись дисплазия, гиперплазия и гипертрофия эндотелия сосудов, экспрессия Ang1, VWF, VEGF, MHC1, C1q, VP1 энтеровирусов в 100, 100, 87, 100, 75 и 62% случаев миокардита, соответственно. Не было выявлено значимых корреляций между воспалительными биомаркерами и миокардитом.

Заключение. Основным морфологическим проявлением COVID-19 в миокарде является так называемый эндотелиит с дисплазией и активацией эндотелиоцитов, приводящий к кровоизлияниям, тромбозу интрамуральных артерий и некрозам. Убедительные доказательства непосредственного участия коронавируса в индукции миокардита отсутствуют.

Ключевые слова: COVID-19, миокард, эндотелиит, иммуногистохимическое и молекулярно-биологическое исследование.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2020-901 от 13.11.2020).

¹ФГБУ НМИЦ им. В. А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург; ²ФГУП ВНИИМ им. Д. И. Менделеева Росстандарта, Санкт-Петербург, Россия.

Митрофанова Л. Б.* — г.н.с. НИЛ патоморфологии, д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии ИМО, ORCID: 0000-0003-0735-7822,

Макаров И. А. — врач-патологоанатом, клинический ординатор кафедры патологической анатомии ИМО, ORCID: 0000-0001-6175-8403, Рунов А. Л. — инженер 1 категории НИО государственных эталонов и стандартных образцов в области биоаналитических и медицинских измерений, ORCID: 0000-0001-9496-4414, Вонский М. С. — и.о. руководителя НИО государственных эталонов и стандартных образцов в области биоаналитических и медицинских измерений, ORCID: 0000-0003-4061-7411, Данилова И. А. — д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии ИМО, ORCID: 0000-0003-0865-5936, Сидорин В. С. — д.м.н., в.н.с. НИЛ патоморфологии нервной системы, ORCID: 0000-0001-5116-1291, Моисева О. М. — д.м.н., директор Института сердца и сосудов, руководитель, г.н.с. отдела некоронарогенных заболеваний сердца, ORCID: 0000-0002-7817-3847, Конради А. О. — член-корр. РАН, профессор, д.м.н., зам. генерального директора по научной работе, зав. НИО артериальной гипертензии, зав. кафедрой организации управления и экономики здравоохранения Института медицинского образования Центра Алмазова, ORCID: 0000-0001-8169-7812.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): lubamitr@yandex.ru

АПФ2 — ангиотензинпревращающий фермент 2 типа, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, ОТ-цПЦР — обратная транскрипция цифровой полимеразной цепной реакции, ПЦР — полимеразная цепная реакция, РНК — рибонуклеиновая кислота, COVID-19 — новая коронавирусная инфекция.

Рукопись получена 10.01.2022

Рецензия получена 09.02.2022

Принята к публикации 23.02.2022



Для цитирования: Митрофанова Л. Б., Макаров И. А., Рунов А. Л., Вонский М. С., Данилова И. А., Сидорин В. С., Моисева О. М., Конради А. О. Клинико-морфологическое и молекулярно-биологическое исследование миокарда у пациентов с COVID-19. *Российский кардиологический журнал*. 2022;27(7):4810. doi:10.15829/1560-4071-2022-4810. EDN UXSPMD

Clinical, morphological and molecular biological examination of the myocardium in COVID-19 patients

Mitrofanova L. B.¹, Makarov I. A.¹, Runov A. L.^{1,2}, Vonsky M. S.^{1,2}, Danilova I. A.¹, Sidorin V. S.¹, Moiseva O. M.¹, Conradi A. O.¹

The presence of coronavirus-associated myocarditis remains controversial despite elevations in cardiac troponin and natriuretic peptide in many patients.

Aim. To assess the morphological changes in the myocardium of patients who died due to coronavirus disease 2019 (COVID-19) and compare them with the intravital level of cardiac biomarkers.

Material and methods. A total of 420 hospital charts and 77 autopsies of those who died from COVID-19 were analyzed. In 15 of 77 cases (19%) with histologically suspected myocarditis, an immunohistochemical examination of the myocardium with antibodies to CD3, CD45, CD8, CD68, CD34, Ang1, VWF, VEGF, HLA-DR, MHC1, C1q, VP1 of enteroviruses was performed, and in 8 patients with immunohistochemically confirmed myocarditis (10%) — polymerase chain reaction for SARS-CoV-2.

Results. Hemorrhage, intramural thrombosis, necrosis of non-coronary origin, myocardial infarction and lymphocytic myocarditis were detected in 43%, 10%, 17%, 19% and 10% of cases, respectively, without coronavirus *N* and *E* gene sequences in the myocardium. Dysplasia, hyperplasia and hypertrophy of the vascular

endothelium, expression of Ang1, VWF, VEGF, MHC1, C1q, VP1 of enteroviruses were determined in 100, 100, 87, 100, 75 and 62% of cases of myocarditis, respectively. There were no significant correlations between inflammatory biomarkers and myocarditis.

Conclusion. The main morphological manifestation of COVID-19 in the myocardium is the so-called endotheliitis with dysplasia and endothelial activation, leading to hemorrhages, intramural thrombosis and necrosis. There is no convincing evidence of a direct involvement of coronavirus in myocarditis induction.

Keywords: COVID-19, myocardium, endotheliitis, immunohistochemical and molecular biological study.

Relationships and Activities. The study was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (№ 075-15-2020-901 dated November 13, 2020).

¹Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg; ²D.I. Mendeleev Institute for Metrology, St. Petersburg, Russia.

*Corresponding author: lubamitr@yandex.ru

Mitrofanova L. B.* ORCID: 0000-0003-0735-7822, Makarov I. A. ORCID: 0000-0001-6175-8403, Runov A. L. ORCID: 0000-0001-9496-4414, Vonsky M. S. ORCID: 0000-0003-4061-7411, Danilova I. A. ORCID: 0000-0003-0865-5936, Sidorin V. S. ORCID: 0000-0001-5116-1291, Moiseva O. M. ORCID: 0000-0002-7817-3847, Conradi A. O. ORCID: 0000-0001-8169-7812.

Received: 10.01.2022 Revision Received: 09.02.2022 Accepted: 23.02.2022

For citation: Mitrofanova L. B., Makarov I. A., Runov A. L., Vonsky M. S., Danilova I. A., Sidorin V. S., Moiseva O. M., Conradi A. O. Clinical, morphological and molecular biological examination of the myocardium in COVID-19 patients. *Russian Journal of Cardiology*. 2022;27(7):4810. doi:10.15829/1560-4071-2022-4810. EDN UXSPMD

С первых дней пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) появились сообщения об увеличении уровня сердечных биомаркеров (сердечно-го тропонина и натрийуретических пептидов) у госпитализированных пациентов. Со временем стало очевидным, что повреждение миокарда, оцениваемое на основании анализа биомаркеров, а именно на основании повышения концентрации сердечного тропонина, связано с тяжелым течением инфекции и неблагоприятным прогнозом [1]. В то время как ранние рекомендации различных кардиологических обществ [2, 3] предлагали ограничить тестирование сердечных биомаркеров пациентам с COVID-19 и симптомами острого коронарного синдрома или сердечной недостаточности, многие медицинские учреждения продолжали использовать биомаркеры повреждения миокарда как простой и недорогой инструмент для стратификации риска.

Частота повреждения миокарда среди госпитализированных пациентов с COVID-19 варьирует в широких пределах от 13 до 41%, что обуславливает высокую смертность от сердечно-сосудистых осложнений [4]. Тем не менее частота развития миокардитов по данным текущих публикаций по-прежнему остается весьма неопределенной [5]. При этом дифференциальный диагноз причины повышения уровня тропонина при COVID-19 не всегда очевиден. Наличие миокардита не всегда может быть подтверждено прижизненными исследованиями, даже магнитно-резонансной томографией, что делает крайне актуальным вопрос морфологической диагностики для оценки истинных механизмов поражения сердца.

Цель исследования: оценить морфологические изменения миокарда у пациентов, умерших от COVID-19, и сопоставить их с прижизненным уровнем сердечных биомаркеров.

Материал и методы

В анализ включено 420 историй болезни пациентов с COVID-19, лечившихся в ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» летом 2020г, и 77 аутопсийных исследований умерших от COVID-19 в тот же период. У всех больных вирусная инфекция была подтверждена с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в мазке из носа и зева при жизни и в тканях трахеи, бронха и легких посмертно (нативный мате-

риал). Всем пациентам была проведена компьютерная томография (на томографе Somatom Definition 128 срезов Siemens) и стандартное лабораторное обследование с оценкой клинического анализа крови, уровня С-реактивного белка, прокальцитонина, Д-димера, ферритина и тропонина I. Также проводились электрокардиографическое и эхокардиографическое исследования. Среди умерших пациентов было 34 женщины и 43 мужчины в возрасте от 41 до 90 лет. Все больные умерли от острого респираторного дистресс-синдрома на фоне двусторонней сливной вирусной бронхопневмонии на сроке от 1 до 57 сут. после госпитализации. В каждом случае забирался миокард из стенок 4 камер сердца и межжелудочковой перегородки. Проводилось традиционное гистологическое исследование миокарда с окраской гематоксилином и эозином, а в случаях выявления негнойной воспалительной инфильтрации миокарда (в 15 из 77) — иммуногистохимический анализ с антителами к CD3, CD45, CD8, CD68, CD34, Ang1, фактору фон Виллебранда (VWF), VEGF, HLA-DR, MHC1, C1q, VP1 энтеровирусов. Морфометрический анализ включал подсчет среднего количества клеток воспалительного инфильтрата на 1 мм² и оценку экспрессии HLA-DR, MHC1, C1q, Ang1, VWF и VEGF в баллах (1 — экспрессия на единичных клетках и сосудах, 2 — на 1/3 клеток, 3 — на 1/2-2/3 площади препарата, 4 — на всех исследуемых клетках).

В случаях вирусного миокардита, подтвержденных иммуногистохимическим анализом (в 8 случаях), содержание геномной рибонуклеиновой кислоты (РНК) вируса SARS-CoV-2 в образцах оценивали, используя двухшаговый метод цифровой ПЦР после обратной транскрипции (ОТ-цПЦР) в соответствии с рекомендациями CDC центра Китая для гена N и клиники Charite для гена E [6, 7]. Препараты РНК выделяли из пяти последовательных срезов FFPE блоков ткани миокарда левого желудочка, используя наборы AllPrep DNA/RNA FFPE Kit (QiaGen, 80234). Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoScientific, K1632) со специфическими праймерами и случайными олигонуклеотидами. Реакцию цифровой капельной ПЦР проводили с использованием смеси ddPCR Supermix for Probes (Bio-Rad, #1863026). В качестве положительного

Таблица 1

**Клинические и лабораторные показатели пациентов с COVID-19
и у пациентов с подтвержденным иммуногистохимическим диагнозом миокардита**

	Все пациенты	Умершие	Выписанные	Пациенты с миокардитом
Средний возраст (лет)	66,7±1,1	71,1±1,2	61,9±1,1	65,2±6,6
Средняя продолжительность госпитализации (дни)	19,0±0,9	16,7±1,2	18,7±1,3	17,6±6,7
С-реактивный белок (мг/л)	84,6±0,2	121,5±7,6	54,4±4,5	173,4±22,7
D-димер (нг/мл)	3,1±0,2	4,0±0,3	2,4±0,2	2,3±0,8
Тропонин (нг/мл)	3,6±0,5	3,8±0,5	3,9±0,6	1,9±0,6
Ферритин (мкг/л)	940,2±63,9	1361,1±83,9	608,9±39,7	1473±138
Прокальцитонин (нг/мл)	3,2±0,4	4,6±0,5	2,6±0,4	1,8±0,6
Лимфоциты (x10 ⁹ /л)	1,7±0,1	2,0±0,2	1,6±0,1	0,7±0,4
Поражения легких при КТ при поступлении (в %)	44,7±2,0	52,0±2,1	40,8±1,8	71,1±12,3
Средняя ФВ ЛЖ при поступлении (в %)	53,1±1,0	52,8±1,1	53,0±1,0	52,8±8,6
SpO ₂ (в %)	92,1±1,0	88,1±0,8	92,8±0,9	89,6±2,4

Сокращения: КТ — компьютерная томография, ЛЖ — левый желудочек, ФВ — фракция выброса.

контроля выделения применяли ОТ-цПЦР мРНК гена β-актина.

Статистический анализ проводился с помощью Statistica v.10 software (StatSoft, Россия). Для нормальных распределений значимость различий в количественных характеристиках интерпретировали с использованием t-критерия Стьюдента при требуемом уровне значимости $p < 0,05$. Корреляционный анализ был выполнен с помощью U-критерия Манна-Уитни и последующей оценки достоверности с помощью таблицы критических значений U-критерия при требуемом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Средний возраст пациентов, лечившихся в Центре от коронавирусной инфекции, составил 66,7±1,1 лет, умершие пациенты были на 10 лет старше вы-

живших (табл. 1). Наиболее частыми сопутствующими заболеваниями были артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца (ИБС) и сахарный диабет.

При анализе анамнестических данных ИБС документирована у 43 умерших пациентов (56%), у 49 (64%) выявлена артериальная гипертензия, у 20 (26%) — сахарный диабет, у 9 (12%) — хроническая цереброваскулярная болезнь с острым нарушением мозгового кровообращения, у 12 (16%) — онкологические заболевания, у 3 (4%) — хроническая обструктивная болезнь легких, у 1 — хроническая ревматическая болезнь сердца (2%), у 1 (2%) — ВИЧ-инфекция. Среднее количество койко-дней у умерших пациентов было 14,7±2,5.

У умерших и выживших пациентов отмечены значимые различия по следующим показателям:

Таблица 2

Клинико-лабораторные показатели умерших пациентов с гистологическим диагнозом миокардита

	Пол, возраст	Ведущие жалобы	Лабораторные данные	Тропонин	ФВ	КТ	Сопутствующая патология	Нарушения ритма
1	М, 56	Кашель, заложенность в грудной клетке Поступил на 11-ый день от появления симптомов	Ферритин 2854 (мкг/л) СРБ 255 (мг/л) Лимфоциты 1,0 x10 ⁹ /л D-димер 4920 (нг/мл) Прокальцитонин 0,5 (нг/мл)	0,27	ЭхоКГ не проводилось	70%	ГБ Ожирение 3	ПВЛНПГ
2	Ж, 62	Кашель, одышка, заложенность в грудной клетке, аносмия Поступил на 4-ый день от появления симптомов	СРБ 50 (мг/л) Лимфоциты 0,56 x10 ⁹ /л D-димер 4900 (нг/мл) Прокальцитонин 0,072 (нг/мл)	0,39	ЭхоКГ не проводилось	90%	СД ГБ	ПВЛНПГ
3	Ж, 53	Нет из-за крайне тяжелого состояния	СРБ 178 (мг/л) Лимфоциты 2,1 x10 ⁹ /л D-димер 4070 (нг/мл) Прокальцитонин 0,38 (нг/мл)	Не измеряли	ЭхоКГ не проводилось	90%	Ожирение 3 Пневмоторакс	ЭКГ нет
4	М, 71	Сухой кашель, диарея, слабость Поступил на 4-ый день от появления симптомов	Ферритин 3175 (мкг/л) СРБ 155 (мг/л) Лимфоциты 0,6 x10 ⁹ /л D-димер 1475 (нг/мл) Прокальцитонин 0,45 (нг/мл)	1,5	47%	85%	Ожирение 3 ИБС: ПИКС ГБ СД 2 типа	Предсердная экстрасистолия

Таблица 2. Продолжение

	Пол, возраст	Ведущие жалобы	Лабораторные данные	Тропонин	ФВ	КТ	Сопутствующая патология	Нарушения ритма
5	М, 61	Одышка Тяжесть в грудной клетке	Ферритин 2000 (мкг/л) СРБ 250 (мг/л) Лимфоциты $0,7 \times 10^9/\text{л}$ D-димер 1160 (нг/мл) Прокальцитонин 0,94 (нг/мл)	0,74	ЭхоКГ не проводилось	80%	ГБ, ИБС, ХСН 2а СД 2 типа Гидронефроз справа Анемия тяжелой степени	ФП, желудочковая экстрасистолия
6	Ж, 82	Заторможена, нарушена ориентация в пространстве и времени	Ферритин 378 (мкг/л) СРБ 94 (мг/л) Лимфоциты $0,8 \times 10^9/\text{л}$ D-димер 700 (нг/мл) Прокальцитонин 0,7 (нг/мл)	2,37	30%	10%	ИБС: ПИКС ГБ, ХСН 2а Энцефалопатия смешанного генеза	Нет нарушений ритма
7	М, 55	Сухой кашель, одышка Заложенность в грудной клетке Поступил на 2-ой день от появления симптомов	Ферритин 600 (мкг/л) СРБ 76 (мг/л) Лимфоциты $0,77 \times 10^9/\text{л}$ D-димер 722 (нг/мл) Прокальцитонин 0,45 (нг/мл)	2,63	62%	50%	СД 2 типа Ожирение 3	Нет нарушений ритма
8	Ж, 86	Слабость Горечь во рту Поступила на 7-ой день от появления симптомов	Ферритин 420 (мкг/л) СРБ 280 (мг/л) Лимфоциты $0,68 \times 10^9/\text{л}$ D-димер 1280 (нг/мл) Прокальцитонин 0,43 (нг/мл)	0,03	68%	25%	ИБС, ГБ, ХСН 2б Энцефалопатия смешанного генеза	ФП
9	М, 62	Нет из-за крайне тяжелого состояния Поступил на 5-ый день от появления симптомов	-	-	ЭхоКГ не проводилось	75%	ИБС, ГБ, ХСН 2а	Нет нарушений ритма
10	М, 59	Сухой кашель, одышка Заложенность в грудной клетке Потливость Поступил на 3-ий день от появления симптомов	Ферритин 420 (мкг/л) СРБ 390 (мг/л) Лимфоциты $0,03 \times 10^9/\text{л}$ D-димер 1550 (нг/мл) Прокальцитонин 0,05 (нг/мл)	0,02	ЭхоКГ не проводилось	85%	ГБ Саркоидоз лёгких Трёхростковая цитопения	НБПНПГ
11	Ж, 82	Нет из-за крайне тяжелого состояния	Ферритин 2000 (мкг/л) СРБ 313 (мг/л) Лимфоциты $0,01 \times 10^9/\text{л}$ D-димер 1317 (нг/мл) Прокальцитонин 0,49 (нг/мл)	0,82	ЭхоКГ не проводилось	90%	ГБ, ИБС, ХСН 2а СД 2 типа ФП Анемия тяжелой степени	Нет нарушений ритма
12	М, 62	Сухой кашель Слабость	Ферритин 2000 (мкг/л) СРБ 81,4 (мг/л) Лимфоциты $1,58 \times 10^9/\text{л}$ D-димер 1470 (нг/мл) Прокальцитонин 0,42 (нг/мл)	1,21	ЭхоКГ не проводилось	70%	ГБ, ИБС, ХСН 2а	НБПНПГ
13	Ж, 68	Заторможена, нарушена ориентация в пространстве и времени	СРБ 161 (мг/л) Лимфоциты $0,57 \times 10^9/\text{л}$ D-димер 1300 (нг/мл) Прокальцитонин 0,35 (нг/мл)	0,12	ЭхоКГ не проводилось	64%	ГБ, ИБС, ХСН 2а ЦВБ Ожирение	НБПНПГ ФП
14	Ж, 59	Сухой кашель Слабость Головная боль Одышка Поступила на 12-ый день от появления симптомов	Ферритин 492 (мкг/л) СРБ 41 (мг/л) Лимфоциты $0,43 \times 10^9/\text{л}$ D-димер 3060 (нг/мл) Прокальцитонин 1,25 (нг/мл)	0,00	70%	90%	Бронхиальная астма СД ГБ	НБПНПГ ФП
15	М, 60	Сухой кашель Слабость Головная боль Одышка Поступил на 10-ый день от появления симптомов	Ферритин 2000 (мкг/л) СРБ 103 (мг/л) Лимфоциты $0,3 \times 10^9/\text{л}$ D-димер 1317 (нг/мл) Прокальцитонин 4,7 (нг/мл)	0,09	40%	92%	ОПН Нефрэктомия в анамнезе ИБС, ГБ, ХСН 2а	Нет нарушений ритма

Сокращения: ГБ — гипертоническая болезнь, ИБС — ишемическая болезнь сердца, КТ — компьютерная томография, НБПНПГ — неполная блокада правой ножки пучка Гиса, ОПН — острая почечная недостаточность, ПБПНПГ — полная блокада передне-верхнего разветвления левой ножки пучка Гиса, ПИКС — постинфарктный кардиосклероз, СД — сахарный диабет, СРБ — С-реактивный белок, ФВ — фракция выброса, ФП — фибрилляция предсердий, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, ЭКГ — электрокардиограмма, ЭхоКГ — эхокардиография, ЦВБ — цереброваскулярная болезнь.

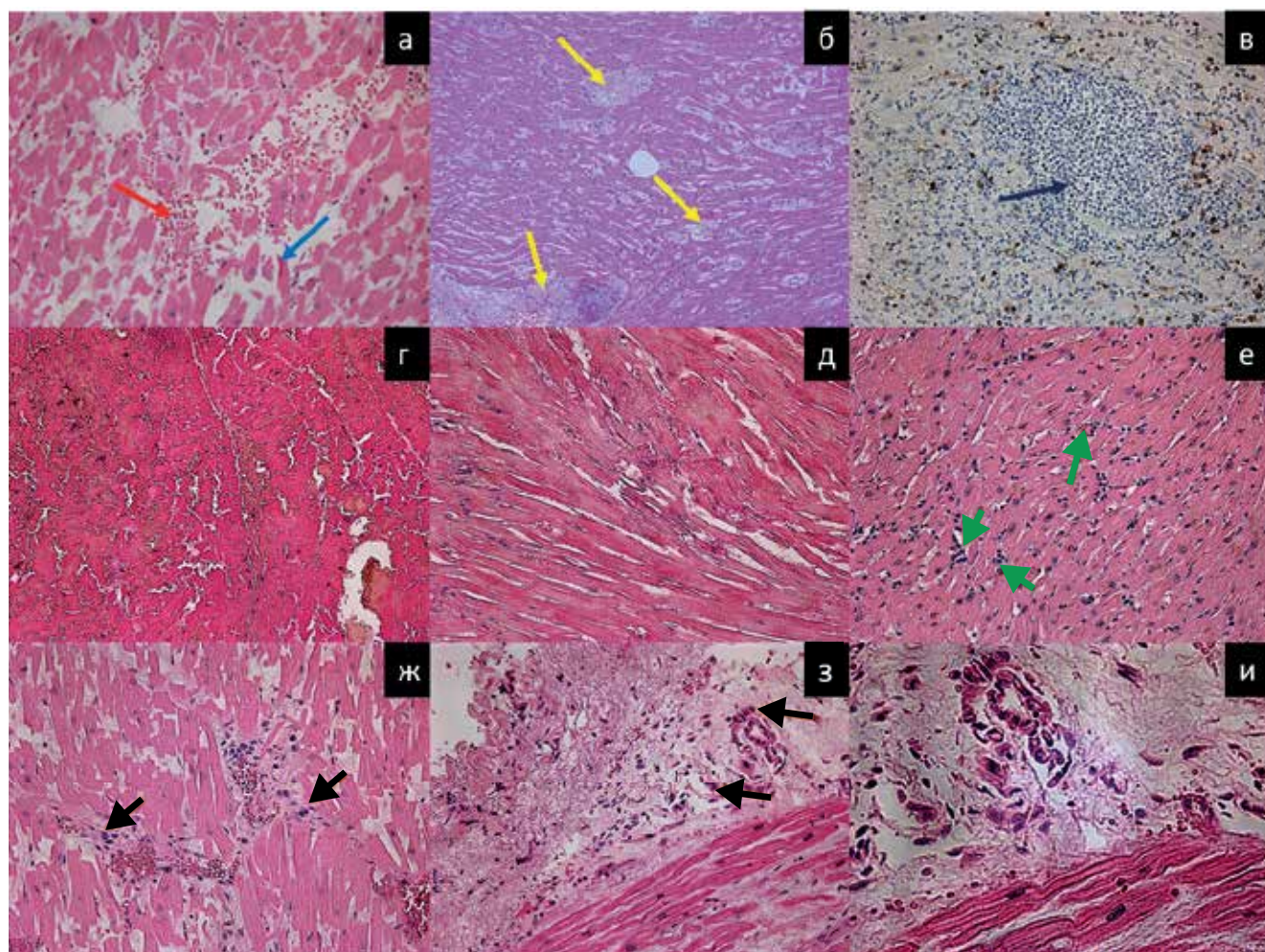


Рис. 1. Морфологическое исследование миокарда пациентов с COVID-19. (а) кровоизлияние в строму (указаны красной стрелкой), фрагментация мышечных волокон (указана синей стрелкой); гематоксилин и эозин, х200. (б) отек стромы миокарда с выпотом фибрина (указано жёлтыми стрелками); гематоксилин и эозин, х100. (в) гнойничковый миокардит с инфильтрацией нейтрофильными лейкоцитами (указано синей стрелкой), окруженными Т-активированными лимфоцитами (коричневое окрашивание CD3 по периферии гнойничка); х200. (г) геморрагический ИМ с полным кариолизисом; гематоксилин и эозин, х100. (д) ишемический ИМ; гематоксилин и эозин, х100. (е) лимфоцитарный миокардит. Агрессивное вклинение лимфоцитов в кардиомиоциты (указано зелёными стрелками); гематоксилин и эозин, х200. (ж, з, и) крупные, полиморфные клетки в зоне сосудов в миокарде (указаны черными стрелками) с фрагментацией мышечных волокон (ж) и перикарде (з, и); гематоксилин и эозин, х200; х400.

Примечание: цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

С-реактивный белок, D-димер, ферритин, прокальцитонин, процент поражения лёгочной паренхимы при компьютерной томографии (t-критерий Стьюдента при требуемом уровне значимости $p < 0,05$). У большинства больных наблюдалась лимфопения, как среди выписанных, так и среди умерших.

У большинства больных с миокардитами (75%), подтвержденными иммуногистохимическим анализом, выявлено повышение тропонина I. Эхокардиографическое исследование проводилось только в 25% случаев. Лимфопению мы наблюдали в 7 из 8 случаев вирусного миокардита. Статистически достоверно процент поражения легочной ткани по данным компьютерной томографии у пациентов с миокардитом был выше, чем у всех пациентов ($71,1 \pm 12,3\%$ vs $44,7 \pm 2,0\%$ при $p < 0,05\%$).

При гистологическом исследовании сердца у 33 (43%) больных наблюдались множественные кровоизлияния в миокард (рис. 1 а), у 8 (10%) — тромбы в интрамуральных артериях, у 13 (17%) — некоронарогенные некрозы, у 7 (9%) — выраженный отек стромы с отложением фибрина в интерстиции (рис. 1 б), у 11 (14%) — скопления макрофагов в строме, у 3 (4%) — гнойничковый миокардит (рис. 1 в), у 4 (5%) — инфильтративный васкулит, у 1 (1%) — лимфоцитарный перикардит, у 7 (9%) — фрагментация мышечных волокон, у 4 (5%) — лейкоцитарные стазы, у 8 (10%) — очаговое плазматическое пропитывание стенок интрамуральных артерий, у 20 (26%) — выраженная гипертрофия миокарда, у 2 (3%) — липоматоз, у 14 (18%) — постинфарктные рубцы, у 5 (6%) — геморрагический инфаркт миокарда (ИМ) (рис. 1 г),

Таблица 3

Морфологические показатели пациентов с иммуногистохимическим диагнозом вирусного миокардита

	Изменения в миокарде	CD3	CD68	MHC1	HLA-DR	C1q	VP1 энтеровирусов	VEGF	Ang1	VWF
1	Лимфоцитарный миокардит	15	1	4	2	0	0	0	На эндотелии 2, в КМЦ 4	3
2	Лимфоцитарный миокардит	20	8	4	2	2	На эндотелии сосудов и в 50% КМЦ	На эндотелии 4, в КМЦ 0	На эндотелии 4, в КМЦ 4	3
3	Некротические изменения, тромбы в МИМА, лимфоцитарный миокардит	11	6	3	0	1	0	На эндотелии 4, в КМЦ 2	На эндотелии 4, в КМЦ 4	1
4	Лимфоцитарный миокардит	8	14	4	1	2	Только на эндотелии	На эндотелии 4, в КМЦ 0	На эндотелии 4, в КМЦ 2	4
5	ОИМ, лимфоцитарный миокардит	15	32	3	0	2	Только на эндотелии	На эндотелии 2, в КМЦ 2	На эндотелии 4, в КМЦ 3	4
6	Некрозы, тромбы в артериях, лимфоцитарный миокардит	37	2	4	3	3	На эндотелии и в 70% КМЦ	На эндотелии 4, в КМЦ 2	На эндотелии 2, в КМЦ 4	1
7	Лимфоцитарный миокардит	21	0	4	4	0	0	На эндотелии 3, в КМЦ 1	На эндотелии 4, в КМЦ 4	1
8	Лимфоцитарный миокардит	16	20	4	0	3	Только на эндотелии	На эндотелии 3, в КМЦ 0	На эндотелии 4, в КМЦ 4	4

Сокращения: КМЦ — кардиомиоцит, МИМА — мелкие интрамиокардиальные артерии, ОИМ — острый инфаркт миокарда, Ang — angiopoietin, CD — cluster of differentiation, HLA-DR — Human Leukocyte Antigen — DR isotype, MHC1 — major histocompatibility complex, VEGF — vascular endothelial growth factor, VWF — von Willebrand factor.

Таблица 4

Корреляционный анализ между воспалительными биомаркерами и наличием или отсутствием иммуногистохимически подтвержденного миокардита

U-критерий	Ферритин	СРБ	Лимфоциты	Прокальцитонин	D-димер	Тропонин
U_выборки с миокардитом	20	28	22	28,5	30,5	31
U_выборки без миокардита	19	31	37	30,5	28,5	18
U_критическое	1	7	7	7	7	4

Сокращение: СРБ — С-реактивный белок.

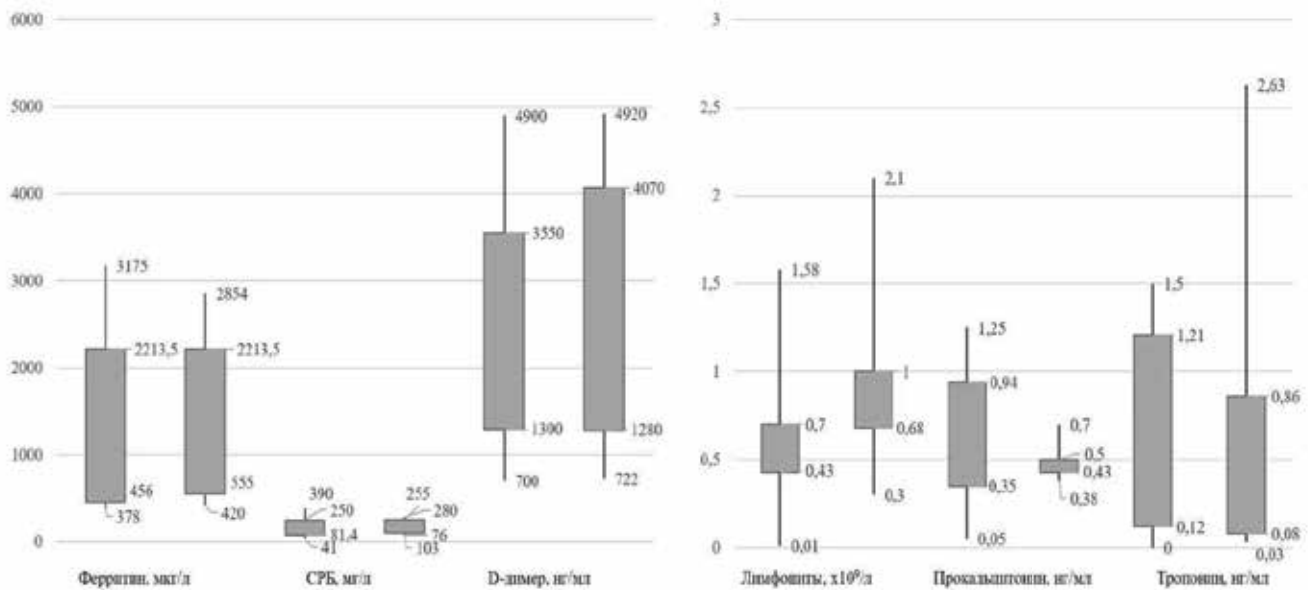
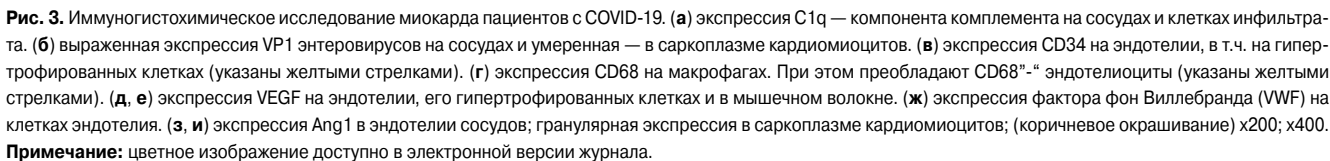


Рис. 2. Основные статистические показатели клинико-лабораторных изменений у пациентов с гистологическим подозрением на лимфоцитарный миокардит. **Примечание:** столбцы диаграммы слева в парах отражают характеристики выборки биомаркеров у пациентов с иммуногистохимически подтвержденным миокардитом, столбцы справа — характеристики выборки неподтвержденного иммуногистохимическим исследованием миокардита. Цифры над верхними вертикальными линиями отображают максимальные значения данных выборок, цифры под нижними вертикальными линиями — минимальные значения. Верхние цифры справа у широких столбцов отображают верхний квартиль выборки, нижние цифры справа у широких столбцов — нижний квартиль выборки.

Сокращение: СРБ — С-реактивный белок.



При этом в 9 из 15 случаев наблюдались нарушения ритма и проводимости (фибрилляция предсердий в 4 случаях, предсердная экстрасистолия в 1 случае, желудочковая экстрасистолия в 1 случае, неполная блокада правой ножки пучка Гиса — в 4, полная блокада передне-верхнего разветвления левой ножки пучка Гиса — в 2). У 1 пациента электрокардиографическое исследование не успели выполнить (табл. 2).

В 43 случаях (56%) в миокарде и перикарде были выявлены крупные полиморфные клетки, располагающиеся в зоне сосудов (рис. 1 ж, з, и).

При этом в 7 из 8 случаев доказанного миокардита наблюдались нарушения ритма и проводимости. В группе пациентов с подозрением на лимфоцитарный миокардит не было выявлено значимых корреляций между воспалительными биомаркерами и наличием или отсутствием иммуногистохимически подтвержденного миокардита (табл. 4, рис. 2).

При иммуногистохимическом исследовании в 6 из 8 случаев была выявлена реакция гуморального иммунитета с экспрессией C1q-компонента ком-

плимента (рис. 3 а), а в 5 из 8 — наличие капсидного VP1-антигена энтеровирусов преимущественно в стенках сосудов (рис. 3 б). На крупных полиморфных клетках в зоне сосудов определялась экспрессия CD34 (рис. 3 в). Только часть из этих клеток была макрофагами с экспрессией CD68 (рис. 3 г). Повышенное количество их ($\geq 14/\text{мм}^2$) определялось в 3 из 8 случаев. При гистологическом и иммуногистохимическом исследовании мы не обнаружили выраженной диффузной лимфоцитарной инфильтрации миокарда. Максимальные очаговые инфильтраты насчитывали 21–37 CD3+T-лимфоцитов/ мм^2 . Ни в одном случае миокардита не было выявлено CD8+T-лимфоцитов. Во всех 8 случаях лимфоцитарного миокардита наблюдалась экспрессия фактора фон Виллебранда (VWF) на эндотелии сосудов (рис. 3 ж), ангиопоэтина Ang1 — на эндотелии и в саркоплазме кардиомиоцитов (рис. 3 з, и). Экспрессия сосудистого ростового фактора VEGF на эндотелии и в мышечных волокнах наблюдалась в 4 случаях, только на эндотелии — в 3 и отсутствовала в 1 случае (рис. 3 д, е).

В целом у умерших больных с коронавирусной инфекцией вне зависимости от наличия или отсутствия миокардита мы выявили экспрессию Ang1, VEGF, VWF. Причем Ang1 и VEGF в некоторых случаях экспрессировались не только в эндотелии, но и кардиомиоцитах.

Таким образом, наиболее частыми находками в сердце были активированный, пролиферирующий, гипертрофированный эндотелий сосудов и кровоизлияния в миокард. Лимфоцитарный миокардит был выявлен всего в 10% случаев (из 77). В 7 из 8 случаев он сопровождался нарушениями ритма и повышением уровня тропонина.

Ранее ФГУП “ВНИИМ им. Д. И. Менделеева” было принято участие в пилотных сличениях на высшем уровне точности Консультативного комитета по количеству вещества: метрология для химии и биологии CCQM-P199b “Измерения числа копий РНК SARS-CoV-2” [9]. Результаты этих сличений подтвердили, что реализованная нами методика цифровой капельной ПЦР после обратной транскрипции обеспечивает возможность достоверного измерения концентрации копий последовательностей в составе генома SARS-CoV-2 на уровне 10 мкл^{-1} . Однако в результате исследований препаратов РНК, выделенных из FFPE препаратов ткани миокарда левого желудочка, нами не было обнаружено присутствия последовательностей генов *N* и *E* коронавируса.

Обсуждение

Анализируя данные аутопсийного исследования, нами показано, что самыми частыми изменениями при COVID-19 в миокарде являются дисэндотелиоз или эндотелиит сосудов (гипертрофия, гиперплазия,

дисплазия и повреждение эндотелия) с последующими кровоизлияниями. Varga Z, et al. [10] также описывают признаки эндотелиита в таких органах, как легкие, сердце, почки и кишечник, считая его прямым следствием вирусного поражения и воспалительной реакции в организме хозяина. По мнению авторов, COVID-19-эндотелиит может объяснить системные микроциркуляторные нарушения, возникающие в различных органах. На сегодняшний день известно, что SARS-CoV-2 — это вирус одноцепочечной РНК, чей S-белок внешней мембраны связывается с рецептором ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2) [11]. АПФ2 служит главным регулятором ренин-ангиотензиновой системы, метаболизируя сосудосуживающий и провоспалительный ангиотензин II (Ang II) до сосудорасширяющего пептида ангиотензина. Попадая внутрь клетки, вирус использует механизм хозяина для трансляции РНК в полипептиды, включая РНК-зависимую РНК-полимеразу, которую вирус использует для репликации своей собственной РНК. После синтеза структурных белков и сборки частиц новый вирус высвобождается из клетки путем экзоцитоза. В рамках активации врожденного иммунного ответа пораженные клетки-хозяева могут повреждаться [12]. АПФ2 экспрессируется в ряде тканей, включая сердце, легкие, гладкие мышцы кишечника, печень, почки и иммунные клетки. Вызванное вирусом подавление АПФ2 приводит к ослаблению его противовоспалительной функции и усилению провоспалительного эффекта ангиотензина II, что особенно негативно влияет на пациентов с артериальной гипертензией, ИБС и сахарным диабетом, которые в основном представлены в нашей выборке. Однако рецепторы АПФ2, наряду с легкими, в первую очередь экспрессируются эндотелиальными клетками, чем и обусловлена высокая тропность вируса к эндотелию. Интересно, что SARS-CoV-2 может напрямую инфицировать сконструированные органоиды кровеносных сосудов человека *in vitro* [13].

Ранее в исследовании аутопсийного материала пациентов, умерших от тяжелого острого респираторного синдрома, показано, что 7 (35%) из 20 сердец являются носителями коронавируса SARS-CoV [14, 15]. Тем не менее на сегодняшний день существует лишь несколько работ, в которых выполнена идентификация геномной РНК SARS-CoV-2 в ткани миокарда [14, 16].

Деградация одноцепочечной РНК при формалиновой фиксации тканей обычно более выражена, чем деградация дезоксирибонуклеиновой кислоты, что может приводить к ложноотрицательным результатам при поиске низкокопийных РНК-мишеней в подобных препаратах. Кроме того, исследование содержания нуклеиновых кислот в FFPE образцах было лимитировано ограниченным количеством материала. Для оценки количе-

ства материала, выделенного из FFPE блоков и пригодного для цПЦР (в т.ч. ОТ-цПЦР), выполняли измерения концентрации копий последовательности в составе однокопийного гена β -глобина и в составе мРНК гена β -актина. Концентрация копий последовательности гена β -глобина в исследованных образцах составила 70 ± 40 мкл⁻¹, мРНК β -актина — 3500 ± 1400 мкл⁻¹.

Учитывая, что среднее содержание РНК на клетку составляет 20 пг (пикограмм), и принимая во внимание результаты оценки числа копий геномов, содержание пригодной для измерений методом цПЦР РНК в выделенном материале составляет 700 ± 400 пг/мкл. Согласно результатам Lindner D, et al. [17], в 33% аутопсийных образцах от пациентов с подтвержденным SARS-CoV-2 вирусная нагрузка составила <1 тыс. копий на микрограмм выделенной тотальной РНК, тогда как нагрузка >80 тыс. копий на микрограмм РНК была обнаружена только для 20% образцов, т.е. типичное содержание РНК коронавируса в препарате составляет порядка 0,001 копий на пикограмм выделенной тотальной РНК. В 4 из 8 исследованных нами методом ОТ-цПЦР препаратах амплификацию наблюдали только в одной микрокапле из 15-20 тыс., что не позволило вынести заключение о присутствии РНК коронавируса. Однако данный результат может расцениваться как ложноотрицательный вследствие недостаточного количества РНК, доступного для проведения исследования.

В то же время в отчете о 104 пациентах с инфекцией COVID-19, у которых развилась острая сердечная недостаточность и которым была проведена эндомиокардиальная биопсия, только у 5 был положительный результат на геном SARS-CoV-2 в ткани миокарда на фоне типичных признаков миокардита, включая выраженное воспаление, микрососудистые изменения, тромбоз и некроз миокарда [18].

В результате нашего исследования миокардит с помощью иммуногистохимического анализа был подтвержден только у 10% пациентов (из 77), однако ОТ-цПЦР исследование не подтвердило достоверного присутствия РНК вируса SARS-CoV-2, которое бы свидетельствовало о том, что миокардит вызван именно коронавирусной инфекцией. К тому же в упомянутых выше 4 случаях была определена выраженная экспрессия VP1 энтеровирусов, преобладающая в сосудах стенок (в течение 15 лет в ФГБУ “НМИЦ им. В.А. Алмазова” используется методика иммуногистохимического исследования миокарда с антителом к VP1-энтеровирусов (DAKO), которая была отработана параллельно с ПЦР в биоптатах миокарда). На наш взгляд, возможна активация латентной энтеровирусной инфекции, описанной у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, например, с ИБС [19], как вследствие SARS-CoV-2 инфекции либо опосредо-

вано за счет нарушения иммунного ответа. Кроме того, доказано, что эндогенные протеазы коронавируса и энтеровирусов имеют сходство по своей структуре и функциям. Эти протеазы обрабатывают свои вирусные полипротеины, и, таким образом, лекарственные средства, которые связываются с активным сайтом, потенциально могут воздействовать на обе вирусные группы [20].

Weckbach LT, et al. [5] не обнаружили РНК SARS-CoV-2 ни в одной эндомиокардиальной биопсии с помощью количественной ПЦР в реальном времени, но выявили повышенное количество макрофагов.

Макрофаги являются ключевым компонентом врожденной иммунной системы и основным источником провоспалительных цитокинов. Их активация осуществляется дезинтегрином и доменом металлопротеиназы 17 (ADAM-17), трансмембранной протеазой, которая также отвечает за протеолиз и отщепление эктодомена ACE2 [21]. Наше исследование показало повышенное количество макрофагов при миокардите только в 3 из 8 случаев.

Ни в одном случае миокардита мы не выявили выраженную диффузную лимфоцитарную инфильтрацию, а CD8+T-киллеры вовсе отсутствовали в миокарде в отличие от описаний других авторов [22]. Возможно, это связано с лимфопенией, которая была диагностирована у большинства пациентов. Известно, что лимфопения возникает на ранней стадии заболевания и является плохим прогностическим фактором. Она потенциально связана с уменьшением количества CD4+ и некоторых CD8+T-клеток, что приводит к дисбалансу врожденного/приобретенного иммунного ответа, задержке выведения вируса и гиперстимуляции макрофагов и нейтрофилов. Соответствующая активация пути интерферона I типа имеет решающее значение для ослабления вируса и сбалансированного иммунного ответа. Устойчивая активация иммунной системы у предрасположенных пациентов, таких как пожилые люди и пациенты с сердечно-сосудистыми заболеваниями, может привести к гемофагоцитозоподобному синдрому с неконтролируемым усилением продукции цитокинов, что приводит к полиорганной недостаточности и смерти.

На наш взгляд, характерным морфологическим признаком COVID-19 является дисплазия эндотелиальных клеток, которая, очевидно, обусловлена нахождением в них вирусных частиц. Действительно, электронная микроскопия показала частицы, соответствующие вирусу SARS-CoV-2 в сердечной эндотелиальной клетке, но не в кардиомиоцитах [23]. Кровоизлияния, тромбозы и некрозы миокарда представляют последствия дисфункции эндотелия.

У больных с коронавирусной инфекцией вне зависимости от наличия или отсутствия миокардита

мы выявили экспрессию Ang1, VEGF, VWF. Причем Ang1 и VEGF в некоторых случаях экспрессировались не только в эндотелии, но и кардиомиоцитах. VEGF и Ang1 являются двумя основными ангиогенными факторами, которые исследуются для лечения ИМ. Известно, что кардиоспецифическая, вызванная гипоксией, коэкспрессия VEGF и Ang1 улучшает перфузию и функцию сердца за счет индукции ангиогенеза и пролиферации кардиомиоцитов, активации путей выживания и уменьшения апоптоза клеток [24]. Причем эта гипоксия может быть как следствием ишемии [25], так и быть гипоксемической [26].

Известно, что у мышей, подвергшихся гипоксии, повышение экспрессии VWF сопровождается наличием тромбов в сердце и легких [27], как и при COVID-19. VWF играет ключевую роль в адгезии и агрегации тромбоцитов в коронарных артериях со стенозирующими и нестабильными атеросклеротическими бляшками. Многочисленные исследования показали, что VWF является значимым прогностическим фактором неблагоприятных сердечных событий, включая смерть. Он повышается во время острого коронарного синдрома и служит не только маркером, но и фактически важным эффектором в патогенезе ИМ. Центральная роль VWF в тромбообразовании сделала его многообещающей целью для исследований новых антитромбозных методов лечения [28].

ADAMTS13 — фермент, расщепляющий VWF, снижает рекрутирование лейкоцитов и тромбоцитов и, таким образом, снижает тромбообразование и интенсивность воспалительной реакции. Рекомбинантный человеческий ADAMTS13 (rhADAMTS13) является новым кандидатом лекарственного препарата от ишемии/реперфузионного повреждения и показал краткосрочные преимущества на мышинных моделях повреждения миокарда, но долгосрочные результаты не исследовались [29].

У большинства пациентов с доказанными миокардитами мы наблюдали нарушения сердечного ритма в виде неполной блокады правой ножки пучка Гиса, полной блокады передне-верхнего разветвления левой ножки пучка Гиса, фибрилляции или экстрасистолии предсердий, у одного — желудочковую экстрасистолию (в ассоциации с острым ИМ). На наш взгляд, эти нарушения ритма нельзя объяснить только наличием миокардита. Описаны несколько причин: 1) гипокалиемия или гипомagneмизм в результате самого заболевания (например, диареи), особенно, у тяжелобольных, либо при определенных видах лечения, таких как мочегонные средства; 2) фармакотерапевтические препараты, перепрофилированные для лечения COVID-19 с риском удлинения интервала QT и torsades de pointes; 3) за счет прямого электрофизиологического воздействия цито-

кинов на миокард [30]; 4) быстрое ухудшение функции почек и электролитные нарушения [31].

Теперь мы знаем, что люди с наибольшим риском смерти — это пожилые люди (в нашем исследовании средний возраст умерших был 71 год), с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями. Острые коронарные события, как в наших 19% случаев, могут быть результатом резкого увеличения потребности миокарда в кислороде, вызванного инфекцией, аналогично ИМ 2 типа. С другой стороны, циркулирующие цитокины, высвобождаемые во время тяжелого системного воспалительного стресса, могут привести к нестабильности и разрыву атеросклеротической бляшки. Точно так же пациенты с сердечной недостаточностью склонны к декомпенсации гемодинамики во время стресса от тяжелых инфекционных заболеваний [32].

Клеточные и экспериментальные модели инфекции SARS-CoV-2 на животных, в дополнение к транскрипционному и сывороточному профилированию пациентов с COVID-19, неизменно выявляли уникальный и несоответствующий воспалительный ответ. Этот ответ определяется низкими уровнями интерферонов I и III типов в сравнении с повышенными хемокинами и высокой экспрессией IL-6. Предполагается, что снижение врожденной противовирусной защиты в сочетании с обильной выработкой воспалительных цитокинов являются определяющими и движущими чертами COVID-19 [33].

Заключение

Наше исследование показало, что основным морфологическим проявлением COVID-19 в миокарде является так называемый эндотелиит с дисплазией и активацией эндотелиоцитов, приводящий к кровоизлияниям, тромбозу интрамуральных артерий и некрозам. Убедительные доказательства непосредственного участия коронавируса в индукции миокардита отсутствуют, что в целом подтверждает теорию патогенеза тяжёлого течения коронавирусной инфекции, основанную на преимущественно иммунном поражении эндотелия и микротромбозах. У большинства пациентов с доказанными миокардитами мы наблюдали нарушения сердечного ритма в виде неполной блокады правой ножки пучка Гиса, полной блокады передне-верхнего разветвления левой ножки пучка Гиса, фибрилляции или экстрасистолии предсердий, у одного — желудочковую экстрасистолию (в ассоциации с острым ИМ). Не было выявлено значимых корреляций между воспалительными биомаркерами и морфологически подтвержденным миокардитом.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2020-901 от 13.11.2020).

Литература/References

- Bularga A, Chapman AR, Mills NL. Mechanisms of Myocardial Injury in COVID-19. *Clin Chem*. 2021;67(8):1044-6. doi:10.1093/clinchem/hvab111.
- European Society of Cardiology. ESC Guidance for the diagnosis and management of cardiovascular disease during the COVID-19 pandemic. Last updated June 2020. <https://www.escardio.org/The-ESC/Press-Office/Press-releases/ESC-Guidance-for-the-Diagnosis-and-Management-of-Heart-Disease-during-COVID-19>
- Chapman AR, Bularga A, Mills NL. High-Sensitivity Cardiac Troponin Can Be an Ally in the Fight Against COVID-19. *Circulation*. 2020;141(22):1733-5. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047008.
- Friedrich MG, Cooper LT. What we (don't) know about myocardial injury after COVID-19. *Eur Heart J*. 2021;42(19):1879-82. doi:10.1093/eurheartj/ehab145.
- Weckbach LT, Curta A, Bieber S, et al. Myocardial Inflammation and Dysfunction in COVID-19-Associated Myocardial Injury. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2021;14(1):e012220. doi:10.1161/CIRCIMAGING.120.011713.
- Suo T, Liu X, Feng J, et al. ddPCR: a more accurate tool for SARS-CoV-2 detection in low viral load specimens. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):1259-68. doi:10.1080/22221751.2020.1772678.
- Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. 2020;25(3):2000045. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
- Cooper LT, Baughman KL, Feldman AM, et al. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology. Endorsed by the Heart Failure Society of America and the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(19):1914-31. doi:10.1016/j.jacc.2007.09.008.
- BIPM. National Measurement Institutes demonstrate high accuracy reference measurement system for SARS-CoV-2 testing. <https://www.bipm.org/en/-/2020-nmi-covid> (15.11.2021).
- Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395(10234):1417-8. doi:10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
- Gheblawi M, Wang K, Viveiros A, et al. Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. *Circ Res*. 2020;126(10):1456-74. doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.317015.
- Liu PP, Blet A, Smyth D, Li H. The Science Underlying COVID-19: Implications for the Cardiovascular System. *Circulation*. 2020;142(1):68-78. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047549.
- Shi S, Qin M, Shen B, et al. Association of Cardiac Injury With Mortality in Hospitalized Patients With COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol*. 2020;5(7):802-10. doi:10.1001/jamacardio.2020.0950.
- Tavazzi G, Pellegrini C, Maurelli M, et al. Myocardial localization of coronavirus in COVID-19 cardiogenic shock. *Eur J Heart Fail*. 2020;22(5):911-5. doi:10.1002/ehf.1828.
- Wenzel P, Kopp S, Göbel S, et al. Evidence of SARS-CoV-2 mRNA in endomyocardial biopsies of patients with clinically suspected myocarditis tested negative for COVID-19 in nasopharyngeal swab. *Cardiovasc Res*. 2020;116(10):1661-3. doi:10.1093/cvr/cvaa160.
- Kim IC, Kim JY, Kim HA, et al. COVID-19-related myocarditis in a 21-year-old female patient. *Eur Heart J*. 2020;41(19):1859. doi:10.1093/eurheartj/ehaa288.
- Lindner D, Fitzek A, Bräuninger H, 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.
- Giustino G, Pinney SP, Lala A, et al. Coronavirus and Cardiovascular Disease, Myocardial Injury, and Arrhythmia: JACC Focus Seminar. *J Am Coll Cardiol*. 2020;76(17):2011-23. doi:10.1016/j.jacc.2020.08.059.
- Andréoletti L, Bourlet T, Moukassa D, et al. Enteroviruses can persist with or without active viral replication in cardiac tissue of patients with end-stage ischemic or dilated cardiomyopathy. *J Infect Dis*. 2000;182(4):1222-7. doi:10.1086/315818.
- Marjomäki V, Kallander K, Hellman M, et al. Enteroviruses and coronaviruses: similarities and therapeutic targets. *Expert Opin Ther Targets*. 2021;25(6):479-89. doi:10.1080/14728222.2021.1952985.
- Scott AJ, O'Dea KP, O'Callaghan D, et al. Reactive oxygen species and p38 mitogen-activated protein kinase mediate tumor necrosis factor α -converting enzyme (TACE/ADAM-17) activation in primary human monocytes. *J Biol Chem*. 2011;286(41):35466-76. doi:10.1074/jbc.M111.277434.
- Basso C, Leone O, Rizzo S, et al. Pathological features of COVID-19-associated myocardial injury: a multicentre cardiovascular pathology study. *Eur Heart J*. 2020;41(39):3827-35. doi:10.1093/eurheartj/ehaa664.
- Fox SE, Li G, Akmatbekov A, et al. Unexpected Features of Cardiac Pathology in COVID-19 Infection. *Circulation*. 2020;142(11):1123-5. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.049465.
- Tao Z, Chen B, Tan X, et al. Coexpression of VEGF and angiotensin-1 promotes angiogenesis and cardiomyocyte proliferation reduces apoptosis in porcine myocardial infarction (MI) heart. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108(5):2064-9. doi:10.1073/pnas.1018925108.
- Dallabrida SM, Ismail N, Oberle JR, et al. Angiotensin-1 promotes cardiac and skeletal myocyte survival through integrins. *Circ Res*. 2005;96(4):e8-24. doi:10.1161/01.RES.0000158285.5719160.
- Ray PS, Estrada-Hernandez T, Sasaki H, et al. Early effects of hypoxia/reoxygenation on VEGF, ang-1, ang-2 and their receptors in the rat myocardium: implications for myocardial angiogenesis. *Mol Cell Biochem*. 2000;213(1-2):145-53. doi:10.1023/a:1007180518474.
- Mojiri A, Alavi P, Lorenzana Carrillo MA, et al. Endothelial cells of different organs exhibit heterogeneity in von Willebrand factor expression in response to hypoxia. *Atherosclerosis*. 2019;282:1-10. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2019.01.002.
- Spiel AO, Gilbert JC, Jilma B. von Willebrand factor in cardiovascular disease: focus on acute coronary syndromes. *Circulation*. 2008;117(11):1449-59. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.722827.
- Witsch T, Martinod K, Sorvillo N, et al. Recombinant Human ADAMTS13 Treatment Improves Myocardial Remodeling and Functionality After Pressure Overload Injury in Mice. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(3):e007004. doi:10.1161/JAHA.117.007004.
- Smeeth L, Thomas SL, Hall AJ, et al. Risk of myocardial infarction and stroke after acute infection or vaccination. *N Engl J Med*. 2004;351(25):2611-8. doi:10.1056/NEJMoa041747.
- Hirsch JS, Ng JH, Ross DW, et al. Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19. *Kidney Int*. 2020;98(1):209-18. doi:10.1016/j.kint.2020.05.006.
- Bonow RO, Fonarow GC, O'Gara PT, et al. Association of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) With Myocardial Injury and Mortality. *JAMA Cardiol*. 2020;5(7):751-3. doi:10.1001/jamacardio.2020.1105.
- Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, et al. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell*. 2020;181(5):1036-45.e9. doi:10.1016/j.cell.2020.04.026.