

# ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ МОНОНУКЛЕАРНОГО ИНФИЛЬТРАТА В МИОКАРДЕ ПЕРЕСАЖЕННОГО СЕРДЦА. КОМПЬЮТЕРНАЯ МОРФОМЕТРИЯ

А. А. Славинский<sup>1\*</sup>, А. А. Веревкин<sup>1</sup>, А. С. Сотниченко<sup>1</sup>, Е. Д. Космачева<sup>1,2</sup>,  
Т. В. Ставенчук<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. им. Митрофана Седина, д. 4, г. Краснодар, 350063, Россия

<sup>2</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Научно-исследовательский институт — Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» Министерства здравоохранения Краснодарского края, ул. 1 Мая, д. 167, г. Краснодар, 350086, Россия

## Аннотация

**Цель.** Количественная иммунофенотипическая характеристика клеточных коопераций в мононуклеарном воспалительном инфильтрате миокарда при клеточной и гуморальной формах отторжения пересаженного сердца с применением компьютерной морфометрии для анализа эндомикардиальных биоптатов.

**Материалы и методы.** Эндомикардиальные биоптаты ( $n = 226$ ) получены от 56 реципиентов сердца, перенесших трансплантацию в 2018–2019 гг. Срезы толщиной 5 мкм после проводки в парафин окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическим стрептавидин-биотиновым методом определяли экспрессию маркеров Т-лимфоцитов CD3, В-лимфоцитов CD20 и макрофагов CD68. С помощью компьютерной морфометрии вычисляли коэффициент площади окрашивания (КПО) — процентное отношение суммарной площади окрашенных объектов к площади биоптата. Статистическая обработка результатов включала в себя проверку характера распределения методом Колмогорова — Смирнова, а также расчет критерия Крамера — Уэлча.

**Результаты.** Присутствие лимфоцитов и макрофагов обнаружено в воспалительном инфильтрате всех сердечных трансплантатов. Экспрессия маркера CD3 Т-лимфоцитов при отсутствии отторжения (0R) составила КПО =  $0,99 \pm 0,02\%$ , при степени отторжения 1R показатель возрастал в 2,1 раза ( $p < 0,05$ ), при 2R — в 3,4 раза ( $p < 0,05$ ), при 3R — в 5,5 раза ( $p < 0,05$ ), при гуморальном отторжении — в 4,8 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с 0R. Экспрессия маркера В-лимфоцитов CD20 при отсутствии отторжения характеризуется КПО =  $0,19 \pm 0,01\%$ , степень 1R — возрастанием показателя в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ), степень 2R — в 3,4 раза ( $p < 0,05$ ), 3R — в 4,4 раза ( $p < 0,05$ ), а при гуморальном отторжении — в 9,5 раза выше, чем при 0R ( $p < 0,05$ ). Величина CD68-позитивной области макрофагов при 0R была всего  $0,34 \pm 0,01\%$ , возрастала при степени 1R в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ), в 4,0 раза при 2R ( $p < 0,05$ ), в 9,6 раза при 3R ( $p < 0,05$ ), а при гуморальном отторжении — в 4,1 раза ( $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Клеточные кооперации в мононуклеарном воспалительном инфильтрате сердечного трансплантата характеризуются преобладанием Т-лимфоцитов как при клеточном, так и при гуморальном отторжении. Экспрессия В-лимфоцитарного маркера наиболее выражена при антитело-опосредованной форме. Максимальное присутствие

макрофагов в инфильтрате характеризует тяжелое клеточное отторжение. По мере возрастания тяжести клеточного отторжения относительное содержание в инфильтрате В-лимфоцитов и макрофагов увеличивается.

**Ключевые слова:** эндомикардиальная биопсия, мононуклеарный инфильтрат, отторжение трансплантированного сердца, компьютерная морфометрия

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Славинский А.А., Веревкин А.А., Сотниченко А.С., Космачева Е.Д., Ставенчук Т.В. Иммуногистохимический профиль мононуклеарного инфильтрата в миокарде пересаженного сердца. Компьютерная морфометрия. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2020; 27(2): 92–101. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2020-27-2-92-101>

Поступила 16.01.2020

Принята после доработки 05.03.2020

Опубликована 28.04.2020

# IMMUNOHISTOCHEMICAL PROFILE OF MONONUCLEAR INFILTRATE IN THE MYOCARDIUM OF TRANSPLANTED HEART. COMPUTER MORPHOMETRY DATA

Aleksandr A. Slavinsky<sup>1,\*</sup>, Aleksandr A. Verevkin<sup>1</sup>, Aleksandr S. Sotnichenko<sup>1</sup>,  
Elena D. Kosmacheva<sup>1,2</sup>, Tat'yana V. Stavenchuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Kuban State Medical University,  
Mitrofanina Sedina str., 4, Krasnodar, 350063, Russia*

<sup>2</sup> *S.V. Ochapovsky Regional Clinical Hospital No 1,  
1 Maya str., 167, Krasnodar, 350086, Russia*

## Abstract

**Aim.** To carry out a quantitative immunophenotypic characterisation of cellular corporations in a mononuclear inflammatory myocardial infiltrate in the cell and humoral forms of heart transplant rejection using the computer morphometry of endomyocardial biopsy samples.

**Materials and methods.** Endomyocardial biopsy samples (n = 226) were obtained from 56 heart recipients who underwent transplantation in 2018–2019. Sections with a thickness of 5 µm after the paraffin infiltration were stained with hematoxylin and eosin according to the standard procedure. The expression of CD3 T-lymphocyte, CD20 B-lymphocyte and CD68 macrophage markers was determined by the immunohistochemical streptavidin-biotin method. Using computer morphometry, the staining area coefficient (SAC) was calculated as the percentage of the total area of the stained objects to the area of the biopsy. The statistical processing of the results included verification of the distribution nature by the Kolmogorov-Smirnov method and the calculation of the Cramer — Welch criterion.

**Results.** Lymphocytes and macrophages were found in the inflammatory infiltrate of all heart transplants. The expression of CD3 T-lymphocyte marker in the absence of rejection (0R) was at SAC = 0.99 ± 0.02%. In comparison with 0R cases, this coefficient increased 2.1 times (p < 0.05), 3.4 times (p < 0.05), 5.5 times (p < 0.05) and 4.8 times (p < 0.05) in 1R, 2R, 3R and humoral rejection, respectively. The expression of the CD20 B-lymphocyte marker in 0R cases was characterised by SAC = 0.19 ± 0.01%. In comparison with 0R cases, this coefficient increased 2.7 times (p < 0.05), 3.4 times (p < 0.05), 4.4 times (p < 0.05) and 9.5 times (p < 0.05) in 1R, 2R, 3R and humoral rejection, respectively. The value of the CD68-positive macrophage region for 0R was only 0.34 ± 0.01%. This parameter increased 2.7 times (p < 0.05), 4.0 times (p < 0.05), 9.6 times (p < 0.05) and 4.1 times (p < 0.05) in 1R, 2R, 3R and humoral rejection, respectively.

**Conclusion.** Cellular corporations in the mononuclear inflammatory infiltrate of transplanted heart are characterised by the predominance of T-lymphocytes in the cases of both cellular and humoral rejection. The expression of the B-lymphocyte marker is most pronounced in an antibody-mediated form. The maximum presence of macrophages in the infiltrate characterises severe cell rejection. An increase in the severity of cell rejection leads to an increase in the relative content of B-lymphocytes and macrophages in the infiltrate.

**Keywords:** endomyocardial biopsy, mononuclear infiltrate, transplant rejection, computer morphometry

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Slavinsky A.A., Verevkin A.A., Sotnichenko A.S., Kosmacheva E.D., Stavenchuk T.V. Immunohistochemical profile of mononuclear infiltrate in the myocardium of transplanted heart. Computer morphometry data. *Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik*. 2020; 27(2): 92–101 (In Russ., English abstract). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2020-27-2-92-101>

Submitted 16.01.2020

Revised 05.03.2020

Published 28.04.2020

## Введение

Трансплантация сердца — наиболее эффективный метод лечения пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью. Отторжение трансплантированного сердца существенно ограничивает продолжительность и качество жизни реципиентов [1]. Диагностика этого процесса основывается на эндомикардиальной биопсии с последующей визуальной оценкой гистологического и иммуногистохимического исследования. Острое отторжение трансплантата принято подразделять на две основные формы: клеточное и гуморальное, или антитело-опосредованное (AMR). Выделяют 4 степени тяжести клеточного отторжения: 0R (признаки острого клеточного отторжения отсутствуют), 1R (слабое клеточное отторжение), 2R (умеренно выраженное клеточное отторжение), 3R (тяжелое клеточное отторжение). От точности диагностики формы и степени тяжести отторжения зависит успешность иммуносупрессивной терапии и возможность избежать таких осложнений, как оппортунистические инфекции, злокачественные опухоли и метаболические нарушения [2].

Характер отторжения в значительной степени зависит от клеточных коопераций, которые формируются в трансплантате и проявляются изменением иммунофенотипа воспалительного инфильтрата. Известно, что в состав инфильтрата входят Т- и В-лимфоциты, а также макрофаги [3]. Т-лимфоциты участвуют в развитии реакции гиперчувствительности IV типа и представляют собой ключевой элемент клеточного отторжения, в то время как В-лимфоциты играют основную роль в антитело-опосредованном отторжении [4].

В современной биопсийной диагностике используются только качественные критерии отторжения трансплантата [5]. Для повышения точности результатов эндомикардиальной биопсии необходима разработка новых количественных признаков отторжения сердца на основе применения компьютерного анализа изображений тканевых структур.

**Цель исследования** — количественная иммунофенотипическая характеристика клеточных коопераций в мононуклеарном воспалительном инфильтрате миокарда при клеточной и гуморальной формах отторжения пересаженного сердца с применением компьютерной морфометрии для анализа эндомикардиальных биоптатов.

## Материалы и методы

Материал для исследования — 226 архивных эндомикардиальных биоптатов от 56 реципиентов сердца (39 мужчин и 17 женщин, возраст от 29 до 61 года), проходивших лечение в ГБУЗ «Научно-исследовательский институт — Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» г. Краснодара в 2018–2019 гг. Критерий включения пациентов в исследование — трансплантация сердца в анамнезе. Критерии исключения: хронические гнойно-воспалительные заболевания, системные заболевания соединительной ткани, злокачественные новообразования, выраженные проявления ИБС. Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964–2013).

Полученные при биопсии фрагменты миокарда фиксировали 10% раствором нейтрального забуференного формалина, делали проводку в парафин по стандартной методике с применением гистопроцессора STP120-2 (Thermo Scientific, США). Для изготовления срезов использовали ротационный микротом Rotary 3003 (PFM medical, Германия). Срезы толщиной 5 мкм окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином для установления характера и степени тяжести отторжения, при этом оценивали выраженность патоморфологических изменений в сердечной мышце.

В соответствии с диагностическими критериями Международного общества трансплантации сердца и легких [6] определяли экспрессию в миокарде маркеров Т-лимфоцитов CD3, В-лимфоцитов CD20 и макрофагов CD68 (рис. 1) иммуногистохимическим стрептавидин-биотиновым методом.

Для количественной оценки результатов иммуногистохимического исследования применяли программное обеспечение с открытым исходным кодом ImageJ (US National Institutes of Health, США) [7]. В качестве критерия выраженности иммуногистохимических реакций использовали разработанный нами коэффициент площади окрашивания (КПО) — отношение суммарной площади цветного продукта реакции к площади биоптата, выраженное в процентах.

Статистический анализ результатов исследования выполнен с применением компьютерной программы MedCalc Statistical Software version 19.1.3 (MedCalc Software bv, Ostend, Belgium; 2019). Проверку характера распределения вариационных рядов производили с помощью критерия Колмогорова — Смирнова. Для определения достоверности различий между средними значениями групп использовали критерий Крамера — Уэлча. Нулевую гипотезу отвергали при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

При изучении микропрепаратов, окрашенных гематоксилином и эозином (рис. 2), степень клеточного отторжения 0R установлена в 92 биоптатах (клеточная инфильтрация отсутствует или представлена единичными, как правило, случайными элементами, признаков повреждения кардиомиоцитов нет). Легкое отторжение 1R выявлено в 77 биоптатах (единичные локусы повреждения мышечных клеток, связанные с одним очагом лимфомакрофагальной инфильтрации). В 30 биоптатах отмечена картина отторжения 2R (мно-

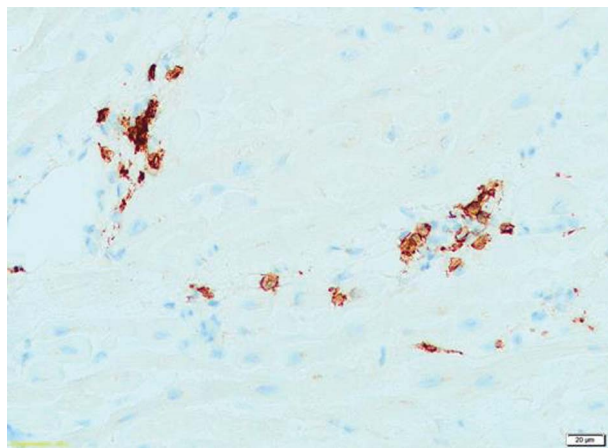


Рис. 1. Скопления CD68-позитивных макрофагов в инфильтрате миокарда при клеточном отторжении 2R. Стрептавидин-пероксидазная иммуногистохимическая реакция. Увеличение об.  $\times 40$ .  
Fig 1. Aggregations of CD68-positive macrophages in myocardium infiltration in 2R cellular rejection. Streptavidin-peroxidase immunohistochemistry. Magn.  $\times 40$ .

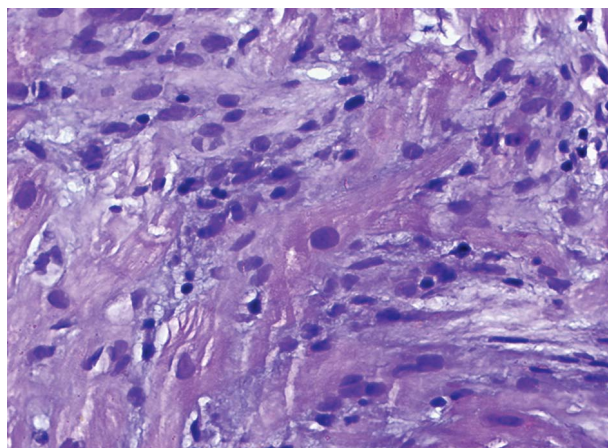


Рис. 2. Диффузный мононуклеарный инфильтрат в миокарде при клеточном отторжении 3R. Гематоксилин-эозин. Увеличение: об.  $\times 40$ .  
Fig 2. Diffuse mononuclear infiltration in myocardium during 3R cellular rejection. Hematoxylin-eosin staining. Magn.  $\times 40$ .

жественные локусы эндомикардиального повреждения в ассоциации с очагами лимфомакрофагальной инфильтрации). У 8 пациентов обнаружены признаки отторжения 3R степени (диффузная инфильтрация лимфоцитами и макрофагами, присутствие нейтрофилов, очаги кровоизлияний). В 19 образцах выявлена картина антитело-опосредованного отторжения AMR, которая характеризовалась выраженным отеком, васкулитом и интраваскулярным скоплением макрофагов.

Для характеристики компонентов клеточного воспалительного инфильтрата в миокарде

проведено иммуногистохимическое исследование с выявлением лейкоцитарных антигенов CD3, CD20 и CD68. Статистический анализ показал, что все вариационные ряды в сравниваемых группах имеют нормальное распределение, поэтому количественные признаки представлены величиной среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ).

**Т-лимфоциты (CD3).** Мембранный маркер CD3 — один из основных компонентов Т-клеточного рецептора — обнаружил диффузное расположение на поверхности лимфоцитов. Различная степень его экспрессии была выявлена при исследовании всех биоптатов (рис. 3, табл. 1). При отсутствии отторжения трансплантата (степень 0R) занимаемая CD3-позитивными клетками площадь биоптата составляет КПО =  $0,99 \pm 0,02\%$ , при степени отторжения 1R этот показатель возрастает в 2,1 раза ( $p < 0,05$ ), при степени 2R — в 3,4 раза ( $p < 0,05$ ), при степени 3R — в 5,5 раза ( $p < 0,05$ ), при антитело-опосредованном отторжении AMR — в 4,8 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с 0R. Таким образом, выраженность экспрессии иммуногистохимического маркера Т-лимфоцитов CD3 достигает максимальных значений как при клеточном, так и при антитело-опосредованном отторжении пересаженного сердца.

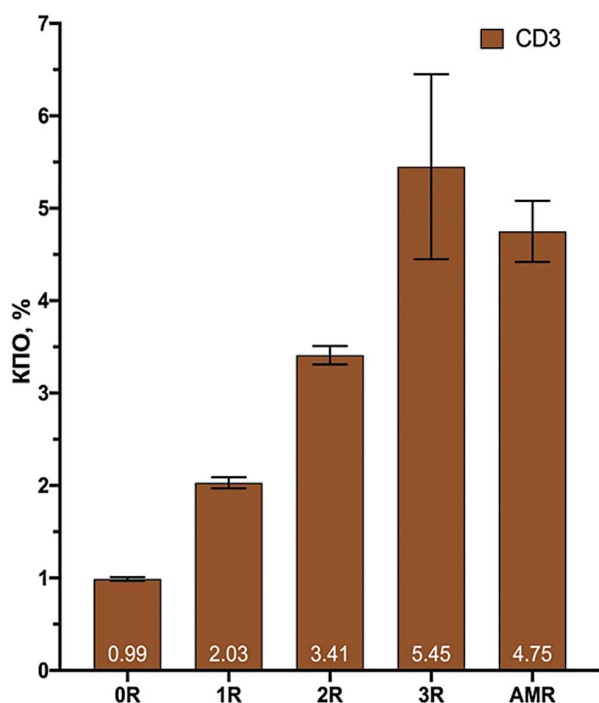


Рис. 3. Экспрессия CD3 (Т-лимфоциты) при клеточном (0R–3R) и антитело-опосредованном (AMR) отторжении сердечного трансплантата. Fig. 3. CD3 (T-lymphocyte) expression in cellular (0R–3R) and antibody-mediated (AMR) transplanted heart rejection. Staining area coefficient, %

**В-лимфоциты (CD20).** В-лимфоцитарный рецептор имеет мембранную локализацию в клетках. Единичные CD20-позитивные клетки диффузно располагались практически во всех полях зрения большинства исследованных биоптатов. В некоторых микропрепаратах выявлены субэндокардиальные скопления В-лимфоцитов. Экспрессия поверхностного маркера В-лимфоцитов CD20 была низкой во всех изученных биоптатах (рис. 4, табл. 1). Отсутствие отторжения 0R характеризуется CD20-позитивной областью с КПО =  $0,19 \pm 0,01\%$ , степень отторжения 1R — возрастанием КПО в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ), степень 2R — в 3,4 раза ( $p < 0,05$ ), 3R — в 4,4 раза ( $p < 0,05$ ). Наибольшая экспрессия иммуногистохимического маркера В-лимфоцитов CD20 установлена при антитело-опосредованном отторжении AMR — в 9,5 раза выше, чем при отсутствии отторжения ( $p < 0,05$ ).

**Макрофаги (CD68).** Макросиалин, представляющий собой кластер дифференцировки 68 типа, проявляется в микропрепаратах мембранной локализацией. Как и маркеры лимфоцитов, экспрессия CD68 отмечена во всех биоптатах независимо от формы и степени тяжести отторжения. Величина CD68-позитивной области в миокарде изменялась в зависимости

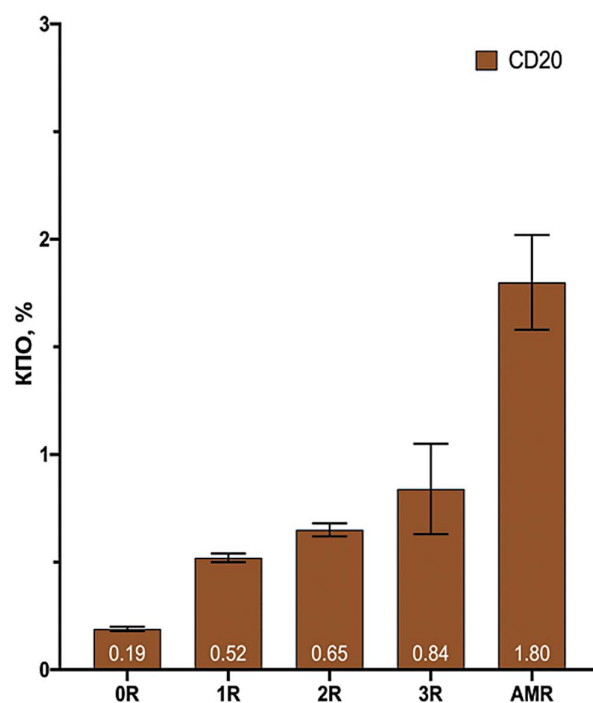


Рис. 4. Экспрессия CD20 (В-лимфоциты) при клеточном (0R–3R) и антитело-опосредованном (AMR) отторжении сердечного трансплантата. Fig. 4. CD20 (B-lymphocyte) expression in cellular (0R–3R) and antibody-mediated (AMR) transplanted heart rejection. Staining area coefficient, %

от характера и интенсивности процесса (рис. 5, табл. 1). При отсутствии отторжения 0R область экспрессии макрофагальных маркеров в биоптате составляла всего  $0,34 \pm 0,01\%$ , возрастала при степени тяжести 1R клеточного отторжения в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ), в 4,0 раза при степени 2R ( $p < 0,05$ ) и в 9,6 раза при 3R ( $p < 0,05$ ). При антитело-опосредованном отторжении AMR экспрессия CD68 была в 4,1 раза выше, чем при степени 0R ( $p < 0,05$ ), однако не имела статистически достоверного отличия от показателя, характерного для умеренно выраженного клеточного отторжения 2R ( $p > 0,05$ ).

Результаты исследования указывают на присутствие лимфоцитов и макрофагов в воспалительном инфильтрате всех сердечных трансплантатов. В ряде случаев отмечено сочетание CD3- и CD20-позитивных клеток в одних и тех же участках миокарда; это можно считать признаком смешанного клеточно-гуморального отторжения. Иммуногистохимическое типирование выявило существенную роль Т-лимфоцитов в патогенезе клеточной формы отторжения, что объясняется их вовлеченностью в реакцию гиперчувствительности IV типа [8]. Вместе с тем, полученные данные свидетельствуют об активном участии Т-лимфоцитов и в антитело-опосредованном отторжении.

Экспрессия маркеров В-лимфоцитов имеет наибольшую выраженность при антитело-опосредованном отторжении, однако продуцируемые плазматическими клетками цитолитические антитела участвуют и в реакциях клеточного отторжения [9], чем, по-видимому, и обусловлено некоторое усиление экспрессии CD20 при повышении тяжести клеточного отторжения. Это явление также можно связать и с усилением продукции интерлейкинов, оказывающих влияние на другие клеточные компоненты воспалительного инфильтрата [10].

Макрофаги в миокарде без признаков отторжения обнаруживают незначительную пло-

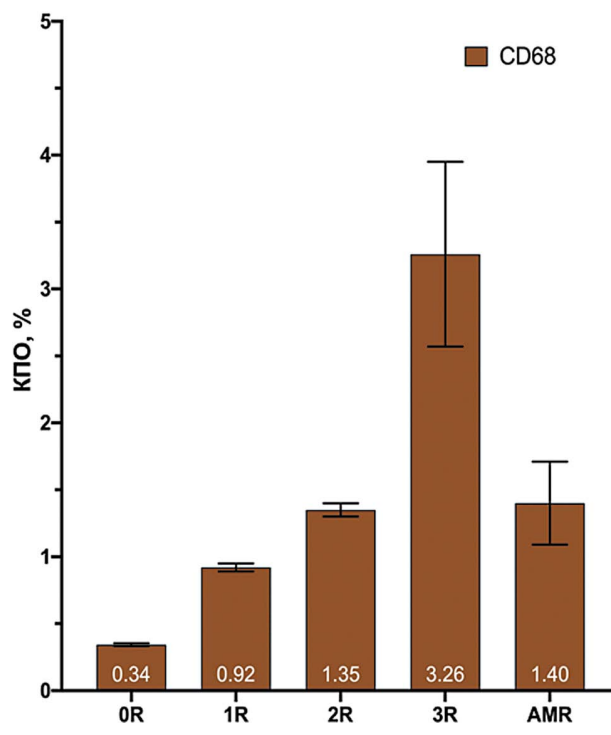


Рис. 5. Экспрессия CD68 (макрофаги) при клеточном (0R–3R) и антитело-опосредованном (AMR) отторжении сердечного трансплантата.

Fig. 5. CD68 (macrophage) expression in cellular (0R–3R) and antibody-mediated (AMR) transplanted heart rejection. Staining area coefficient, %

щадь CD68-позитивной области биоптата, которая закономерно возрастает в процессе развития клеточной формы отторжения, особенно при переходе от умеренно выраженной степени тяжести процесса 2R к тяжелой 3R. Наибольшая экспрессия макрофагальных маркеров CD68 выявлена при тяжелом клеточном отторжении. Несколько ниже содержание этих клеток в инфильтрате при антитело-опосредованной форме. Повышение содержания макрофагов объясняется, помимо классической роли в воспалительном процессе, также их участием в развитии реакции гиперчувствительности, лежащей в основе отторжения трансплантата [11].

Таблица 1. Экспрессия в миокарде маркеров Т-лимфоцитов CD3, В-лимфоцитов CD20 и макрофагов CD68 при отторжении трансплантационного сердца

Table 1. Myocardial expression of CD3 T-lymphocyte and CD20B-lymphocyte markers and CD68 macrophages in transplanted heart rejection

Маркер	КПО (M ± m)%				
	0R	1R	2R	3R	AMR
CD3	0,99 ± 0,02	2,03 ± 0,06 *	3,41 ± 0,10 *	5,45 ± 1,00 *	4,75 ± 0,33 *
CD20	0,19 ± 0,01	0,52 ± 0,02 *	0,65 ± 0,03 *	0,84 ± 0,21 *	1,80 ± 0,22 *
CD68	0,34 ± 0,01	0,92 ± 0,03 *	1,35 ± 0,05 *	3,26 ± 0,69 *	1,40 ± 0,31 *

Примечание: \* — достоверное отличие от 0R,  $p < 0,05$ .

Note: \* — significant difference from 0R,  $p < 0.05$ .

**Заключение**

Кооперации иммунокомпетентных клеток в мононуклеарном воспалительном инфильтрате сердечного трансплантата характеризуются преобладанием Т-лимфоцитов как при всех степенях тяжести клеточного, так и при антитело-опосредованном отторжении. Экспрессия маркеров В-лимфоцитов наиболее выражена при антитело-опосредованной форме отторжения. Максимальное присутствие макрофагов в воспалительном инфильтрате миокарда характеризует тяжелое клеточное отторжение. По мере возрастания тяжести клеточного отторжения относительное содержание в инфильтрате В-лимфоцитов и макрофагов увеличивается. Применение установленных в исследовании количественных признаков клеточных коопераций в воспалительном инфильтрате миокарда необходимо для повышения точности эндомиокардиальной биопсии при диагностике формы и степени тяжести отторжения сердечного трансплантата.

**Соответствие принципам этики**

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации

(Declaration of Helsinki), одобрено Этическим Комитетом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. им. Митрофана Седина, д. 4, г. Краснодар, Россия), протокол № 64 от 21.06.2018 г.

**Compliance with ethical principles**

The study was conducted in compliance with the standards of the Declaration of Helsinki and approved by the local independent ethics committee of the Kuban State Medical University (4 Mitrofana Sedina str., Krasnodar, Russia), protocol No. 64 of 06/21/2018).

**Источник финансирования**

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и администрации Краснодарского края в рамках научного проекта № 19-415-230003.

**Funding**

The study was supported by the RFBR and the administration of Krasnodar Krai, research project No. 19-415-230003.

**Список литературы**

1. D'Addio F., Margonato D., Pensato U., Borgese L., Potena L., Fiorina P. Novel therapeutic and diagnostic management of heart transplant patients. *Heart Lung Vessel*. 2015; 7(3): 198–207.
2. Tsamandas A.C., Pham S.M., Seaberg E.C., Pappo O., Kormos R.L., Kawai A., et al. Adult Heart Transplantation Under Tacrolimus (FK506) Immunosuppression: Histopathologic Observations and Comparison to a Cyclosporine-based Regimen with Lympholytic (ATG) Induction. *J. Heart Lung Transplant*. 2017; 16(7): 723–734.
3. Веревкин А.А., Славинский А.А., Космачева Е.Д. Морфофункциональная характеристика отторжения трансплантированного сердца. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2018; 2(26): 55–61. DOI: 10.31088/2226-5988-2018-26-2-55-60
4. Berry G.J., Burke M.M., Andersen C., Bruneval P., Fedrigo M., Fishbein M.C., et al. The 2013 International Society for Heart and Lung Transplantation Working Formulation for standardization of nomenclature in the pathologic diagnosis of antibody-mediated rejection in heart transplantation. *J. Heart Lung Transplant*. 2013; 32(12): 1147–1162. DOI: 10.1016/j.healun.2013.08.011
5. Веревкин А.А., Славинский А.А., Космачева Е.Д., Ставенчук Т.В. Патоморфологические признаки повреждения миокарда при отторжении трансплантированного сердца. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017; 24(6): 17–21. DOI: 10.25207/1608-6228-2017-24-6-17-21
6. Berry G.J., Angelini A., Burke M.M., Bruneval P., Fishbein M.C., Hammond E., et al. The ISHLT working formulation for pathologic diagnosis of cellular and antibody-mediated rejection in heart transplantation: evolution and current status (2005–2011). *J. Heart Lung Transplant*. 2011; 30(6): 601–611. DOI: 10.1016/j.healun.2011.02.015
7. Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods*. 2012; 9(7): 671–675. DOI: 10.1038/nmeth.2089
8. Boer K., Caliskan K., Peeters A.M., van Groningen M.C., Samsom J.N., Maat A.P., et al. Thymus-Derived Regulatory T Cells Infiltrate the Cardiac Allograft Before Rejection. *Transplantation*. 2015; 99(9): 1839–1846. DOI: 10.1097/TP.0000000000000730
9. Carrell J., Groves C.J. OMIP-043: Identification of human antibody secreting cell subsets. *Cytometry*. 2018; 93(2): 190–193. DOI: 10.1002/cyto.a.23305
10. Bao Y., Cao X. The immune potential and immunopathology of cytokine-producing B cell subsets: A comprehensive review. *J. Autoimmun*. 2014; 55: 10–23. DOI: 10.1016/j.jaut.2014.04.001
11. Gordon S., Martinez F.O. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity*. 2010; 32(5): 593–604. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.05.007

## References

1. D'Addio F., Margonato D., Pensato U., Borgese L., Potena L., Fiorina P. Novel therapeutic and diagnostic management of heart transplant patients. *Heart Lung Vessel*. 2015; 7(3): 198–207.
2. Tsamandas A.C., Pham S.M., Seaberg E.C., Pappo O., Kormos R.L., Kawai A., et al. Adult Heart Transplantation Under Tacrolimus (FK506) Immunosuppression: Histopathologic Observations and Comparison to a Cyclosporine-based Regimen with Lympholytic (ATG) Induction. *J. Heart Lung Transplant*. 2017; 16(7): 723–734.
3. Verevkin A.A., Slavinskii A.A., Kosmacheva E.D. Morphofunctional characteristic of the transplanted heart rejection. *Klinicheskaya i Eksperimental'naya Morfologiya*. 2018; 2(26): 55–61 (In Russ., English abstract). DOI: 10.31088/2226-5988-2018-26-2-55-60
4. Berry G.J., Burke M.M., Andersen C., Bruneval P., Fedrigo M., Fishbein M.C., et al. The 2013 International Society for Heart and Lung Transplantation Working Formulation for standardization of nomenclature in the pathologic diagnosis of antibody — mediated rejection in heart transplantation. *J. Heart Lung Transplant*. 2013; 32(12): 1147–1162. DOI: 10.1016/j.healun.2013.08.011
5. Verevkin A.A., Slavinskii A.A., Kosmacheva E.D., Stavenchuk T.V. Morphological indicators of myocardial damages in rejection of transplanted heart. *Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik*. 2017; 24(6): 17–21 (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207/1608-6228-2017-24-6-17-21
6. Berry G.J., Angelini A., Burke M.M., Bruneval P., Fishbein M.C., Hammond E., et al. The ISHLT working formulation for pathologic diagnosis of cellular and antibody-mediated rejection in heart transplantation: evolution and current status (2005–2011). *J. Heart Lung Transplant*. 2011; 30(6): 601–611. DOI: 10.1016/j.healun.2011.02.015
7. Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods*. 2012; 9(7): 671–675. DOI: 10.1038/nmeth.2089
8. Boer K., Caliskan K., Peeters A.M., van Groningen M.C., Samsom J.N., Maat A.P., et al. Thymus-Derived Regulatory T Cells Infiltrate the Cardiac Allograft Before Rejection. *Transplantation*. 2015; 99(9): 1839–1846. DOI: 10.1097/TP.0000000000000730
9. Carrell J., Groves C.J. OMIP-043: Identification of human antibody secreting cell subsets. *Cytometry*. 2018; 93(2): 190–193. DOI: 10.1002/cyto.a.23305
10. Bao Y., Cao X. The immune potential and immunopathology of cytokine-producing B cell subsets: A comprehensive review. *J. Autoimmun.* 2014; 55: 10–23. DOI: 10.1016/j.jaut.2014.04.001
11. Gordon S., Martinez F.O. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity*. 2010; 32(5): 593–604. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.05.007

## Вклад авторов

### Славинский А.А.

Разработка концепции — формирование идеи; развитие ключевых целей и задач.

Разработка методологии — разработка и дизайн методологии.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы и ее окончательный вариант.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление лабораторных образцов.

### Вереvкин А.А.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление измерительных приборов, вычислительных ресурсов для анализа.

Проведение статистического анализа — применение статистических методов для анализа и синтеза данных исследования.

### Сотниченко А.С.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.



Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

#### **Космачева Е.Д.**

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследований, сбор и анализ полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — участие в научном дизайне; подготовка, создание опубликованной работы.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы,

целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

#### **Ставенчук Т.В.**

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследований, сбор и анализ полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

## Author contributions

#### **Slavinsky A.A.**

Conceptualisation — concept formation; development of key goals and objectives.

Methodology development — development and design of methodology.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — compilation of a draft manuscript, its critical review with the introduction of valuable intellectual content; participation in scientific design.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

Resource support of the research — the provision of laboratory samples.

#### **Verevkin A.A.**

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

Resource support of the research — the provision of measuring instrumentation and calculation resources for the research.

Statistical processing of the results — application of statistical methods for data analysis and synthesis.

#### **Sotnichenko A.S.**

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

#### **Kosmacheva E.D.**

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research, data collection and analysis.

Text preparation and editing — participation in scientific design, preparation and creation of a published work.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

#### **Stavenchuk T.V.**

Conceptualisation — development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research, data collection and analysis.

Text preparation and editing — critical review of a draft manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

The approval of the final version of the article — the acceptance of responsibility for all aspects of the work, the integrity of all parts of the article and its final version.

## Сведения об авторах / Information about the authors

**Славинский Александр Александрович\*** — доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0001-9824-9186>

Контактная информация: e-mail: [al-slavinsky@mail.ru](mailto:al-slavinsky@mail.ru); тел.: +7(918) 155-77-31;

ул. Сормовская, 116, кв. 151, г. Краснодар, 350080, Россия.

**Веревкин Александр Александрович** — ассистент кафедры патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-4159-2618>

**Сотниченко Александр Сергеевич** — кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией фундаментальных исследований в области регенеративной медицины Центральной научно-исследовательской лаборатории, доцент кафедры патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Краснодар, Россия.

<https://orcid.org/0000-0001-7322-0459>

**Космачева Елена Дмитриевна** — доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой терапии № 1 факультета повышения квалификации и последипломной переподготовки специалистов федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; заместитель главного врача по медицинской части государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Научно-исследовательский институт — Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» Министерства здравоохранения Краснодарского края.

<https://orcid.org/0000-0001-8600-0199>

**Ставенчук Татьяна Владимировна** — кандидат медицинских наук, врач ультразвуковой диагностики государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Научно-исследовательский институт — Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» Министерства здравоохранения Краснодарского края.

<https://orcid.org/0000-0001-5349-4890>

**Aleksandr A. Slavinsky\*** — Dr. Sci. (Biol.), Prof., Departmental Head, Department of Pathological Anatomy, Kuban State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0001-9824-9186>

Contact information: e-mail: [al-slavinsky@mail.ru](mailto:al-slavinsky@mail.ru); tel.: +7(918) 155-77-31;

Sormovskaya str., 116–151, Krasnodar, 350080, Russia

**Aleksandr A. Verevkin** — Research Assistant, Department of Pathological Anatomy, Kuban State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-4159-2618>

**Aleksandr S. Sotnichenko** — Cand. Sci. (Med.), Laboratory Head, Laboratory of Fundamental Research in Regenerative Medicine, Central Scientific-Research Laboratory, Kuban State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0001-7322-0459>

**Elena D. Kosmacheva** — Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Departmental Head, Therapeutic Department No.1, Faculty of Advanced Training and Professional Retraining of Specialists, Kuban State Medical University; Deputy Chief Physician, Scientific-Research Institute — S.V. Ochapovsky Regional Clinical Hospital No 1.

<https://orcid.org/0000-0001-8600-0199>

**Tatyana V. Stavenchuk** — Cand. Sci. (Med.), Ultrasound Diagnostics Doctor, Scientific-Research Institute — S.V. Ochapovsky Regional Clinical Hospital No 1.

<https://orcid.org/0000-0001-5349-4890>

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author