

УДК 616.33/.34-073.43-018.1:[616.98:578.834.1]

СОПОСТАВЛЕНИЕ ДАННЫХ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ COVID-19-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА (ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Юрковский А. М.¹, Бойко М. А.¹, Назаренко И. В.¹, Ачинович С. Л.²

¹ Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Республика Беларусь;

² Учреждение «Гомельский областной клинический онкологический диспансер»,
г. Гомель, Республика Беларусь

Реферат. Целью исследования было оценить возможность применения ультразвукового метода для диагностики COVID-19-ассоциированных изменений желудочно-кишечного тракта. Для достижения поставленной цели было выполнено секционное исследование желудка и кишечника у 11 пациентов (средний возраст $64,6 \pm 10,1$ лет), умерших от инфекции COVID-19 и 11 пациентов, не имевших клинических и лабораторных признаков COVID-19 инфекции (средний возраст $67,2 \pm 8,8$ лет). Ультразвуковой паттерн при COVID-19-ассоциированном поражении желудочно-кишечного тракта был одинаковым. Чаще всего в толще слизистой оболочки выявлялись фокусы пониженной эхогенности с нечеткими и неровными контурами (очаги лимфоидной инфильтрации). Наиболее часто встречающимся вариантом ультразвукового паттерна при COVID-19-ассоциированном поражении желудочно-кишечного тракта является наличие в толще слизистой оболочки фокусов пониженной эхогенности с нечеткими и неровными контурами.

Ключевые слова: желудочно-кишечный тракт, COVID-19 инфекция.

Введение. Ассоциированные с COVID-19 инфекцией поражения желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) отмечаются у 11,4–61,1 % пациентов [1–5]. При этом клинические проявления вовлечения ЖКТ в патологический процесс неспецифичны (рвота, боль в животе, диарея), а потому и возникает необходимость в проведении ультразвукового исследования органов брюшной полости, поскольку указанные симптомы могут появляться не только в дебюте заболевания, но и после того, как исчезнут респираторные симптомы [5]. Но проблема в том, что ультразвуковых диагностических критериев COVID-19-ассоциированных поражений ЖКТ нет. Как, впрочем, нет и данных об инцидентности COVID-19-ассоциированных поражений в разных отделах ЖКТ. Отсюда и необходимость прояснения этих вопросов путем сопоставления данных морфологических и ультразвуковых исследований.

Цель работы — оценка возможности применения ультразвукового метода для диагностики COVID-19-ассоциированных изменений желудочно-кишечного тракта путем сопоставления данных ультразвуковых и морфологических исследований.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели было выполнено секционное

исследование желудка и кишечника у 11 пациентов группы контроля (средний возраст $67,2 \pm 8,8$ лет), умерших от различных причин, не связанных с COVID-19 инфекцией, 11 субъектов опытной группы (средний возраст $64,6 \pm 10,1$ лет), имевших клинические проявления и умерших от COVID-19 инфекции. Вскрытие и забор материала проводились не позже 3 ч с момента констатации биологической смерти.

Наличие COVID-19 инфекции у пациентов опытной группы было подтверждено методом ПЦР в режиме реального времени: на анализаторе Rotor Gene Q, Qigen (Германия) определялась РНК SARS-CoV-2 с использованием готовых наборов реагентов «АртБиоТех» (Республика Беларусь). Критерием отбора субъектов в опытную группу было отсутствие в медицинской карте стационарного пациента сведений о наличии у них заболеваний ЖКТ.

Все образцы тканей (желудка, тонкой и толстой кишок), изъятых у исследованных пациентов, помещались в латексный контейнер с стерильной звукопроводящей средой, обеспечивающей максимальный контакт между ультразвуковым преобразователем и исследуемым объектом. Каждому образцу присваивался идентификационный номер. Ультразвуковое

исследование проводилось параллельно (для оценки вероятности потери диагностически значимой информации) на аппарате высокого класса Mindray DC-7 и аппарате экспертного класса Mindray DC-80. Исследование проводилось в В-режиме двумя специалистами независимо друг от друга («ослепленное исследование») по единой методике.

На заключительном этапе производилось приготовление гистологических препаратов: исследуемые кусочки тканей фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине и подвергали стандартной проводке с заливкой в парафин; далее из парафиновых блоков готовили гистологические срезы толщиной 4 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином и использовали для обзорной микроскопии. Также выполнялось иммуногистохимическое исследование препаратов желудка, при котором изучали экспрессию маркеров Т-лимфоцитов с использованием моноклональных антител производства Leica Biosystems Newcastle Ltd. (UK) CD3 (клон LN10), CD4 (клон 4B12), CD8 (клон 4B11); маркера В-лимфоцитов CD20 (клон L26), маркера NK-лимфоцитов CD57 (клон NK-1), маркера макрофагов CD68 (клон 514H12), маркера лаброцитов CD117 (клон EP10). Использовалась проявляющая система Novolink Polymer Detection Systems производства Leica Biosystems Newcastle Ltd. (UK). Оценка экспрессии ИГХ-маркеров проводилась в 6 случайных полях зрения (объектив 40), исходя из 1000 обследованных клеток.

Статистический анализ проводился с применением пакета прикладных программ

Statistica 10,0 (StatSoft, Inc., США, лицензия № AXXR012E839529FA). В случае распределения количественных показателей отличного от нормального данные представлялись в виде медианы 25-го и 75-го перцентилей: Me [25; 75], при нормальном распределении признака — в виде среднего арифметического и стандартного отклонения среднего арифметического ($M \pm SD$). Для оценки статистической значимости различий сравниваемых показателей использовался *t*-критерий Стьюдента и *U*-тест Манна – Уитни.

Результаты и их обсуждение. У всех обследованных субъектов опытной группы в толще слизистой оболочки выявлялись фокусы пониженной эхогенности с нечеткими и неровными контурами. Инцидентность указанных изменений в разных отделах желудочно-кишечного тракта была следующей: в желудке — в 100 % случаев, в двенадцатиперстной кишке — в 25 %, в тощей кишке — в 55 %, в подвздошной кишке — в 35 %, в слепой кишке — в 18 %, в восходящей ободочной кишке — в 15 %, в поперечной ободочной кишке — в 15 %, в нисходящей ободочной кишке — в 41 %, в сигмовидной ободочной кишке — в 55 %, в прямой кишке — в 75 %. В отличие от опытной группы в группе контроля ни в одном случае описанные выше изменения в стенке желудка и кишечника не выявлялись.

При гистологическом исследовании материала, взятого из участков пониженной эхогенности, выяснилось, что их патоморфологическим субстратом являются зоны лимфоидной инфильтрации (рисунок 1).

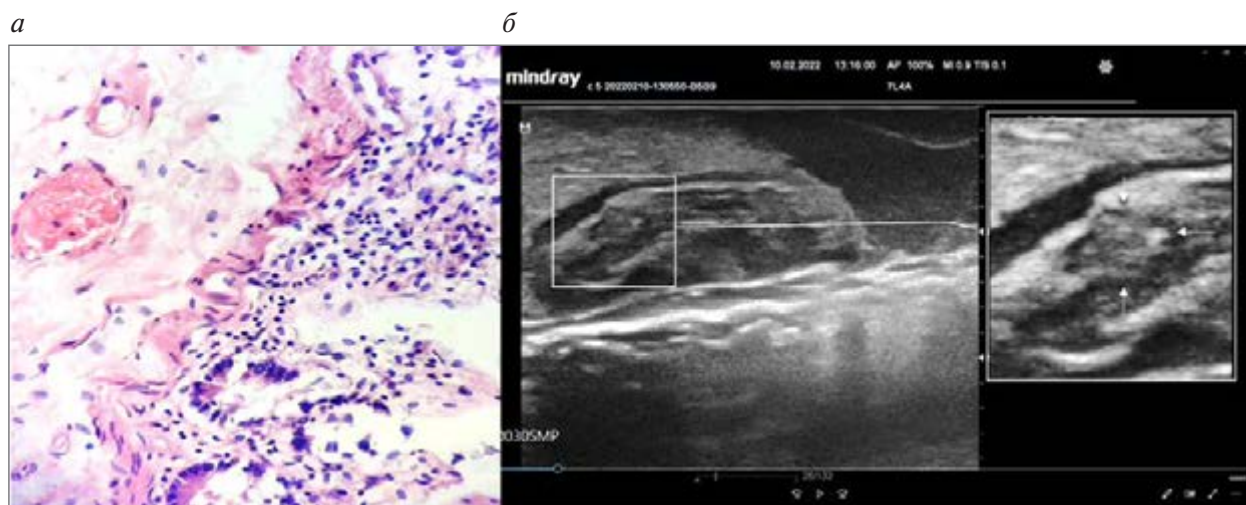


Рисунок 1 — COVID-19-ассоциированные изменения ЖКТ (толстая кишка):

а — гистологический паттерн (микрофотография) слизистой с полнокровием сосудов и умеренной лимфоплазмоцитарной инфильтрацией слизистой оболочки. Окраска: гематоксилин и эозин. Увеличение: объектив 60; **б** — ультразвуковой паттерн зоны лимфоплазмоцитарной инфильтрации

С целью получения более четкого представления о характере патоморфологических изменений в фокусах пониженной экзогенности, выявленных в стенке желудка и кишечника у пациентов с COVID-19 инфекцией была

проведена оценка экспрессии маркеров Т-лимфоцитов (CD3, CD4, CD8), В-лимфоцитов (CD20), NK-лимфоцитов (CD57), макрофагов (CD68) и лаброцитов (CD117). Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Экспрессия маркеров Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, NK-лимфоцитов, макрофагов и лаброцитов в группе контроля и опытной группе

Фенотип лимфоцитов	Исследованные пациенты	Удельный вес различных типов лимфоцитов (%)	Критический уровень значимости различий
CD8+ Т-лимфоциты	Группа контроля	17,9 ± 0,8 17,9 [17,4; 18,8]	$p = 0,00001$
	Опытная группа	6,6 ± 0,6 6,8 [6,1; 6,8]	
CD117+ лаброциты и др.	Группа контроля	5,0 ± 0,6 4,9 [4,5; 5,5]	$p = 0,00001$
	Опытная группа	9,8 ± 0,9 9,9 [9,0; 10,0]	
CD68+ макрофаги	Группа контроля	7,3 ± 0,8 7,5 [6,5; 7,8]	$p = 0,00001$
	Опытная группа	9,8 ± 0,9 9,6 [9,1; 10,6]	
CD3+ Т-лимфоциты	Группа контроля	40,1 ± 4,3 39,9 [8,5; 42,5]	$p = 0,00001$
	Опытная группа	29,9 ± 1,3 30,3 [28,5; 31,0]	
CD20+ В-лимфоциты	Группа контроля	21,3 ± 3,6 21,8 [18,2; 24,1]	$p = 0,96$
	Опытная группа	21,2 ± 2,9 21,8 [18,6; 23,9]	
CD57+ NK-лимфоциты	Группа контроля	15,5 ± 1,0 15,8 [14,5; 16,4]	$p = 0,00001$
	Опытная группа	9,4 ± 0,9 9,4 [8,8; 10,0]	
CD4+ Т-лимфоциты	Группа контроля	15,6 ± 0,5 15,7 [15,2; 16,1]	$p = 0,00001$
	Опытная группа	1,9 ± 0,3 1,9 [1,6; 2,2]	
Соотношение CD4/CD8	Группа контроля	0,29 ± 0,5 0,29 [0,24; 0,33]	$p = 0,00001$
	Опытная группа	0,87 ± 0,4 0,86 [0,84; 0,91]	

Судя по данным, представленным в таблице 1, у пациентов с COVID-19-ассоциированным поражением желудка по сравнению с пациентами без инфекции Covid-19 в лимфоидном инфильтрате статистически значимо реже определялась гиперэкспрессия общего маркера Т-лимфоцитов CD3 ($p = 0,00001$), маркера субпопуляции регуляторных Т-лимфоцитов CD4 ($p = 0,00001$), маркера субпопуляции цитотоксических Т-лимфоцитов CD8 ($p = 0,00001$),

маркера NK-лимфоцитов CD57 ($p = 0,00001$), маркера макрофагов CD68 ($p = 0,00001$), маркера тучных клеток CD117 ($p = 0,00001$). При этом не было выявлено значимых различий в показателях, отражающих экспрессию маркера В-лимфоцитов CD20 между группой контроля и опытной группой ($p = 0,96$).

Отсюда и предположение, что снижение экспрессии CD8, CD3, CD57, CD4 и повышение экспрессии CD117, CD68 в сравнении с

показателями группы контроля является признаком функционального истощения Т-лимфоцитов и естественных киллеров (с неизбежным в таком случае подавлением эффективности как врожденного, так и адаптивного иммунитета) с параллельным повышением активности лаброцитов, макрофагов и смещением цитокинового баланса в сторону провоспалительного ответа.

Обратила также на себя внимание еще одна особенность, а именно, снижение в опытной группе (по сравнению с группой контроля) показателя CD4/CD8, являющегося биомаркером иммунной активации ($p = 0,00001$).

Что касается изменений в сосудах микроциркуляторного русла слизистой оболочки желудка у пациентов опытной группы, то эти изменения (у 10 из 11) представляли собой множественные эритроцитарные сладжи, микротромбы, изменения эндотелиальных клеток венул (набухание ядер, хроматолиз, наличие увеличенных ядер неправильной формы). На ультразвуковых сканах описанным выше изменениям соответствовали разной протяженности участки неоднородного снижения эхогенности и прерывистость контуров слизистой (в местах эрозий). Наглядно это представлено на рисунке 2.

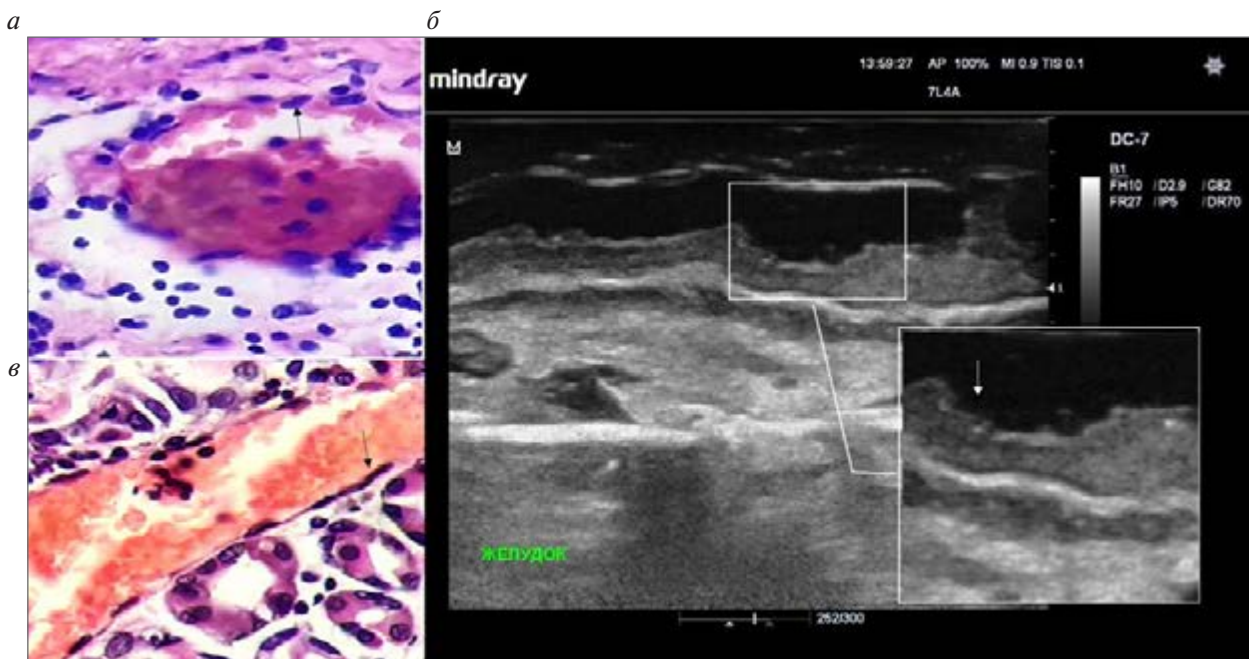


Рисунок 2 — Слизистая желудка:

а — гистологический паттерн (микрофотография, опытная группа): эндотелий, выстилающий венулу слизистой оболочки желудка, с полиморфными ядрами (указано стрелкой), в просвете сосуда эритроцитарные сладжи и пристеночные микротромбы (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 60$); **б** — гистологический паттерн (микрофотография): эндотелий, выстилающий венулу слизистой оболочки желудка, с вытянутыми ядрами обычного строения (указано стрелкой), в просвете сосуда скопления эритроцитов. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 60$; **в** — ультразвуковой паттерн: зона неоднородного понижения эхогенности с прерыванием (эрозия) контура слизистой (указано стрелкой)

В группе контроля ($n = 11$) картина, подобная приведенной выше, была выявлена у 2 пациентов с пангастритом.

Подводя итог следует отметить, что ограничением исследования следует считать небольшое количество наблюдений — это, во-первых, а во-вторых, нет полной уверенности в том, что у пациентов опытной группы не было «фоновых» заболеваний ЖКТ, которые

не нашли своего отражения в картах стационарного пациента.

Заключение. Полученные в ходе исследования данные позволяют сделать определенные выводы:

1. Ультразвуковым признаком поражения желудка и кишечника при COVID-19 инфекции, судя по всему, являются гипоехогенные участки (локально расположенные или распро-

страненные) в толще слизистой оболочки (эпителиальной, собственной и мышечной пластинок) и подслизистой основы.

2. Патоморфологическим субстратом указанных гипоезогенных участков является лимфоидный инфильтрат, состоящий из скоплений Т лимфоцитов (CD3, CD4, CD8), В-лимфоцитов (CD20), NK-лимфоцитов (CD57), макрофагов (CD68) и лаброцитов (CD117).

3. Основным отличием иммуногистохимического паттерна гипоезогенных участков

в толще слизистой оболочки и подслизистой основы является: снижение экспрессии CD8, CD3, CD57, CD4 и повышение экспрессии CD117, CD68 в сравнении с показателями группы контроля, что свидетельствует о функциональном истощении Т-лимфоцитов и естественных киллеров и подавлению эффективности как врожденного, так и адаптивного иммунитета с одновременным повышением активности лаброцитов, макрофагов.

Список цитированных источников

1. Gastrointestinal manifestations of COVID-19: results from a European centre/ T. Leal [et al.] // European J. Gastroenterology & Hepatology. — 2021. № 33 (5). — P. 691–694. DOI: 10.1097/MEG.0000000000002152.
2. Gastrointestinal manifestations in COVID-19 / J. C. Kariyawasam [et al.] // Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. — 2021. — № 115 (12). — P. 1362–1388. DOI:10.1093/trstmh/tra042
3. Gastrointestinal Manifestations of COVID-19: a review of what we know / A. Groff [et al.] // Ochsner J. — 2021. — № 21 (2). — P. 177–180. DOI: 10.31486/toj.20.0086.
4. Поражение желудочно-кишечного тракта, печени и поджелудочной железы при COVID-19 / А. М. Щикота [и др.] // + Доказательная гастроэнтерология. — 2021. — № 10 (1). — С. 30–37. DOI: 10.17116/dokgastro2021100113.
5. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) и система органов пищеварения / В. Т. Ивашкин [и др.] // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2020. — № 30 (3). — С. 7–13. DOI: 10.22416/1382-4376-2020-30-3-7.

COVID-19-associated changes in the gastrointestinal tract: a comparison of ultrasound and morphological data (a pilot study)

Yurkovski A. M.¹, Boyko M. A.¹, Nazarenko I. V.¹, Achinovich S. L.²

¹Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

²Institute “Gomel Regional Oncological Clinic”, Gomel, Republic of Belarus

The research research the possibility of ultrasound techniques to diagnose COVID-19-associated changes in the gastrointestinal tract by comparing ultrasound and morphological data. To achieve this goal, a gastric and intestinal sectional study was performed in 11 patients (age $64,6 \pm 10,1$ years) who died of COVID-19 infection and 11 patients who had no COVID-19 infection (age $67,2 \pm 8,8$). Ultrasound pattern in COVID-19-associated lesions of the gastrointestinal tract was similar. Most often, foci of reduced echogenicity with indistinct and uneven contours were detected in the mucosa. The most frequently encountered variant of the ultrasound pattern in Cov19-associated lesions of the gastrointestinal tract is the presence of reduced echogenicity foci with indistinct and uneven contours in the mucosa.

Keywords: gastrointestinal tract, COVID-19 infection.

Поступила 02.06.2022