

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ ПРИ COVID-19 У ЛИЦ, СТРАДАВШИХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Палатова Т.В.<sup>1</sup>, Воронина Е.С.<sup>1</sup>, Коромысленко Ю.Р.<sup>1</sup>, Кондратьева Е.В.<sup>2</sup>, Ивлиев И.И.<sup>2</sup>, Маслякова Г.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, Саратов, e-mail: iamnot88@bk.ru;

<sup>2</sup>Университетская клиническая больница им. С.Р. Миротворцева № 1 СГМУ, Саратов, e-mail: iamnot88@bk.ru

В настоящее время COVID-19 рассматривается как системное заболевание. Морфологические изменения печени описаны в редких исследованиях. Цель исследования – изучить морфологические особенности повреждения печени при COVID-19 у пациентов с сахарным диабетом и лекарственно-индуцированной гипергликемией. Проведена морфологическая оценка образцов печени от 40 пациентов, умерших от коронавирусной инфекции в период октябрь – декабрь 2020 г. в УКБ № 1 СГМУ им. В.И. Разумовского. Весь секционный материал был разделен на 3 группы: 1-ю группу составили пациенты с фоновым заболеванием «сахарный диабет 2-го типа»; 2-ю группу составили пациенты, которым был выставлен диагноз «гипергликемия, индуцированная глюкокортикостероидами»; 3-я группа была группой сравнения. Выполняли морфометрический анализ гистологических образцов и статистический анализ полученных результатов. У пациентов всех групп в ткани печени наблюдались умеренный перипортальный фиброз и лимфоцитарная инфильтрация портальных трактов, жировая дистрофия разной степени выраженности и внутриклеточное накопление липофусцина. Максимально выраженное повреждение печени отмечалось в группе больных сахарным диабетом (очаги некрозов, паренхиматозная жировая дистрофия, снижение количества и уменьшение площади гепатоцитов). Наряду с повреждением в ткани печени отмечали и компенсаторно-приспособительные процессы в виде увеличения количества двуядерных гепатоцитов, увеличения ядра и ядерно-цитоплазматического соотношения в клетках. При гипергликемии, которая у данных пациентов может быть связана как с приемом глюкокортикостероидов, так и с цитопатическим действием на клетки поджелудочной железы коронавирусной инфекции, отмечались деструктивные процессы в печени, но меньшей степени выраженности, чем при сахарном диабете, а также имели место компенсаторные механизмы повреждения в виде гипертрофии гепатоцитов.

Ключевые слова: коронавирусная инфекция, сахарный диабет, повреждение печени, жировая дистрофия, гипергликемия.

## MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE LIVER IN COVID-19 IN PEOPLE WITH DIABETES MELLITUS

Palatova T.V.<sup>1</sup>, Voronina E.S.<sup>1</sup>, Koromyslenko Yu.R.<sup>1</sup>, Kondratieva E.V.<sup>2</sup>, Ivliev I.I.<sup>2</sup>, Maslyakova G.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>V.I. Razumovsky Saratov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Saratov, e-mail: iamnot88@bk.ru;

<sup>2</sup>Clinical Hospital named S.R. Mirotvortsev SSMU Saratov, e-mail: iamnot88@bk.ru

Nowadays COVID-19 is considered a systemic disease. Rare studies have described morphological changes in the liver. The aim of the study was to study the morphological features of liver damage during COVID-19 in patients with diabetes mellitus and drug-induced hyperglycemia. A morphological assessment of liver samples from 40 patients who died from coronavirus infection in the period October – December 2020 at the Clinical Hospital named S.R. Mirotvortsev SSMU was carried out. The sectional material was divided into 3 groups: group 1 consisted of patients with the background disease type 2 diabetes mellitus; group 2 consisted of patients who were diagnosed hyperglycemia induced by glucocorticosteroids; group 3 was a comparison group. Morphometric analysis of histological samples and statistical analysis of the obtained results were performed. In patients of all groups, moderate periportal fibrosis and lymphocytic infiltration of portal tracts, fatty degeneration of varying severity and intracellular accumulation of lipofuscin were observed in liver tissue. The most pronounced liver damage was observed in the group of patients with diabetes mellitus (foci of necrosis, parenchymal fatty degeneration, a decrease the number and area of hepatocytes). Along with damage of the liver tissue, compensatory and adaptive processes were noted in the form of an increase the number of binuclear hepatocytes, an increase the nucleus and the nuclear-cytoplasmic ratio in cells. Due to hyperglycemia, destructive processes in the liver were also noted. Also, compensatory hypertrophy of hepatocytes was noted.

Keywords: coronavirus infection, diabetes mellitus, liver damage, fatty degeneration, hyperglycemia.

В настоящее время COVID-19 рассматривается как системное заболевание с нарушением функции иммунной системы, поражением в первую очередь легких, а также сердца, почек, кишечника. К факторам риска развития тяжелого течения COVID-19 относятся преимущественно возраст (старше 65 лет) и коморбидные состояния [1]. Одним из таких заболеваний является сахарный диабет [2]. Диабетическое поражение сосудов микроциркулярного русла и гликозилирование гемоглобина усугубляют нарушение газообмена в легких и гипоксию. СД 2-го типа характеризуется дисбалансом системы агрегатного состояния крови (повышение коагуляционной активности и уменьшение фибринолиза), что повышает риск возникновения жизненно угрожающих осложнений COVID-19 [3].

Любое тяжелое заболевание, в том числе COVID-19, у пациента с СД 2-го типа повышает риск развития острых состояний, прежде всего диабетического кетоацидоза и гиперосмолярного синдрома, которые еще в большей степени ухудшают прогноз пациента [2, 4]. Гипергликемия дополнительно повышает образование провоспалительных цитокинов, активированных кислородных метаболитов, ингибирует пролиферацию лимфоцитов [4, 5], что определяет более тяжелое течение COVID-19. По данным литературы, гипергликемия способна усиливать репликацию респираторных вирусов в клетках легких [2, 4, 6]. Таким образом, между COVID-19 и сахарным диабетом создается порочный круг, в котором COVID-19 приводит к увеличению гипергликемии, а сахарный диабет, в свою очередь, усугубляет тяжесть COVID-19.

В комплексной терапии COVID-19 широко применяются глюкокортикостероиды. Самый частый и нежелательный эффект при лечении препаратами данной группы – гипергликемия и развитие сахарного диабета. Глюкокортикостероиды замедляют метаболизм инсулина в печени, увеличивают глюконеогенез, снижают синтез инсулина клетками поджелудочной железы. Таким путем происходят еще больший рост глюкозы в крови и повышение инсулинорезистентности [4, 6].

Большинство исследований COVID-19 направлены на изучение патологических изменений легких, и лишь в редких исследованиях описаны морфологические изменения печени. Анализ литературы показал, что морфологические и морфометрические исследования ткани печени у пациентов с COVID-19 в условиях лекарственно-индуцированной гипергликемии и при фоновом заболевании «сахарный диабет 2-го типа» немногочисленны, это и определило цель исследования.

Цель исследования – изучить морфологические особенности повреждения печени при COVID-19 у пациентов с сахарным диабетом и лекарственно-индуцированной гипергликемией.

## Материал и методы исследования

Проведена морфологическая оценка образцов печени от 40 пациентов (аутопсийный материал), умерших от коронавирусной инфекции в период октябрь – декабрь 2020 г. в УКБ № 1 СГМУ им. В.И. Разумовского г. Саратова. У всех пациентов основным заболеванием была выставлена коронавирусная инфекция, вызванная COVID-19 (вирус идентифицирован методом ПЦР, U07.1).

Весь секционный материал был разделен на 3 группы: 1-ю группу составили пациенты с фоновым заболеванием «сахарный диабет 2-го типа»; 2-ю группу составили пациенты, у которых среди осложнений основного заболевания отмечалась транзиторная гипергликемия, индуцированная глюкокортикостероидами; 3-ю группу составили пациенты, не имевшие эндокринной патологии.

Характеристика пациентов, вошедших в исследование, представлена в таблице 1.

Таблица 1

### Клиническая характеристика пациентов

Параметр	1-я группа – сахарный диабет n=14	2-я группа – гипергликемия, индуцированная глюкокортикостероидами n=12	3-я группа – группа сравнения n=14
Возраст, лет Медиана [25;75]	59 [40;87]	80 [65;85]	69 [40;95]

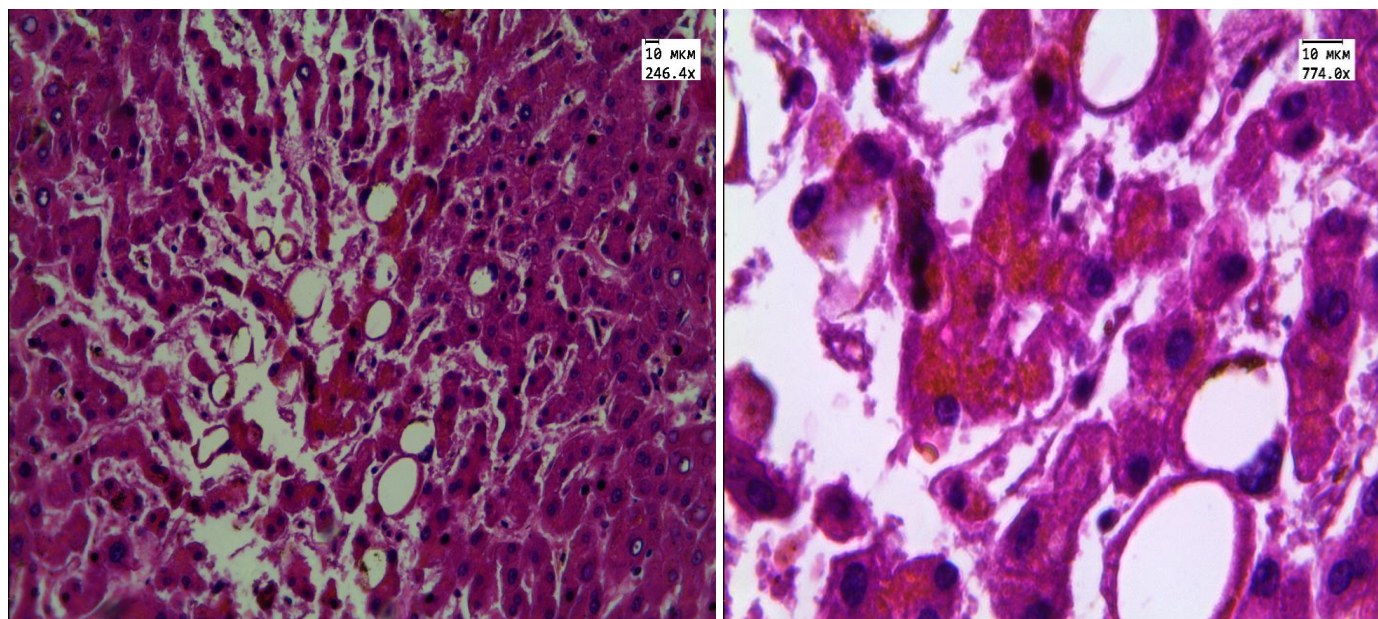
После стандартной гистологической проводки в спиртах возрастающей концентрации материал заливали в парафин. Срезы готовили с использованием ротационного микротомата. Затем срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Морфометрический анализ гистологических препаратов проводили с помощью микроскопа Micros MC 100 (ТХР) и программы ImageView. В 10 полях зрения каждого случая при увеличении x40 подсчитывали следующие показатели: количество гепатоцитов, количество двуядерных гепатоцитов, площадь гепатоцита и площадь ядра, высчитывали ядерно-цитоплазматическое отношение. Фотографирование проводили с помощью микровизора медицинского проходящего света  $\mu$ Vizo-101 (ЛОМО).

Статистический анализ выполняли в программе Excel с расчетом медианы и межквартильного размаха (25-й и 75-й перцентили). При проверке количественных признаков на нормальность распределения большая часть их не подчинялась закону нормального распределения, поэтому морфометрические показатели попарно сравнивали с помощью критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически достоверными при  $p < 0,05$ .

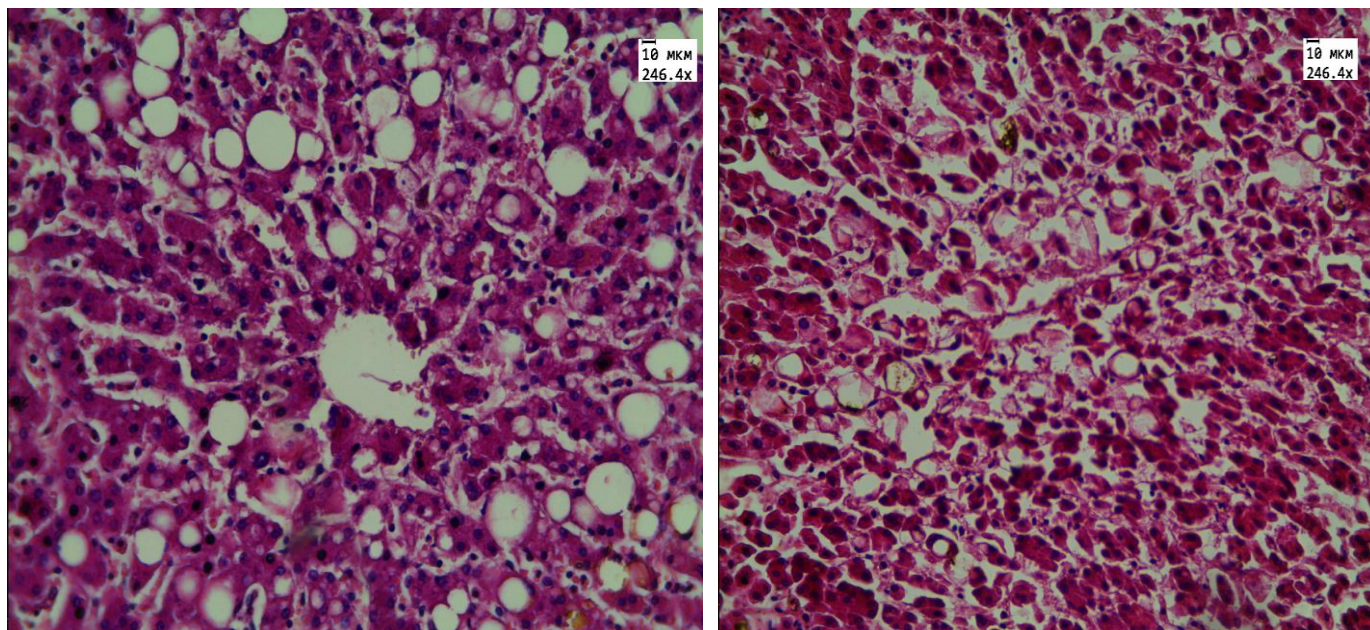
## Результаты исследования и их обсуждение

При микроскопии ткани печени пациентов 1-й группы во всех случаях наблюдали расширение синусоидов, отек и венозное полнокровие, умеренный перипортальный фиброз и лимфоидную инфильтрацию портальных трактов. В 10 случаях (75%) наблюдали рассеянную крупнокапельную и мелкокапельную жировую дистрофию, в 7 случаях (50%) отмечали центрлобулярные некрозы, внутриклеточное скопление бурого пигмента липофусцина (рис. 1).



*Рис. 1. Ткань печени пациента 1-й группы. Жировая дистрофия, очаги некроза гепатоцитов, накопление пигмента липофусцина. Ув. 246,4, 774. Окраска: гематоксилин-эозином*

При микроскопии ткани печени в группе пациентов с гипергликемией также наблюдали признаки нарушения кровообращения в виде расширения пространств Диссе, перипортальный фиброз и лимфоидную инфильтрацию портальных трактов. В 7 случаях (58%) отмечали мелкокапельную жировую дистрофию и накопление в клетках пигмента липофусцина, в 4 случаях (33%) – очаги некроза (рис. 2).



*Рис. 2. Ткань печени пациента 2-й группы. Мелкокапельное и крупнокапельное ожирение ткани печени, очаги повреждения гепатоцитов. Ув. 246. Окраска: гематоксилин-эозином*

При морфометрическом исследовании количество гепатоцитов в поле зрения колебалось от 30 до 77 (медиана 60), количество двуядерных гепатоцитов в среднем составило 3, площадь гепатоцита колебалась в пределах от 145 до 213,1 мкм<sup>2</sup>, а площадь ядра – от 11,8 до 18,9 мкм<sup>2</sup>, ядерно-цитоплазматическое соотношение было равно 0,09 (табл. 2).

В группе сравнения во всех случаях, так же как и в опытных группах, наблюдали признаки нарушения кровообращения, фиброз и очаговую лимфоидную инфильтрацию. В 2 случаях (14%) отмечали скопление бурого пигмента, единичную микровезикулярную жировую дистрофию, иных повреждений не было выявлено (рис. 3).

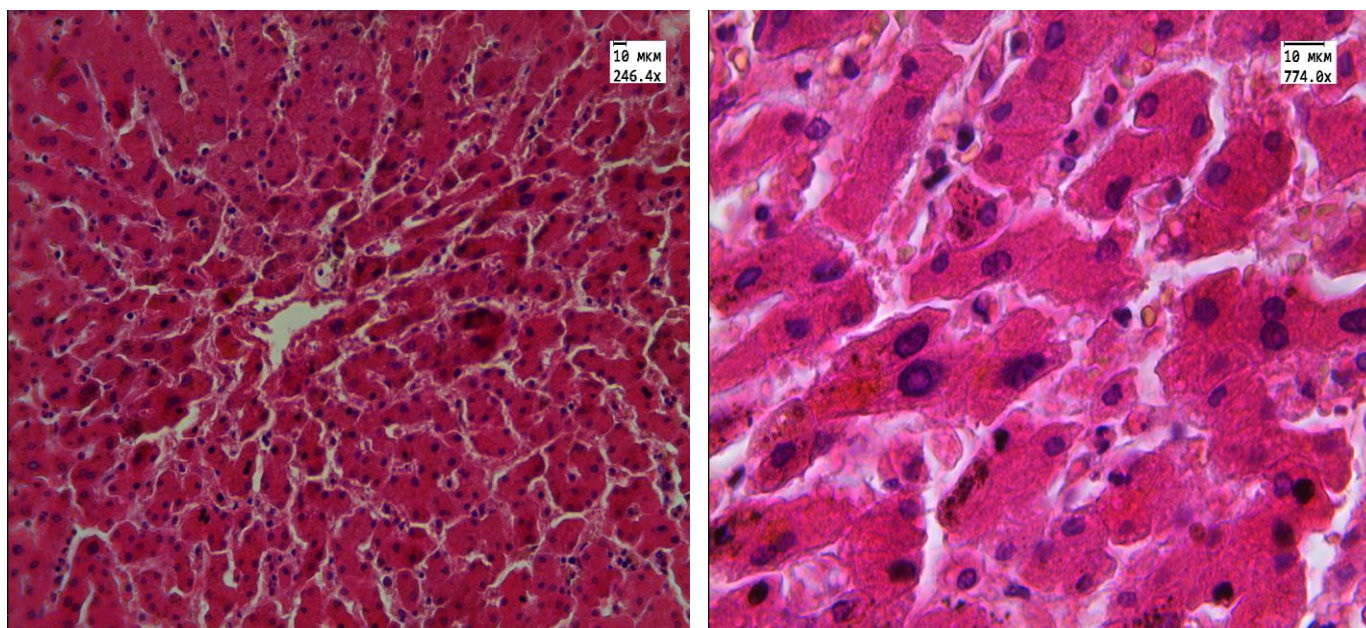


Рис. 3. Ткань печени пациента 3-й группы. Отложение пигмента липофусцина, увеличение ядер отдельных гепатоцитов, двуядерные клетки. Ув. 246,4, 774.

Окраска: гематоксилин-эозином

При морфометрическом исследовании количество гепатоцитов в поле зрения в среднем составило 86, количество двуядерных гепатоцитов – 4, площадь гепатоцита колебалась от 110,3 до 172,6 мкм<sup>2</sup>, а площадь ядра – от 10,4 до 17,9 мкм<sup>2</sup>, ядерно-цитоплазматическое соотношение было равно 0,1 (табл. 2).

Таблица 2

Морфометрические показатели исследуемых групп

Морфометрические показатели	1-я группа (сахарный диабет) Me [25;75]	2-я группа (гипергликемия) Me [25;75]	3-я группа (сравнения) Me [25;75]	Критерий Манна-Уитни (p1, p2)*
Количество гепатоцитов в поле зрения	18 [20;82]	60 [30;77]	86 [45;118]	p1=0,1; p2=0,09;
Количество двуядерных гепатоцитов в поле зрения	9 [4;13]	3 [2;8]	4 [2;5]	p1=0,07; p2=0,1;
Площадь гепатоцита (мкм <sup>2</sup> )	104 [79,7;134,1]	181 [145;213,1]	132 [110,3;172,6]	p1=0,04; p2=0,05;
Площадь ядра (мкм <sup>2</sup> )	24,1 [16,1;41]	15,1 [11,8;18,9]	13,7 [10,4;17,9]	p1=0,02; p2=0,1;
Ядерно-цитоплазматическое соотношение	0,25 [0,2; 0,6]	0,09 [0,07;0,11]	0,1 [0,08;0,16]	p1=0,008; p2=0,09;

p1 – при сравнении 1-й и 3-й групп; p2 – при сравнении 2-й и 3-й групп

По результатам микроскопического исследования выявлено, что во всех 3 группах наблюдались: отек, венозное полнокровие, лимфоцитарная инфильтрация портальных трактов, накопление бурого пигмента липофусцина. Данные повреждения печени могут являться следствием прямого действия COVID-19, гипоксии или же быть связаны с лекарственным повреждением печени, о чем свидетельствуют результаты других авторов [7, 8].

Наиболее высокий риск неблагоприятного исхода COVID-19 имеют пациенты с сахарным диабетом 2-го типа, ожирением, артериальной гипертензией. Данные заболевания выступают главными причинами альтерации печени у пациентов с COVID-19. [9].

В нашем исследовании при морфометрическом анализе ткани печени в группе лиц с сахарным диабетом количество гепатоцитов в поле зрения и их площадь были наименьшими,

что можно связать с массивными очагами некроза.

В то же время такие морфометрические показатели, как количество двуядерных гепатоцитов и площадь ядра, были выше, чем в группе сравнения, что может свидетельствовать о компенсаторной реакции ткани печени на повреждение.

Гипергликемия у пациентов с COVID-19 встречается достаточно часто. Это может быть связано с назначением глюкокортикостероидов, а также с деструкцией панкреатических  $\beta$ -клеток [8, 9].

При сравнении морфометрических показателей группы пациентов с индуцированной гипергликемией и пациентов 3-й группы было выявлено уменьшение количества гепатоцитов в поле зрения и снижение количества двуядерных гепатоцитов, однако эти различия были статистически не значимы. Статистически значимые различия наблюдались в показателе «площадь гепатоцита». Увеличение размеров гепатоцитов в группе стероидиндуцированной гипергликемии можно связать с компенсаторной гипертрофией клеток печени при инфекции.

### **Заключение**

В результате исследования было установлено, что у пациентов всех групп в ткани печени наблюдаются умеренный перипортальный фиброз и лимфоцитарная инфильтрация портальных трактов, жировая дистрофия разной степени выраженности и внутриклеточное накопление липофусцина.

Максимально выраженное повреждение печени отмечали в группе больных сахарным диабетом (очаги некрозов, паренхиматозная жировая дистрофия, снижение количества и уменьшение площади гепатоцитов). Наряду с повреждением в ткани печени наблюдались и компенсаторно-приспособительные процессы в виде увеличения количества двуядерных гепатоцитов, увеличения ядра и ядерно-цитоплазматического соотношения в клетках.

При гипергликемии, которая у данных пациентов может быть связана как с приемом глюкокортикостероидов, так и с цитопатическим действием на клетки поджелудочной железы коронавирусной инфекции, отмечались деструктивные процессы в печени, но в меньшей степени выраженности, чем при сахарном диабете.

### **Список литературы**

1. Bongiovanni M., Marra A.M. COVID-19 infection as a systemic disease. Clin Res Trials 7. 2021. DOI: 10.15761/CRT.1000332
2. Soo Lim, Jae Hyun Bae, Hyuk-Sang Kwon, Michael A. Nauck. COVID-19 and diabetes mellitus: from pathophysiology to clinical management. Nature Reviews Endocrinology. 2021. Vol.

17. P. 11–30.

3. Zhou F., Zhang Y., Chen J., Xuemei Hu., Yancheng Xu. Liraglutide attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *European journal of pharmacology*. 2016. Vol. 791. P. 735-740.

4. Жмеренецкий К.В., Витько А.В., Петричко Т.А., Витько Л.Г., Воронина Н.В., Бухонкина Ю.М., Ушакова О.В., Сазонова Е.Н., Дорофеев А.Л., Неврычева Е.В. Сложные вопросы ведения пациентов с COVID-19, коморбидных по сердечно-сосудистым заболеваниям и сахарному диабету 2 типа // *Дальневосточный медицинский журнал*. 2020. № 2. С. 102-114.

5. Kohio H.P., Adamson Amy L. Glycolytic control of vacuolar-type ATPase activity: a mechanism to regulate influenza viral infection. *Virology*. 2013. Vol. 444 (1-2). P. 301–309.

6. Moutschen M.P., Scheen A.J., Lefebvre P.J. Impaired immune responses in diabetes mellitus: analysis of the factors and mechanisms involved. Relevance to the increased susceptibility of diabetic patients to specific infections. *Diabete Metab*. 1992. Vol. 18(3). P. 187–201.

7. Винокуров А.С., Никифорова М.В., Оганесян А.А., Винокурова О.О., Юдин А.Л., Юматова Е.А. COVID-19. Поражение печени – особенности визуализации и возможные причины // *Медицинская визуализация*. 2020. № 24 (3). С. 26–36.

8. Александров Д.А., Тимошина П.А., Тучин В.В., Маслякова Г.Н., Палатова Т.В., Седов Д.С., Измайлов Р.Р. Динамика показателей лазерной спекл-визуализации кровотока в тканях при временной частичной локальной ишемии поджелудочной железы у голодных, сытых и алкоголизованных крыс // *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2016. № 12(2). С. 106-109.

9. Сандлер Ю.Г., Винницкая Е.В., Хайменова Т.Ю., Бордин Д.С. Клинические аспекты повреждения печени при COVID-19 // *Эффективная фармакотерапия*. 2020. Т. 16. № 15. С. 18–23.