

Морфологическая оценка экспрессии актина и десмина при различных сроках холодовой ишемии миокарда: наблюдательное исследование

В.Е. Кливер^{1,2}, А.М. Волков¹, А.П. Надеев², А.В. Фомичев¹, Д.А. Сирота^{1,2}, Е.Э. Кливер^{1,2},
М.О. Жульков¹, С.В. Позднякова²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Речкуновская, д. 15, г. Новосибирск, 600055, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красный проспект, д. 52, г. Новосибирск, 630091, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Трансплантация сердца в настоящее время является ключевым методом лечения пациентов в терминальной стадии хронической сердечной недостаточности. Проблема критического дефицита донорских органов, рост потребности в трансплантации сердца диктуют необходимость расширять критерии отбора доноров, включая и предполагаемое время ишемии донорского сердца. Несмотря на множество исследований, в настоящее время остается открытым вопрос о безопасной длительности холодовой ишемии, нет четкой границы допустимого времени консервации и соответствующих патоморфологических данных о состоянии миокарда донорского сердца при различных временных параметрах. **Цель исследования** — провести сравнительную оценку особенностей патоморфологии кардиомиоцитов и экспрессии белков-маркеров — актина и десмина в миокарде донорского сердца перед выполнением основного этапа операции ортотопической трансплантации сердца. **Методы.** Работа выполнена по дизайну наблюдательного клинического исследования. Исследование носило проспективный характер. Для исследования использовали интраоперационные биоптаты миокарда ушка левого предсердия доноров возрастом до 60 лет, после холодовой ишемии трансплантата раствором Bretschneider (Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Германия) длительностью до 240 минут (1-я группа, $n = 10$) и более 240 минут (2-я группа, $n = 7$). В миокарде ушка левого предсердия донорского сердца определяли характер патоморфологической перестройки в условиях различной длительности холодовой ишемии. Гистологические срезы миокарда были окрашены по стандартной методике гематоксилином и эозином. Дальнейшее их изучение проводили посредством световой и поляризационной микроскопии, для анализа экспрессии актина и десмина применяли иммуногистохимический метод. Морфометрия осуществлялась с применением программы «ImageJ 1.48v» (США). При анализе содержания актина, десмина площадь DAB (3,3'-diaminobenzidine)-позитивных продуктов иммуногистохимической реакции оценивали как процент площади изображения. Объемная плотность иммуногистохимически выявляемого актина и десмина определялась по 20 изображениям с увеличением 40×10. Для изучения интенсивности степени иммунной реакции использовали полуколичественный метод: с подсчетом числа клеток в случайно выбранных 25 полях зрения. Типы контрактурных повреждений миокарда оценивали методом поляризационной микроскопии. **Результаты.** Все включенные в первую и вторую группы случаи были доведены до конца исследования. Пациенты, включенные в первую и вторую группы, были сопоставимы по среднему возрасту и антропометрическим показателям. Возраст 1-й группы составлял 50 [44; 59] лет, 2-й группы — 50 [49; 50] лет, $p = 0,193$. Индекс массы тела в 1-й группе был 25 [22; 27] и во 2-й группе 25 [21; 31], $p = 0,288$. В обеих группах было отмечено преобладание пациентов мужского пола: 1-я группа — 8 (80%) и 2-я группа — 6 (85,7%) человек, $p = 0,256$. При комплексной морфологической оценке ишемических повреждений миокарда при разной продолжительности холодовой ишемии была выявлена однородность и обратимость изменений клеточных структур в обеих группах в виде развития контрактур не более I–II степени, появление лизисных изменений в отдельных кардиомиоцитах только во второй группе, сохранение иммуногистохимических реакций на актин и десмин в обеих группах при их средней интенсивности и полном отсутствии участков без реакции на десмин, что позволяет судить о степени сохранности их макромолекулярной структуры. **Заключение.** Полученные в ходе исследования результаты показали, что раствор Bretschneider, обладая сбалансированным элементным составом, определяющим метаболическую защиту клеток и их ионный баланс, создает действенную защиту донорского сердца при его транспортировке с периодом холодовой ишемии миокарда длительностью до 240 мин и более.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: трансплантация сердца, консервация донорского сердца, время холодовой ишемии, актин, десмин, морфологическая диагностика

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Кливер В.Е., Волков А.М., Надеев А.П., Фомичев А.В., Сирота Д.А., Кливер Е.Э., Жульков М.О., Позднякова С.В. Морфологическая оценка экспрессии актина и десмина при различных сроках холодовой ишемии миокарда: наблюдательное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2024;31(1): 15–26. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2024-31-1-15-26>

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ: исследование не имело спонсорской поддержки.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ: один из авторов — профессор, доктор медицинских наук Надеев А.П. — является членом редакционной коллегии журнала «Кубанский научный медицинский вестник». Авторам неизвестно о каком-либо другом потенциальном конфликте интересов, связанном с этой рукописью.

ДЕКЛАРАЦИЯ О НАЛИЧИИ ДАННЫХ: данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу. Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала — сертифицированным специалистом по биостатистике.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ: проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено Независимым этическим комитетом федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. Речкуновская, д. 15, Новосибирск, Россия), протокол № 6 от 23.03.2021 г.

ВКЛАД АВТОРОВ: В.Е. Кливер, А.М. Волков, А.П. Надеев, А.В. Фомичев, Д.А. Сирота, Е.Э. Кливер, М.О. Жульков, С.В. Позднякова — разработка концепции и дизайна исследования; Д.А. Сирота, А.В. Фомичев, М.О. Жульков, Е.Э. Кливер — сбор данных; В.Е. Кливер, А.М. Волков, А.В. Фомичев — анализ и интерпретация результатов; Е.Э. Кливер, М.О. Жульков, С.В. Позднякова — обзор литературы, проведение статистического анализа; В.Е. Кливер, А.М. Волков — составление черновика рукописи и формирование его окончательного варианта; А.П. Надеев, Д.А. Сирота, С.В. Позднякова — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного замечания интеллектуального содержания. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

✉ **КОРРЕСПОНДИРУЮЩИЙ АВТОР:** Кливер Владислав Евгеньевич, младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела хирургии аорты, коронарных и периферических артерий Института патологии кровообращения федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации; аспирант кафедры патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Адрес: ул. Речкуновская д. 15, Новосибирск, Россия. E-mail: kliverngmu@mail.ru

Получена: 28.08.2023 / Получена после доработки: 15.12.2023 / Принята к публикации: 12.01.2024

Morphological assessment of actin and desmin expression at different cold myocardial ischemia times: observational study

Vladislav E. Kliver^{✉1,2}, Alexander M. Volkov¹, Alexandr P. Nadeev², Alexei V. Fomichev¹, Dmitry A. Sirota¹, Evgeniy E. Kliver^{1,2}, Maksim O. Zhulkov¹, Svetlana V. Pozdnyakova²

¹ Meshalkin National Medical Research Center, Rechkunovskaya str., 15, Novosibirsk 600055 Russia

² Novosibirsk State Medical University, Krasny Prospekt, 52, Novosibirsk 630091 Russia

ABSTRACT

Background. Heart transplantation is currently the treatment of choice for patients in terminal stages of chronic heart failure. The critical shortage of donor organs and the growing need for heart transplantation necessitate the expansion of donor selection criteria, including the estimated ischemia time of the donor heart. Despite numerous studies, the issue remains regarding the safe cold ischemia time; no definite limit to the acceptable preservation time is known and no relevant pathomorphological data are available on the state of the donor heart myocardium at different time parameters. **Objective.** To comparatively assess the features of cardiomyocyte pathomorphology and expression of protein markers (actin and desmin) in the myocardium of a donor heart prior to the main stage of orthotopic heart transplantation. **Methods.** The work adopted the design of an observational clinical study, which was prospective in nature. The study used intraoperative myocardial biopsy specimens of the left atrial appendage from donors aged up to 60 years, following cold ischemia of the transplant in Bretschneider solution (Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Germany) lasting up to 240 minutes (Group 1, $n = 10$) and over 240 minutes (Group 2, $n = 7$). The nature of pathomorphological myocardial transformation in the left atrial appendage of the donor heart was determined at different cold ischemia times. Histological myocardial sections were stained with hematoxylin and eosin according to standard procedures. After that, they were further studied using light and polarization microscopy; the immunohistochemical method was used to analyze the expression of actin and desmin. Morphometry was performed using the ImageJ 1.48v software (USA). In the analysis of actin and desmin amount, the area of DAB(3,3'-diaminobenzidine)-positive products of the immunohistochemical reaction was estimated as a percentage of the image area. The volume density of immunohistochemically detectable actin and desmin was determined using 20 images at a magnification of 40×10. In order to study the intensity of the immune reaction, a semiquantitative method was used, which involved counting the number of cells in 25 randomly selected fields of view. The types of myocardial contracture damage were assessed via polarization microscopy. **Results.** Patients included in the first and second groups were comparable in terms of mean age and anthropometric indices. The mean age of patients amounted to 50 [44;59] years in Group 1 and 50 [49;50] years in Group 2, $p = 0.193$. The body mass index was 25 [22;27] in Group 1 and 25 [21;31] in Group 2, $p = 0.288$. Both groups showed male predominance: 8 (80%) in Group 1 and 6 (85.7%) in Group 2, $p = 0.256$. The comprehensive morphological assessment of ischemic myocardial damage at different cold ischemia times revealed the uniformity and reversibility of changes in cellular structures (in both groups) that take the form of I–II class contractures, lysis changes in individual cardiomyocytes (only in Group 2), preserved immunohistochemical reactions to actin and desmin in both groups at their average intensity and the complete absence of areas showing no reaction to desmin, which gives an idea about the degree of preservation of their macromolecular

structure. **Conclusion.** The obtained study results showed that due to having a balanced elemental composition that determines the metabolic protection of cells and their ionic balance, the Bretschneider solution effectively protects the donor heart during its transportation, with the myocardial cold ischemia lasting up to 240 min and more.

KEYWORDS: heart transplant, donor heart preservation, cold ischemia time, actin, desmin, morphological diagnostics

FOR CITATION: Kliver VE, Volkov AM, Nadeev AP, Fomichev AV, Sirota DA, Kliver EE, Zhulkov MO, Pozdnyakova SV. Morphological assessment of actin and desmin expression at different cold myocardial ischemia times: observational study. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2024;31(1): 15–26. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2024-31-1-15-26>

FUNDING: No funding support was obtained for the research.

CONFLICT OF INTEREST: One of the authors Prof. Nadeev A.P., Dr. Sci. (Med.) is an editorial board member of the *Kuban Scientific Medical Bulletin*. The authors are unaware of any other potential conflict of interest associated with this manuscript.

DATA AVAILABILITY STATEMENT: Data supporting the conclusions made in this study can be obtained from the corresponding author on a reasonable request. The data and statistical methods presented in the article were statistically reviewed by the editor of the journal, a certified biostatistician.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS: The study complies with the Helsinki Declaration standards and is approved by the Independent Committee for Ethics (Minutes No. 6 as of March 23, 2021) of the Meshalkin National Medical Research Center (Rechkunovskaya str., 15, Novosibirsk, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTIONS: V.E. Kliver, A.M. Volkov, A.P. Nadeev, A.V. Fomichev, D.A. Sirota, E.E. Kliver, M.O. Zhulkov, S.V. Pozdnyakova — concept formulation and study design; D.A. Sirota, A.V. Fomichev, M.O. Zhulkov, E.E. Kliver — data collection; V.E. Kliver, A.M. Volkov, A.V. Fomichev — analysis and interpretation of the obtained results; E.E. Kliver, M.O. Zhulkov, S.V. Pozdnyakova — literature review and statistical analysis; V.E. Kliver, A.M. Volkov — drafting of the manuscript and preparation of its final version; A.P. Nadeev, D.A. Sirota, S.V. Pozdnyakova — critical revision of the manuscript for valuable intellectual content. All the authors approved the final version of the manuscript prior to publication, agreeing to be accountable for all aspects of the work, meaning that issues related to the accuracy and integrity of any part of the work are appropriately examined and resolved.

✉ **CORRESPONDING AUTHOR:** Vladislav E. Kliver, Research Assistant, Research Department of Surgery on Aorta, Coronary and Peripheral Arteries, Institute of Circulatory Pathology, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; postgraduate student, Anatomic Pathology Department, Novosibirsk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation. Address: Rechkunovskaya str., 15, Novosibirsk, Russia. E-mail: kliverngmu@mail.ru

Received: 28.08.2023 / **Received after revision:** 15.12.2023 / **Accepted:** 12.01.2024

ВВЕДЕНИЕ

На сегодня одной из основных проблем мирового здравоохранения является терминальная сердечная недостаточность, ведущим методом лечения которой остается трансплантация сердца (ТС) [1]. Вопрос острого отсутствия донорских органов при повышении необходимости в ТС указывает на неизбежность расширения признаков выбора доноров, среди которых одним из важнейших является время ишемии донорского сердца. Повышение продолжительности данного показателя до более 240 минут, по мнению некоторых авторов, увеличивает опасность развития нарушения деятельности трансплантата и может привести к летальному исходу [2, 3].

В то же время нормотермическое ишемическое повреждение миокарда сопряжено с разрушающим влиянием гипоксии на структуры клеточных белков, составляющих клеточный каркас кардиомиоцитов. Актин, представляющий неотъемлемую часть микрофиламентов совместно с белком миозином, создает сократительные элементы мышц — актомиозиновые комплексы саркомеров. Ослабление интенсивности саркомерного актина в цитоплазме мышечных клеток в участке повреждения указывает на уменьшение сократительной функции кардиомиоцитов¹ [4]. Следующим представителем ведущих структурных белков мышечных клеток является десмин [5, 6], который связывает элементы цитоплазмы, создавая матрикс

около Z-диска саркомера, и прикрепляет его к цитоплазматической зоне мембраны кардиомиоцита [7, 8], соединяя как рядом располагающиеся миофибриллы, так и Z-диски [9, 10]. Для сохранения продольной нагрузки во время сокращения десмин посредством собственного контакта с саркомером связывает сократительную часть с ядром клетки, органеллами в цитоплазме клеток, обеспечивающих клеточное дыхание, и постсинаптическим участком [11, 12]. Данный механизм, вероятнее всего, связан как с нарушением пути фосфорилирования с последующим разрушением соединенных с ними белков цитоскелета кардиомиоцитов, так и увеличением количества ионов кальция и водорода в клетках, влекущего за собой иницирование действия кальцийзависимых протеаз с дальнейшим распадом актина и десмина.

В части исследований отмечается, что продолжительный срок холодовой ишемии трансплантата не может быть фактором его дисфункции и не оказывает какого-либо влияния на результаты хирургического лечения [3, 13]. Констатация повреждения сердечной мышцы методом светооптической микроскопии связана с определенными сложностями, если со времени ее начала проходит небольшой срок. В практической деятельности для диагностики повреждений миокарда актуально применение иммуногистохимического метода или микроскопии в поляризованном свете [10, 14–16], позволяющих при изучении участков

¹ Збруева Ю. В., Кульбицкий Б. Н., Кабакова С. С., Джувалыков П. Г., Богомолов Д. В., Федулова М. В. Иммуногистохимическое исследование ушиба сердца. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2013;56 (1):54–55.

ишемии миокарда дать заключение о статусе макромолекулярной структуры мышечных клеток сердца.

Цель исследования — провести сравнительную оценку особенностей патоморфологии кардиомиоцитов и экспрессии белков-маркеров — актина и десмина в миокарде донорского сердца перед выполнением основного этапа операции ортотопической трансплантации сердца.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Работа выполнена по дизайну наблюдательного клинического исследования. В исследование включены 17 образцов миокарда ушка левого предсердия донорского сердца (УЛП). Исследование носило проспективный характер.

Условия проведения исследования

Исследование проводилось на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е. Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Трансплантация сердца была выполнена по классической бикавальной технологии. Изъятие сердца выполнялось стандартным методом с консервацией холодным кардиopleгическим раствором Bretschneider (Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Германия). В ряде случаев использовались донорские сердца из отдаленных регионов: Алтайский край, Кемеровская область.

Критерии соответствия

Критерии включения

Сердца от доноров возрастом до 60 лет. Отсутствие травмы грудной клетки, длительных гипотензии и гипоксемии, стабильная гемодинамика, среднее артериальное давление (САД) >60 мм рт. ст., центральное венозное давление (ЦВД) от 8 до 12 мм рт. ст., инотропная поддержка менее 10 мкг/кг/мин (допамин), электрокардиография (ЭКГ) и эхокардиография (эхо-КГ) без патологических изменений.

Критерии не включения

Возраст доноров младше 18 лет. Сложные нарушения ритма сердца, необходимость в чрезмерной инотропной поддержке (допамин в дозе 20 мкг/кг/мин или аналогичных дозах другими адренергическими препаратами несмотря на агрессивную оптимизацию пред- и постнагрузки), нарушения сократимости по данным эхокардиографии или фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) <40 %, несмотря на оптимизацию гемодинамики инотропными препаратами.

Критерии исключения

Прижизненный отказ пациента от изъятия внутренних органов.

Описание критериев соответствия (диагностические критерии)

Отбор доноров для участия в исследовании включал установление смерти головного мозга на основании клинической картины, результатов лабораторных и инстру-

ментальных исследований, которые проводились коллегиально в соответствии с Национальными рекомендациями и принятыми клиническими протоколами².

Подбор участников в группы

Подбор участников в группы проводился в соответствии с длительностью холодовой ишемии трансплантата, предстоящей операции. В первую группу вошли 10 случаев с холодовой ишемией трансплантата до 240 минут, во вторую группу — 7 случаев с холодовой ишемией трансплантата более 240 минут.

Целевые показатели исследования

Основной показатель исследования

В миокарде УЛП донорского сердца определяли характер патоморфологической перестройки в условиях различной длительности холодовой ишемии.

Дополнительные показатели исследования

Не предусмотрены.

Методы измерения целевых показателей

В условиях операционного блока во время проведения основного этапа операции забирались образцы миокарда ушка левого предсердия донорского сердца после холодовой ишемии раствором Bretschneider (Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Германия). Фиксацию кусочков миокарда, его гистологическую проводку и последующую окраску гематоксилином-эозином проводили в соответствии с имеющимися рекомендациями. Изучение изготовленных микропрепаратов выполняли на универсальном микроскопе Axio Scope.A1 (Zeiss, Германия), оснащенном анализатором и поляризатором, с фотокамерой AxioCam MRc5 (Zeiss, Германия) и программным обеспечением ZEN blue (Zeiss, Германия). Окрашивание срезов миокарда для проведения иммуногистохимического анализа осуществляли согласно имеющимся предложениям фирмы производителя антител и эталонам, изложенным в руководствах по иммуногистохимическим исследованиям [15]. Срезы депарафинизировали, демаскировку антигенов тканей проводили в PT Link модуле (DAKO, Дания) в цитратном буфере (pH 6,0) при температуре 95 °C в течение 60 минут. Блокировку эндогенной пероксидазы выполняли 3 % раствором H₂O₂ с последующим протеиновым блоком сывороткой. Далее полученные срезы инкубировали с антителами к Actin, Muscle Specific Ab-4 (NHF35); к Desmin 43/GJA1 (клон D33, mouse monoclonal, DAKO, Дания). Для иммунного окрашивания использовали полимерную систему детекции с пероксидазной меткой (EnVision FLEX, DAKO, Дания). На заключительном этапе выполняли докрасшивание ядер клеток гематоксилином.

Морфометрия осуществлялась с применением программы «ImageJ 1,48v» (США). При анализе содержания актина, десмина площадь DAB-позитивных продуктов иммуногистохимической реакции оценивали как процент площади изображения. Объемная плотность (Vv, %) иммуногистохимически выявляемого

² Министерство здравоохранения Российской Федерации. Приказ от 25 декабря 2014 г. № 908н «О порядке установления диагноза смерти мозга человека».

актина и десмина определялась по 20 изображениям с увеличением 40×10 . Для изучения интенсивности степени иммунной реакции использовали полуколичественный метод: (+/+++ с подсчетом числа клеток в случайно выбранных 25 полях зрения (100%): (–) отсутствие окрашивания; (+) слабая — при окрашивании только цитоплазмы клеток; (++) умеренная — при окрашивании цитоплазмы клеток и очаговом окрашивании внеклеточных компонентов <50%); (+++) выраженная экспрессия — при окрашивании как цитоплазмы клеток, так и большей части внеклеточных компонентов, >50% (Ю. В. Лискова (2018)) [17]. Типы контрактурных повреждений миокарда оценивали методом поляризации микроскопии [18].

Переменные (предикторы, конфаундеры, модификаторы эффекта)

Искажающим фактором, способным самостоятельно влиять на результат исследования, могла являться предшествующая врожденная или приобретенная патология сердца. Данный фактор был нивелирован на этапе формирования выборки за счет внесения их в состав критериев не включения.

Статистические процедуры

Принцип расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Статистические методы

Статистический анализ полученных результатов проведен с использованием пакета статистических программ Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., США). Количественные переменные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Ме [Q1; Q3], качественные переменные — в виде частоты встречаемости и/или процентного отношения. Межгрупповое сравнение показателей производили по критерию Манна — Уитни или с помощью точного критерия Фишера. Значение $p < 0,05$ считали статистически значимым для всех видов анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Формирование выборки исследования

Для проведения исследования были сформированы две группы: первая группа — 10 случаев с холодовой ишемией трансплантата до 240 минут — 140 [140; 150] минут и вторая группа — 7 случаев с холодовой ишемией трансплантата более 240 минут — 375 [245; 375] минут ($p = 0,05$) (рис. 1).

Характеристики выборки (групп) исследования

Пациенты, включенные в первую и вторую группы, были сопоставимы по среднему возрасту и антропометрическим показателям. Средний возраст в 1-й группе составлял 50 [44; 59] лет, во 2-й группе — 50 [49; 50] лет, $p = 0,193$. Средний индекс массы тела (ИМТ) в 1-й группе был 25 [22; 27] и во 2-й группе 25 [21; 31], $p = 0,288$. В обеих группах отмечено преобладание пациентов мужского пола: 1-я группа 8 (80%) и 2-я группа 6 (85,7%) человек, $p = 0,256$.

Основные результаты исследования

В исследовании материала, взятого у пациентов первой группы, в препаратах миокарда УЛП, окрашенных гематоксилином и эозином, в строме определялись характерные черты фрагментации отдельных мышечных волокон и признаки неравномерного полнокровия сосудов с умеренно выраженным межмышечным отеком, зонами эритроцитарных сладжей в сосудах микроциркуляторного русла. Отмечался спазм мелких артерий с расширением и полнокровием вен. В части сосудов встречали палочковидное удлинение эндотелиоцитов. В целом большая часть кардиомиоцитов сохраняла правильное строение со слабовыраженным признаком неравномерного оксифильного окрашивания, характерного для клеток с контрактурой миофибрилл (рис. 2).

Использование метода поляризационно-микроскопического исследования показало наличие контрактурных изменений в мышечных клетках УЛП как 1-й, так и 2-й

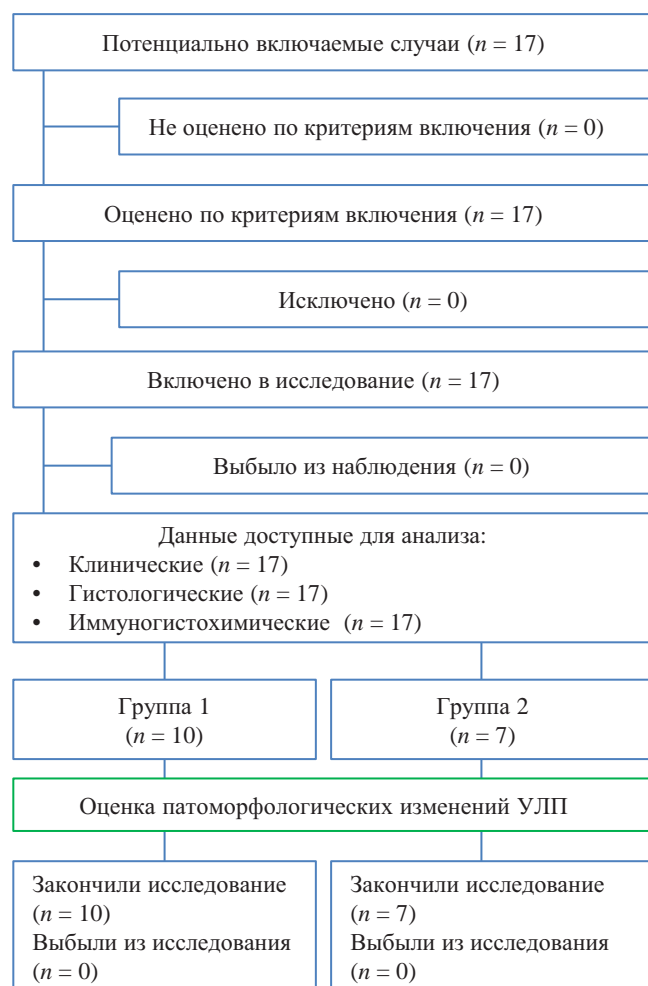


Рис. 1. Блок-схема дизайна проведенного исследования
Примечание: блок-схема выполнена авторами (согласно рекомендациям STROBE). Сокращение: УЛП — ушко левого предсердия донорского сердца.

Fig. 1. Block diagram of the study design

Note: the block diagram was created by the authors (as per STROBE recommendations). Abbreviation: УЛП — left atrial appendage of the donor heart.

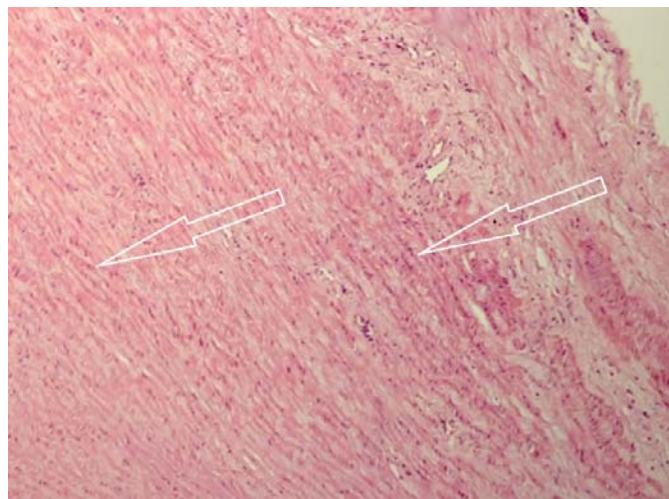


Рис. 2. Пациенты 1-й группы: холодовая ишемия трансплантата до 240 минут. Неравномерность эозинофильной окраски миокарда левого предсердия (отмечено стрелками). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

Примечание: фотография выполнена авторами.

Fig. 2. Group 1 patients: cold ischemia of the transplant lasting up to 240 minutes. Uneven eosinophilic staining of the left atrial myocardium (marked by arrows). Hematoxylin and eosin staining, $\times 200$

Note: the photograph was taken by the authors.

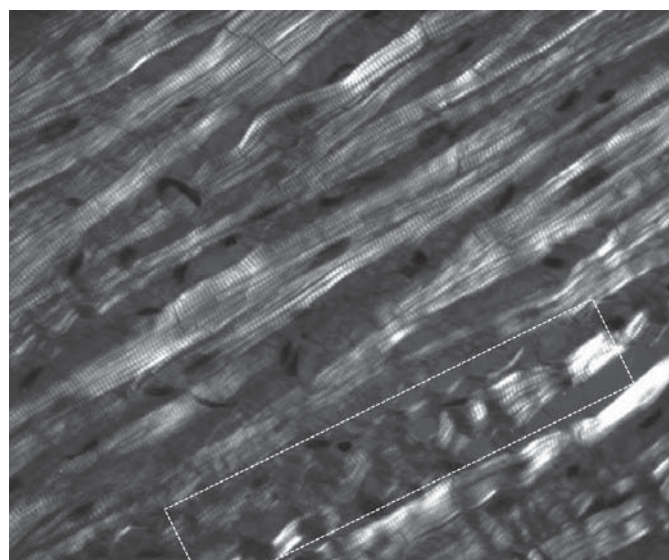


Рис. 3. Пациенты 1-й группы: холодовая ишемия трансплантата до 240 минут. Контрактуры миофибрилл I–II степени (выделено фигурой). Поляризационная микроскопия. Увеличение $\times 630$

Примечание: фотография выполнена авторами.

Fig. 3. Group 1 patients: cold ischemia of the transplant lasting up to 240 minutes. Class I–II myofibril contractures. Polarization microscopy (highlighted rectangle), $\times 630$

Note: the photograph was taken by the authors.

группы. В основном такие изменения не превышали уровня субсегментарных (сокращения отдельных групп саркомеров миофибрилл кардиомиоцитов) и сегментарных контрактур I–II степени (которая захватывают всю мышечную клетку) и характеризовались усилением анизотропии диска А, саркомеров с укорочением различной степени изотропных I дисков (рис. 3). Кардиомиоциты со слившимися между собой дисками А в виде гомогенной анизотропии (контрактура III степени) были единичные в обеих группах.

При исследовании экспрессии актина и десмина было выявлено, что большая часть мышечных клеток разделена между собой вставочными дисками с четкими очертаниями и сохранением интенсивной околосаркомерной активности в виде проявившегося в ходе проведения иммуногистохимической реакции темно-коричневого окрашивания. В целом цитоплазма была однородного светло-коричневого цвета с усилением интенсивности реакции в области Z-полос (рис. 4 А, Б). Сохранение равномерного окрашивания актина и десмина в КМЦ как в самой цитоплазме, так и в области вставочных дисков, характеризующих как цитоскелет саркомера, так и внесаркомерный цитоскелет, ассоциированный с сарколеммой, свидетельствует о достаточной защищенности миокарда при длительной его ишемии. При незащищенном миокарде длительная ишемия приводит к диссоциации актинового цитоскелета от мембраны кардиомиоцита, после чего наступает дегенерация и апоптоз клеток, которого в нашем исследовании не наблюдалось.

При гистологическом исследовании в материале, взятом у пациентов 2-й группы при холодовой ишемии миокарда более 240 минут, наблюдалось некоторое расширение околососудистых пространств с отеком стенок интрамуральных артерий с сохранением в части из них паретических изменений с полнокровием и расширением просвета венозного русла. В части артерий отмечались спастические изменения с сужением их просвета, эндотелиальная выстилка сохраняла свою целостность. В сосудах микроциркуляторного русла местами отмечались эритроцитарные сладжи. Мышечные волокна в основном были однородны по диаметру со слабо выраженным неравномерным оксифильным окрашиванием КМЦ, только местами появлялись отдельные волокна с их истончением и волнообразностью контура. В кардиомиоцитах встречался цитоплазматический отек, который сопровождался неравномерной ее окрашенностью. Наряду с контрактурными изменениями мышечных клеток в поляризованном свете, которые не превышали уровня субсегментарных и сегментарных контрактур I–II степени, фиксировался другой вид изменений кардиомиоцитов — внутриклеточный миоцитоллизис. Он характеризовался ослаблением анизотропии дисков А или отсутствием анизотропных структур в пределах отдельных мышечных клеток за счет исчезновения той или иной части миофибрилл. Сохранившиеся миофибриллы выступали в виде слабых анизотропных включений (рис. 5).

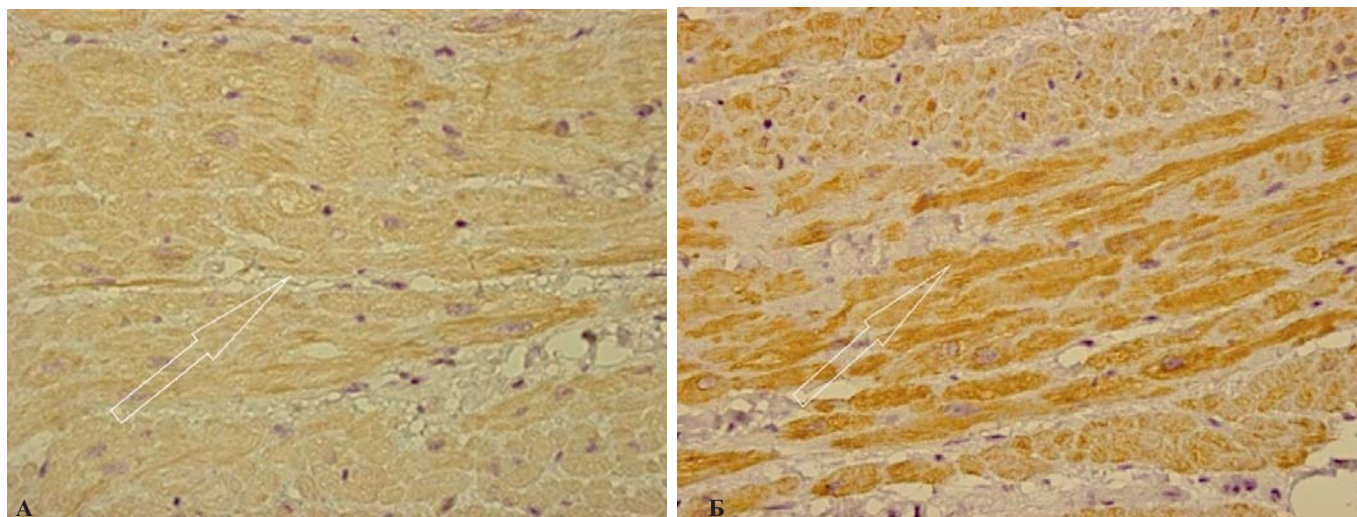


Рис. 4. Пациенты 1-й группы: холодовая ишемия трансплантата до 240 минут. Равномерное иммуногистохимическое окрашивание актина (А) (отмечено стрелкой) и десмина (Б) (отмечено стрелкой) в кардиомиоцитах. Иммуногистохимическое исследование. Увеличение $\times 400$

Примечание: фотографии выполнены авторами.

Fig. 4. Group 1 patients: cold ischemia of the transplant lasting up to 240 minutes. Uniform immunohistochemical staining of actin (A) and desmin (B) (marked by arrows) in cardiomyocytes. Immunohistochemical study, $\times 400$

Note: the photographs were taken by the authors.

При иммуногистохимическом исследовании экспрессия актина и десмина в виде реакции светло-коричневого окрашивания цитоплазмы кардиомиоцитов в целом не изменилась, а в части участков несколько увеличилась. В некоторых полях зрения было зарегистрировано уменьшение вставочных дисков с появлением в некоторых из них деформаций в виде «ломаной полосы», местами отмечались легкая размытость поперечной исчерченности и умеренные изменения структуры цитоплазмы мышечных клеток (рис. 6 А, Б).

Таким образом, проведенный иммуногистохимический анализ, направленный на изучение экспрессии актина и десмина, показал, что в обеих исследуемых группах кардиомиоциты УЛП имеют однородную реакцию окрашивания светло-коричневого цвета с резкими ее перепадами до темно-коричневого цвета в местах вставочных дисков мышечных клеток и на протяжении всего мышечного волокна в области Z-полос.

В разные временные промежутки холодовой ишемии (до 240 минут и более 240 минут) в миокарде прослеживается достаточно стабильная морфологическая динамика уровня экспрессии актина и десмина по показателю объемной плотности. Проведенное определение данного показателя в срезах миокарда УЛП в сравнении 1-й и 2-й групп показало его небольшое, но статистически значимое увеличение во 2-й группе: десмина в 1,13 раза, актина в 1,07 раза (табл.), которое может быть связано с продолжающимся набуханием мышечных клеток вследствие появления лизисных изменений миофибрилл, а также с отсутствием клеточно-интерстициального обмена при тотальной холодовой ишемии миокарда. При сравнении двух групп холодовой ишемии (до 240 минут и более 240 минут) по уровню интенсивности экспрессии актина

и десмина морфологическая динамика была противоположна. Если показатель иммуногистохимически выявляемого актина и десмина увеличивался одновременно, то значение показателя интенсивности экспрессии по ним носило разнонаправленный характер. Интенсивность экспрессии десмина уменьшалась в 1,6 раза за счет увеличения КМЦ со слабым уровнем интенсивности. Напротив, интенсивность экспрессии актина увеличивалась

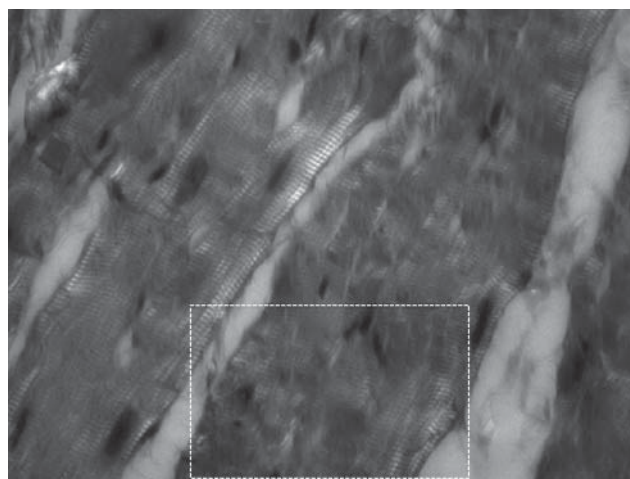


Рис. 5. Пациенты 2-й группы: холодовая ишемия трансплантата более 240 минут. Очаги миоцитолизиса (обозначено фигурой). Поляризационная микроскопия. Увеличение $\times 630$

Примечание: фотографии выполнены авторами.

Fig. 5. Group 2 patients: cold ischemia of the transplant lasting over 240 minutes. Foci of myocytolysis (highlighted rectangle). Polarization microscopy, $\times 630$

Note: the photographs were taken by the authors.

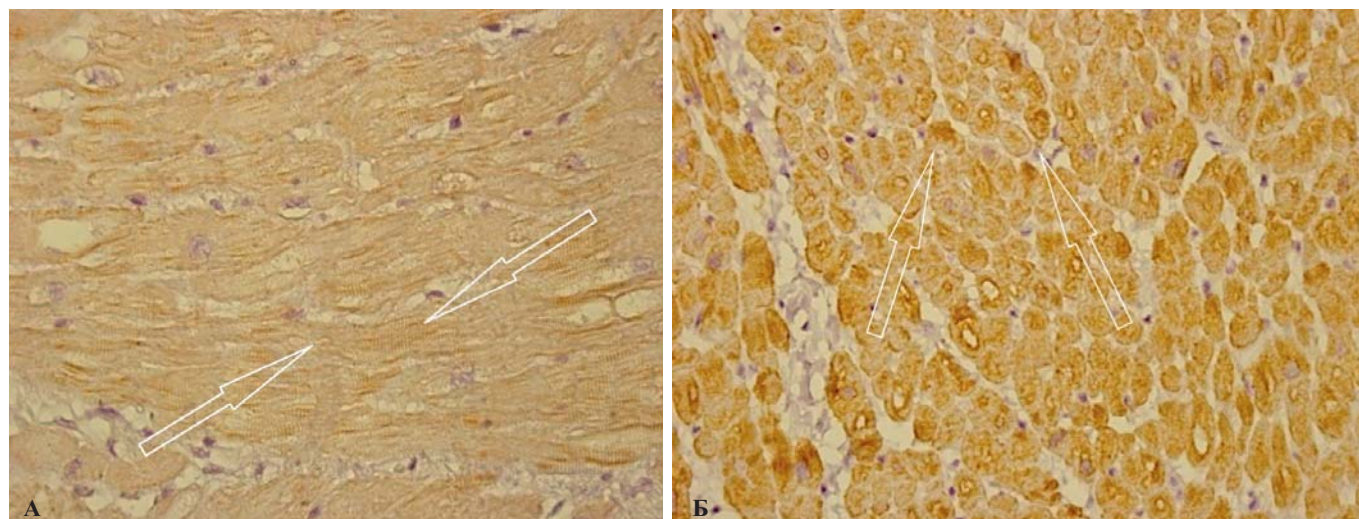


Рис. 6. Пациенты 2-й группы: холодовая ишемия трансплантата более 240 минут. Неравномерное иммуногистохимическое окрашивание актина (А) (обозначено стрелками) и десмина (Б) (обозначено стрелками) в кардиомиоцитах. Иммуногистохимическое исследование. Увеличение $\times 400$

Примечание: фотографии выполнены авторами.

Fig. 6. Group 2 patients: cold ischemia of the transplant lasting over 240 minutes. Uneven immunohistochemical staining of actin (A) (indicated by arrows) and desmin (B) (indicated by arrows) in cardiomyocytes. Immunohistochemical study, $\times 400$

Note: the photographs were taken by the authors.

Таблица. Объемная плотность, интенсивность экспрессии кардиомиоцитами ушка левого предсердия актина и десмина у пациентов с холодовой ишемией миокарда до 240 минут (1-я группа) и более 240 минут (2-я группа)
Table. Volume density of actin and desmin and their expression intensity in the cardiomyocytes of left atrial appendage in patients with cold myocardial ischemia lasting up to 240 minutes (Group 1) and over 240 minutes (Group 2)

Показатель	1-я группа (n = 10)	2-я группа (n = 7)
Иммуногистохимические показатели миокарда УЛП		
Десмин, Vv, %	73 [69; 76]	83* [79; 86]
Десмин, интенсивность экспрессии (%)	+ / + / + / + / + 1/68/31	+ / + / + / + / + 39/58/3
Актин, Vv, %	78 [74; 81]	84* [69; 76]
Актин, интенсивность экспрессии (%)	+ / + / + / + / + 35/52/13	+ / + / + / + / + 4/78/18

Примечания: таблица составлена авторами; * — отличия от соответствующих значений между группами ($p < 0,05$); + / + / + / + / + — слабая/умеренная/выраженная интенсивность экспрессии; Vv — объемная плотность структур.

Notes: the table was compiled by the authors; * — differences in the corresponding values between the groups ($p < 0.05$); + / + / + / + / + — weak/moderate/strong expression intensity; Vv — volume density.

в 1,5 раза за счет увеличения КМЦ с умеренным и выраженным уровнем интенсивности иммуногистохимической реакции (табл. 1). Такое разнонаправленное изменение показателя интенсивности экспрессии изучаемых клеточных белков может быть связано для актина с сократительной структурой мышечной клетки — саркомером, являющимся основной структурной единицей сердечной мышцы и играющим важную роль в эффективной регуляции сердечного ритма и поддержания гемодинамики, а для десмина — с участием только компартментов вне саркомерного цитоскелета, обеспечивающих физическую поддержку и структурную целостность клеток сердца.

Дополнительные результаты исследования

Дополнительные результаты в ходе исследования не получены.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

Комплексный морфологический подход к оценке состояния сердечной мышцы ушка левого предсердия показал стабильность экспрессии актина и десмина у пациентов с холодовой ишемией миокарда до 240 минут и более 240 минут. Развивающиеся структурные изменения в виде контрактур не превышали I–II степени. Лизисные изменения отмечены в отдельных КМЦ пациентов второй группы.

Ограничения исследования

Результаты настоящего исследования были получены на небольших выборках пациентов. Для дальнейшего развития выполненной работы необходимо проведение исследования с большим объемом выборки.

Интерпретация результатов исследования

Изучению характера клеточного ответа при повреждении молекулярных структур клетки, реализующих взаимодействие ее мембраны с внутриклеточными элементами, входящими в структуру цитоскелета, посвящен ряд научных работ [19–22]. Структура кардиомиоцитов, включая порядок положения в ней клеточных белков, строго детерминирована. Клеточные белки обладают полифункциональностью, выполняя различные функции и взаимодействуя с различными структурами внеклеточного и внутриклеточного пространства. Это позволяет им обеспечивать сохранность клетки и ее стабильную работу в течение сердечных циклов. Взаимодействуя с компонентами внеклеточной матрицы, клеточные белки обеспечивают механическую прочность и поддержку клеток, помогают в формировании и стабилизации тканевых структур. Внутри клетки белки взаимодействуют с различными органеллами, тем самым осуществляют регуляцию клеточного обмена веществ, энергетического обеспечения клетки, транспорта и сортировки белков, а также сигнальных путей внутри клетки [21–26]. В литературных источниках заболевания сердца, при которых прослеживаются повреждения структуры мышечных клеток, представлены большей частью кардиомиопатиями [23]. Использование иммуногистохимического метода в диагностике повреждения молекулярных структур клетки позволяет оценить как динамику изменения их количества, так и степень целостности кардиомиоцитов.

Изучение экспрессии актина и десмина при исследовании миокарда в условиях холодовой ишемии показало ее разнонаправленность по группам. Интенсивность экспрессии десмина с увеличением длительности ишемии уменьшалась (по балльной шкале оценки достоверно увеличивалась группа с характеристикой в один балл) (табл. 1). Достоверное снижение экспрессии десмина при различных формах ишемического повреждения миокарда отмечено во многих исследованиях.

Ишемическое повреждение миокарда приводит к нарушению кровоснабжения сердца и последующей гибели кардиомиоцитов. Это может вызывать изменение экспрессии разных белков, включая десмин. Исследования, использующие методы иммуногистохимии, иммуноблоттинга и другие методы, также подтверждают, что при ишемическом повреждении миокарда происходит снижение экспрессии десмина, что связано с активацией патологических сигнальных путей, изменением генной экспрессии и другими механизмами. Снижение экспрессии десмина при ишемическом повреждении миокарда имеет важные последствия для структуры и функции сердечной мышцы. В таких условиях уменьшение уровня десмина приводит к нарушению целостности клеток, дезорганизации саркомеров и других структурных компонентов. Однако

необходимо отметить, что характер и степень изменения экспрессии десмина могут различаться в разных стадиях и формах ишемического повреждения миокарда. Так, И.В. Заднипрный и др. (2017) указывают на достоверное снижение экспрессии десмина при различных формах ишемического повреждения миокарда, но при этом отмечают гетерогенность его присутствия на различных участках: от полного отсутствия реакции кардиомиоцитов на десмин до ее усиления в области Z-полос и вставочных дисков [27].

Наше исследование при длительной тотальной ишемии миокарда УЛП в условиях холодовой ишемии также показало разную интенсивность экспрессии в обеих группах, но при этом участков полного отсутствия реакции на десмин не было. Интенсивность экспрессии актина в отличие от десмина увеличивалась у пациентов 2-й группы (табл. 1) и была неравномерной. Учитывая, что в условиях холодовой тотальной ишемии миокарда восстановление поврежденных миофибрилл путем активации синтетических процессов невозможно, следует предположить иной механизм усиления экспрессии актина, связанный с повышением доступности реактивных групп в актиновых нитях в условиях денатурации белков при развитии смешанных повреждений в виде контрактур и миоцитолитиса [19]. Возможно, это связано и с включением дополнительных рецепторов при фрагментации контрактур, спирально скрученных актиновых нитей в очагах пересокращения и перерастяжения миофибрилл.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование выявило, что холодовая ишемия миокарда раствором Bretschneider вследствие наличия в его составе сбалансированных компонентов, обуславливающих метаболическую защиту клеток и их ионный баланс, позволяет обеспечить эффективную защиту донорского сердца в условиях его транспортировки с временем ишемии миокарда продолжительностью как до 240 мин, так и более 240 мин. Комплексный морфологический подход к оценке состояния сердечной мышцы ушка левого предсердия у пациентов с холодовой ишемией миокарда до 240 минут и более, включающий применение световой, поляризационной микроскопии, а также иммуногистохимического исследования, показал стабильность экспрессии актина и десмина в миокарде, что указывает на обратимость структурных изменений в виде развития контрактур не более I–II степени. Появление лизисных изменений в отдельных КМЦ только во второй группе, сохранение экспрессии актина и десмина в обеих группах при их средней интенсивности в обеих группах позволяет судить о достаточно высокой степени сохранности их макромолекулярной структуры для восстановления адекватной сердечной деятельности после трансплантации сердца.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Готье С.В. Инновации в трансплантологии: развитие программы трансплантации сердца в Российской Федерации. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2017;21(3S):61–68. <https://doi.org/10.21688/1681-3472-2017-3S-61-68>
- Gautier SV. Innovations in transplantology: heart transplantation program development in Russian Federation. *Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2017;21(3S):61–68 (In Russ.). <https://doi.org/10.21688/1681-3472-2017-3S-61-68>
- Попцов В.Н., Захаревич В.М., Спирина Е.А., Колоскова Н.Н., Пчельников В.В., Хатуцкий В.М., Скокова А.И., Фомичев А.В., Алиев Э.З., Боронова В.В., Березняк А.В., Солодовникова А.К. Периперационный период при трансплантации с экстремально длительным (более 6 часов) сроком ишемии донорского сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022;24(3):64–73. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2022-3-64-73>
- Poptsov VN, Zakharevich VM, Spirina EA, Koloskova NN, Pchel-nikov VV, Khatutskii VM, Skokova AI, Fomichev AV, Aliev EZ, Bo-ronova VA, Bereznayak AV, Solodovnikova AK. Perioperative peri-od in heart transplantation with extremely prolonged ischemic times (>6 hours). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2022;24(3):64–73 (In Russ.). <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2022-3-64-73>
- Тенчурина Э.А., Минина М.Г. Современные представления о критериях селекции доноров сердца. *Вестник транспланто-логии и искусственных органов*. 2020;22(3):174–181. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-3-174-181>
- Tenchurina EA, Minina MG. Modern ideas in heart donor selection criteria. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2020;22(3):174–181 (In Russ.). <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-3-174-181>
- Kuprytė M, Lesauskaitė V, Keturakis V, Bunevičienė V, Utkienė L, Jusienė L, Pangonytė D. Remodeling of Cardiomyocytes: Study of Morphological Cellular Changes Preceding Symptomatic Ischemic Heart Failure. *Int J Mol Sci*. 2023;24(19):14557. <https://doi.org/10.3390/ijms241914557>
- Singh SR, Kadioglu H, Patel K, Carrier L, Agnetti G. Is Desmin Propen-sity to Aggregate Part of its Protective Function? *Cells*. 2020;9(2):491. <https://doi.org/10.3390/cells9020491>
- Charrier EE, Montel L, Asnacios A, Delort F, Vicart P, Gallet F, Bat-tonnet-Pichon S, Hénon S. The desmin network is a determinant of the cytoplasmic stiffness of myoblasts. *Biol Cell*. 2018;110(4):77–90. <https://doi.org/10.1111/boc.201700040>
- Even C, Abramovici G, Delort F, Rigato AF, Bailleux V, de Sousa Moreira A, Vicart P, Rico F, Battonnet-Pichon S, Briki F. Mutation in the Core Structure of Desmin Intermediate Filaments Affects Myoblast Elasticity. *Biophys J*. 2017;113(3):627–636. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.06.020>
- Agnetti G, Herrmann H, Cohen S. New roles for desmin in the mainte-nance of muscle homeostasis. *FEBS J*. 2022;289(10):2755–2770. <https://doi.org/10.1111/febs.15864>
- Hnia K, Ramspacher C, Vermot J, Laporte J. Desmin in muscle and associated diseases: beyond the structural function. *Cell Tissue Res*. 2015;360(3):591–608. <https://doi.org/10.1007/s00441-014-2016-4>
- Соколова О.В. Судебно-медицинская характеристика метаболиче-ских повреждений миокарда, влияющих на сократительную спо-собность сердца в случаях смерти от алкогольной кардиомиопатии. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2021;64(5):27–31. <https://doi.org/10.17116/sudmed20216405127>
- Sokolova OV. Forensic medical characteristics of metabolic myocardial lesions affecting cardiac contractile ability in cases of death from alcohol-ic cardiomyopathy. *Sudebno-Meditsinskaya Ekspertiza*. 2021;64(5):27–31 (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/sudmed20216405127>
- Kiss B, Röhlich P, Kellermayer MS. Structure and elasticity of desmin protofibrils explored with scanning force microscopy. *J Mol Recognit*. 2011;24(6):1095–1104. <https://doi.org/10.1002/jmr.1158>
- Kreplak L, Herrmann H, Aebi U. Tensile properties of single desmin intermediate filaments. *Biophys J*. 2008;94(7):2790–2799. <https://doi.org/10.1529/biophysj.107.119826>
- Фомичев А.В., Попцов В.Н., Сирота Д.А., Жульков М.О., Едем-ский А.Г., Протопопов А.В., Кливер В.Е., Скокова А.И., Черняв-ский А.М., Хван Д.С., Агаева Х.А. Среднесрочные и отдален-ные результаты трансплантации сердца с длительной холодовой ишемией. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2023;25(1):99–105. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2023-1-99-105>
- Fomichev AV, Poptsov VN, Sirota DA, Zhulkov MO, Edemskiy AG, Protopopov AV, Kliver VY, Skokova AI, Chernyavskiy AM, Khvan DS, Agayeva KA. Mid-term and long-term outcomes following heart transplantation with prolonged cold ischemia. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2023;25(1):99–105. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2023-1-99-105>
- Соколова О.В., Ягмуров О.Д., Насыров Р.А. Судебно-медицинская оценка морфологических изменений в миокарде, влияющих на его сократительную способность в случаях смерти от алкогольной кардиомиопатии. *Педиатр*. 2018;9(1):23–28. <https://doi.org/10.17816/PED9123-28>
- Sokolova OV, Yagmurov OD, Nasyrov RA. Forensic medical assess-ment of morphological changes in the myocardium, affecting its con-tractile capacity in cases of death from alcoholic cardiomyopathy. *Pe-diatr*. 2018;9(1):23–28 (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/PED9123-28>
- Савченко С.В., Новоселов В.П., Морозова А.С., Скребов П.В., Гри-цингер В.А., Агеева Т.А., Айдагулова С.В., Ершов К.И., Воронина Е.И. Оценка выраженности экспрессии коннексина 43 в миокарде при острой ишемии в эксперименте. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2017;21(1):81–90. <https://doi.org/10.21688/1681-3472-2017-1-81-90>
- Savchenko SV, Novoselov VP, Morozova AS, Skrebov RV, Grizinger VA, Ageeva TA, Aidagulova SV, Erschov K.I., Voronina E.I. Assessment of the severity of connexin 43 expression in the myocardium in acute ischemia in experiment. *Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2017;21(1):81–90 (In Russ.). <https://doi.org/10.21688/1681-3472-2017-1-81-90>
- Chu P, Weiss L. *Modern Immunohistochemistry*. P. Chu, L. Weiss, edi-tors. 2016. <https://doi.org/10.1017/cbo9781316167366>
- Лискова Ю.В. Патогенетическая и прогностическая значимость молекулярных маркеров ремоделирования миокарда у пациентов, страдающих хронической сердечной недостаточностью. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2018;20(1):19–23. <https://doi.org/10.17816/brmmal2195>
- Liskova YV. Pathogenetic and prognostic significance of molecular markers of myocardial remodeling in patients suffering from chron-ic heart failure. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2018;20(1):19–23. <https://doi.org/10.17816/brmmal2195>
- Nepomnyashchikh LM, Zimmermann VG. Prenecrotic contracture damage in cardiomyocytes: photochemical fluorochrome staining and fluorescent microscopy of the myocardium. *Bull Exp Biol Med*. 2001;132(3):907–913. <https://doi.org/10.1023/a:1013147524226>
- Колыбаева С.Н., Качнов В.А., Тынченко В.В., Чирский В.С., Они-ценко Л.С., Ермилова И.В., Протасов О.В., Бунтовская А.С., Мя-кошина Л.А., Елисеева М.И. Морфологические особенности мио-карда при внезапной сердечной смерти. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова*. 2020;15(3):31–35. <https://doi.org/10.25881/BPNMSC.2020.40.75.006>
- Kolyubaeva SN, Kachnov VA, Tyrenko VV, Chirsky VS, Protasov OV, Onishchenko LS, Buntovskaya AS, Myakoshina LA, Ermilova IV, Eli-seeva MI. A study of the morphological features of the heart muscle in sudden cardiac death. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo Tsentra im. N.I. Pirogova*. 2020;15(3):31–35 (In Russ.). <https://doi.org/10.25881/BPNMSC.2020.40.75.006>
- Деев Р.В., Билялов А.И., Жампеисов Т.М. Современные представ-ления о клеточной гибели. *Гены и Клетки*. 2018;13(1):8–19. <https://doi.org/10.23868/201805001>
- Deev RV, Bilyalov AI, Zhampeisov TM. Modern ideas about cell death. *Geny i Kletki*. 2018;13(1):8–19 (In Russ.). <https://doi.org/10.23868/201805001>
- Савченко С.В., Новоселов В.П., Скребов П.В., Гребенщикова А.С., Грицингер В.А., Агеева Т.А., Воронина Е.И., Казанская Г.М., Ов-сянко Е.В. Оценка изменений белков миокарда при острой ишемии по данным иммуногистохимического исследования. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2019;3:95–104. <https://doi.org/10.31549/2542-1174-2019-3-95-104>

- Savchenko SV, Novoselov VP, Skrebov RV, Grebenshchikova AS, Gritsinger VA, Ageeva TA, Voronina EI, Kazanskaya GM, Ovsyanko EV. Evaluation of protein changes of the myocardium in acute ischemia according to the immunohistochemical study. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2019;3:95–104 (In Russ.). <https://doi.org/10.31549/2542-1174-2019-3-95-104>
22. Ammendolia DA, Bement WM, Brumell JH. Plasma membrane integrity: implications for health and disease. *BMC Biol*. 2021;19(1):71. <https://doi.org/10.1186/s12915-021-00972-y>
23. Herman DS, Lam L, Taylor MR, Wang L, Teekakirikul P, Christodoulou D, Conner L, DePalma SR, McDonough B, Sparks E, Teodorescu DL, Cirino AL, Banner NR, Pennell DJ, Graw S, Merlo M, Di Lenarda A, Sinagra G, Bos JM, Ackerman MJ, Mitchell RN, Murry CE, Lakdawala NK, Ho CY, Barton PJ, Cook SA, Mestroni L, Seidman JG, Seidman CE. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2012;366(7):619–628. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1110186>
24. Bär H, Strelkov SV, Sjöberg G, Aebi U, Herrmann H. The biology of desmin filaments: how do mutations affect their structure, assembly, and organisation? *J Struct Biol*. 2004;148(2):137–152. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2004.04.003>
25. Shi SR, Shi Y, Taylor CR, Gu J. New Dimensions of Antigen Retrieval Technique: 28 Years of Development, Practice, and Expansion. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(10):715–721. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000778>
26. Pantin-Jackwood MJ. Immunohistochemical Staining of Influenza Virus in Tissues. *Methods Mol Biol*. 2020;2123:29–36. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0346-8_3
27. Заднипрный И.В., Сатаева Т. П., Третьякова О.С. Морфологические маркеры нитритного повреждения миокарда в эксперименте. *Оперативная хирургия и клиническая анатомия*. 2017;1(2):7–12. <https://doi.org/10.17116/operhirurg2017127-12>
- Zadniyr yany IV, Sataeva TP, Tretyakova OS. Morphological markers for nitrite-induced myocardial damage in an experiment. *Russian Journal of Operative Surgery and Clinical Anatomy*. 2017;1(2):7–12 (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/operhirurg2017127-12>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Кливер Владислав Евгеньевич — младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела хирургии аорты, коронарных и периферических артерий Института патологии кровообращения федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации; аспирант кафедры патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0003-2245-1251>

Волков Александр Михайлович — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии Института экспериментальной биологии и медицины федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0001-9697-7091>

Надеев Александр Петрович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0003-0400-1011>

Фомичев Алексей Вячеславович — кандидат медицинских наук, врач сердечно-сосудистый хирург кардиохирургического отделения № 2 федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0001-9113-4204>

Сирота Дмитрий Андреевич — кандидат медицинских наук, заведующий отделом хирургии аорты, коронарных и перифери-

ческих артерий Института патологии кровообращения федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации; ассистент кафедры сердечно-сосудистой хирургии (факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-9940-3541>

Кливер Евгений Эдуардович — доктор медицинских наук, заведующий патолого-анатомическим отделением федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации; профессор кафедры патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-3915-3616>

Жульков Максим Олегович — кандидат медицинских наук, научный сотрудник научно-исследовательского отдела хирургии аорты, коронарных и периферических артерий Института патологии кровообращения федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0001-7976-596X>

Позднякова Светлана Васильевна — доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0003-2038-5131>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Vladislav E. Kliver — Research Assistant, Research Department of Surgery on Aorta, Coronary and Peripheral Arteries, Institute of Circulatory Pathology, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; postgraduate student, Anatomic Pathology Department, Novosibirsk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation

<https://orcid.org/0000-0003-2245-1251>

Alexander M. Volkov — Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Laboratory of Experimental Surgery and Morphology, Institute of Experimental Biology and Medicine, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation

<https://orcid.org/0000-0001-9697-7091>

Alexandr P. Nadeev — Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of Anatomic Pathology Department, Novosibirsk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0003-0400-1011>

Alexei V. Fomichev — Cand. Sci. (Med.), cardiovascular surgeon, Cardiac Surgery Department No 2, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0001-9113-4204>

Dmitry A. Sirota — Cand. Sci. (Med.), Head of Research Department of Surgery on Aorta, Coronary and Peripheral Arteries, Institute of Circulatory Pathology, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-9940-3541>

Evgeniy E. Kliver — Dr. Sci. (Med.), Head of Anatomic Pathology Department, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation; Prof., Anatomic Pathology De-

partment, Novosibirsk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-3915-3616>

Maksim O. Zhulkov — Cand. Sci. (Med.), Researcher, Research Department of Surgery on Aorta, Coronary and Peripheral Arteries, Institute of Circulatory Pathology, Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0001-7976-596X>

Svetlana V. Pozdnyakova — Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Prof. at Anatomic Pathology Department, Novosibirsk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0003-2038-5131>