

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ ЩУРА ПРИ ГОСТРОМУ РЕСПІРАТОРНОМУ ДИСТРЕС-СИНДРОМІ У РІЗНІ ТЕРМІНИ ЕКСПЕРИМЕНТУ

Морфологічні зміни печінки щура при гострому респіраторному дистрес-синдромі у різні терміни експерименту

О. С. Редько, А. І. Довгалюк

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

Резюме. Гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) є головною причиною смертності пацієнтів із COVID-19. Частим ускладненням перебігу ГРДС є ураження печінки, що може виникати унаслідок гіпоксичних змін, зумовлених дихальними розладами, синдромом системної запальної відповіді, цитокіновий шторм та синдром дисемінованого внутрішньосудинного зсідання крові (ДВЗ-синдрому). Це все і є проявом множинної органної недостатності, що розвивається при даному синдромі.

Мета дослідження – оцінити структурні зміни у печінці щурів на різних стадіях експериментального гострого респіраторного дистрес-синдрому, спричиненого інтраназальним введенням ліпополісахариду.

Матеріали і методи. Експеримент проведено на 48 статевозрілих білих щурах-самцях. ГРДС моделювали шляхом інтраназального введення ліпополісахариду (ЛПС) у дозі 5 мг/кг маси тіла. Забір матеріалу проведено на 6 та 24 год, 3, 7 та 14 доби. Гістологічні дослідження виконано згідно із загальноприйнятими методиками.

Результати. У тканинах печінки щурів контрольної групи відхилень від норми виявлено не було. На 6 год після введення ЛПС спостерігалися розширені кровонаповнені судини печінки та інфільтрація триад клітинами запалення. На 24 год після ЛПС зберігалася інфільтрація лейкоцитами периваскулярного простору та розширення портальних вен. Також наявні темні гепатоцити з фігурами мітозу. На 3 добу у венах та синусоїдах видно ознаки тромбозу. Структура печінки порушена. У ній фіксуються темні та світлі типи гепатоцитів. Наявні гепатоцити з пікнотичними ядрами. На 7 добу венозні тромби починають лізуватися. Видно багато пікнотичних ядер гепатоцитів. На 14 добу часточкова структура печінки залишається порушеною. Видно чіткі окремі групи темних та світлих гепатоцитів. Зберігається наявність гепатоцитів із пікнотичними ядрами. Залишаються ознаки гемостазу в судинах.

Висновки. Встановлено, що при ГРДС, який ми моделювали, наявні патологічні зміни в структурних компонентах печінки, які відповідають описаному ураженню печінки при COVID-19, гіпоксичному ураженню печінки та ДВЗ-синдромі, що зумовлені клінічним ГРДС.

©О. С. Редько, А. І. Довгалюк, 2022

Morphological changes in rat liver during acute respiratory distress syndrome at different periods of experiment

O. S. Redko, A. I. Dovgalyuk

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

e-mail: redko_os@tdmu.edu.ua

Summary. Acute respiratory distress-syndrome (ARDS) is the leading cause of death of patients with COVID-19. Liver injury is a common complication during ARDS which can occur as a result of hypoxic changes caused by respiratory disorders, systemic inflammatory response syndrome, cytokine storm and disseminated intravascular coagulation syndrome (DIC) and is a manifestation of multiple organ failure which develops with this syndrome.

The aim of the study – to assess the structural changes in rat liver at different stages of the experimental ARDS.

Materials and Methods. For this study 48 mature white male rats were used. ARDS was modelled through intranasal administration of lipopolysaccharide (LPS) at a dose of 5 mg/kg. Tissues were harvested after 6h, 24h, 3 days, 7 days and 14 days. Histological studies were carried out according to generally accepted methods.

Results. The tissues of control group did not contain any abnormalities. 6 hours after LPS there were dilated blood-filled vessels and inflammatory cell infiltration. 24 hours after LPS the perivascular leukocyte infiltration and the portal veins dilatation remained. There were dark hepatocytes with mitotic figures. On the 3rd day there were visible signs of thrombosis in the veins and sinusoids. The liver structure was damaged. It contained dark and light hepatocyte types. There were hepatocytes with the pyknotic nuclei. On the 7th day venous thrombi began dissolving. There were many pyknotic hepatocytic nuclei visible. On the 14th day the lobular liver structure remained damaged. There were separate groups of dark and light hepatocytes visible. Hepatocytes with the pyknotic nuclei remained. There were still signs of vascular haemostasis.

Conclusions. It has been established that the ARDS modelled by us causes the pathological changes of liver structural components that correspond to the liver damage during COVID-19, hypoxic liver injury and DIC caused by the clinical ARDS.

Ключові слова: гострий респіраторний дистрес-синдром; ураження печінки; печінкова недостатність.

Key words: acute respiratory distress syndrome; liver injury; liver failure.

ВСТУП

SARS-CoV-2 спричинив світову пандемію коронавірусної хвороби COVID-19. Головною причиною смертності при COVID-19 є дисеміноване ураження легень, що супроводжується розвитком гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС) [1]. ГРДС – це гостра дихальна недостатність, що характеризується значною гіпоксемією, некардіогенним набряком легень, дифузним альвеолярним ураженням та наявністю легеневих клітинних інфільтратів [2, 3]. Найчастішим ускладненням перебігу ГРДС є ураження печінки, що може виникати унаслідок гіпоксії та гіпоксемії, зумовлених дихальними розладами та кардіоваскулярними змінами, а також унаслідок синдрому системної запальної відповіді та цитокинового шторму. В тяжких випадках настає печінкова недостатність, яка характеризується жовтяницею, асцитом, печінковою енцефалопатією та гіпокоагуляцією [4, 5]. Незважаючи на наявну велику кількість наукових робіт, в яких описані патологічні зміни організму, зумовлені ГРДС, основний акцент у них припадає на органи респіраторної системи, разом з тим, як інші органи, в тому числі печінка, висвітлені недостатньо. Тому експериментальні дослідження, присвячені виключно патоморфології печінки, є актуальними і доцільними з теоретичної і практичної точки зору.

Метою дослідження було оцінити структурні зміни у печінці щурів на різних стадіях експериментального гострого респіраторного дистрес-синдрому, спричиненого інтраназальним введенням ліпопохісахариду.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експериментальні дослідження проведені на 48 здорових статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар

масою 200–220 г. Тварин утримували у стандартних умовах віварію [6]. У ході експерименту дотримані принципи біоетики.

Роботу виконано у рамках держбюджетної науково-дослідної роботи «Дослідження регенеративного потенціалу засобів клітинної терапії при гострому респіраторному дистрес-синдромі» (2021–2023 рр., номер державної реєстрації 0121U100159). ГРДС моделювали шляхом інтраназального введення ЛПС у дозі 5 мг/кг маси тіла щура. Під час моделювання патології тварини були під дією кетамінового наркозу. Морфологічні зміни аналізували на 6 та 24 год, 3, 7 та 14 доби. Евтаназію проведено шляхом термінального наркозу за допомогою тіопентал-На з наступним кровопусканням.

Гістологічні дослідження матеріалу печінки виконано згідно із загальноприйнятою методикою [7].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Мікроскопічні дослідження печінки інтактних щурів не виявили значних видових особливостей будови. Спостерігалися печінкові часточки шестигранної форми з центральною веною, печінковими синусоидами, розташованими між радіальними балками гепатоцитів, а також порталними трактами, розташованими в кутах часточок (рис. 1).

На 6 год після введення ЛПС з'являються значні судинні порушення, а саме, зміни мікроциркуляторного русла печінки. Просвіти міжчасточкових і підчасточкових вен розширені, у них помічені формені елементи крові. Також наявні розширені гемокapіляри, поодинокі синусоїдні тромби та лейкоцитарна інфільтрація триад. Радіальне розташування гепатоцитів у вигляді печінкових балок збережене (рис. 2).

На 24 год після введення ЛПС зберігається лейкоцитарна інфільтрація триад. Портальні вени

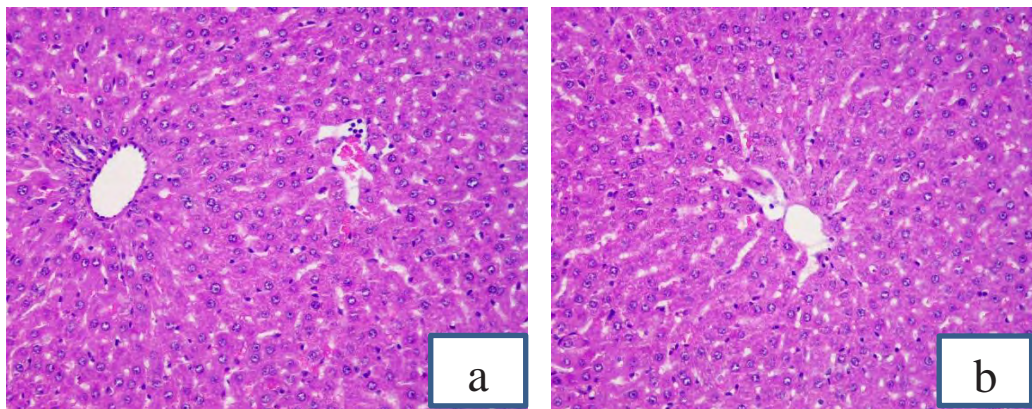


Рис. 1. Гістологічна будова печінки інтактних щурів: а – часточково-балкове розташування гепатоцитів, порталний тракт; б – центральна вена. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 200$.

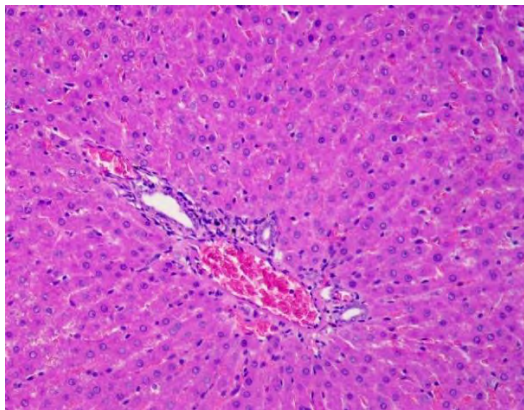


Рис. 2. Гістологічні зміни у печінці щурів на 6-ту годину після змодельованого гострого респіраторного дистрес-синдрому. Розширені кровонаповнені судини. Синусоїдні тромби. Лейкоцитарна інфільтрація триад. Забарвлення гематоксилином та еозином. x200.

значно розширені, у просвіті знаходяться еритроцити (рис. 3, а). Спостерігаються світлі гепатоцити з підвищеною вакуолізацією цитоплазми та темними гетерохроматиновими ядрами. Частина клітин зруйнована. Подекуди виявляються темні гепатоцити з базофільною цитоплазмою і фігурами мітозу

(рис. 3, б). Очевидно, такі клітини відповідають за регенерацію печінкових балок.

На 3-ю добу після введення ЛПС спостерігалися розширені та кровонаповнені судини, тромби у венах та синусоїдах, зумовлені порушенням цілості ендотеліоцитів, а також периваскулярна лейкоцитарна інфільтрація (рис 4, а) Трабекулярна будова печінки порушена. Наявні темні й світлі типи гепатоцитів. Багато гепатоцитів із пікнотичними ядрами (рис. 4, б).

На 7-му добу в портальних венах та подекуди в капілярах печінки наявні ознаки гемостазу, включно з тромболізисом. На фоні деструктивних та некротичних змін подекуди спостерігаються двоядерні гепатоцити, однак чимало гепатоцитів має пікнотичні ядра (рис. 5).

На 14-ту добу в судинах печінки ще зберігалися ознаки гемостазу. Паренхіма складалася із чітко відокремлених груп світлих та темних гепатоцитів. Багато гепатоцитів з пікнотичними ядрами. Структура балок та часточок залишалася порушеною (рис. 6).

Патологічні зміни при змодельованому ГРДС розвивалися поступово. У ранній стадії (6 год) структура печінки залишалася незміненою, разом з тим,

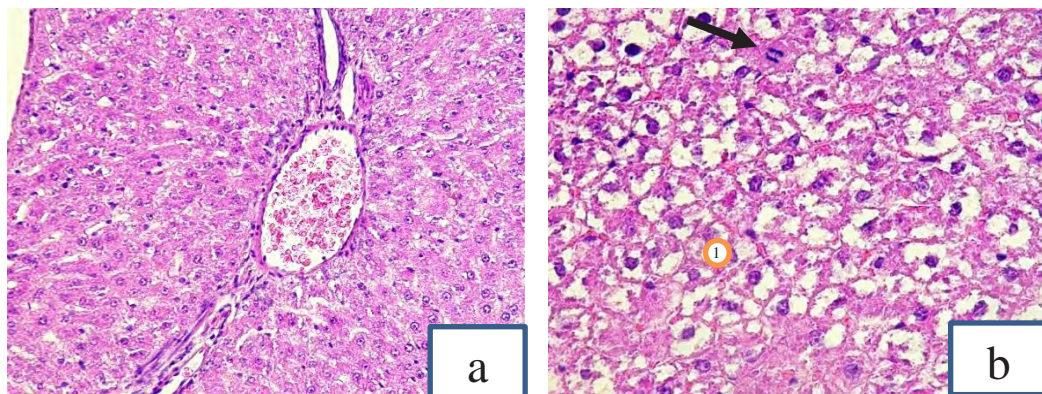


Рис. 3. Гістологічні зміни у печінці щурів на 24-ту год після змодельованого гострого респіраторного дистрес-синдрому: а – розширений кровонаповнений простір вени, лейкоцитарна інфільтрація периваскулярного простору; б – світлі гепатоцити з підвищеною вакуолізацією цитоплазми (1). Стрілкою вказаний темний гепатоцит на стадії анафази. Забарвлення гематоксилином та еозином. x200.

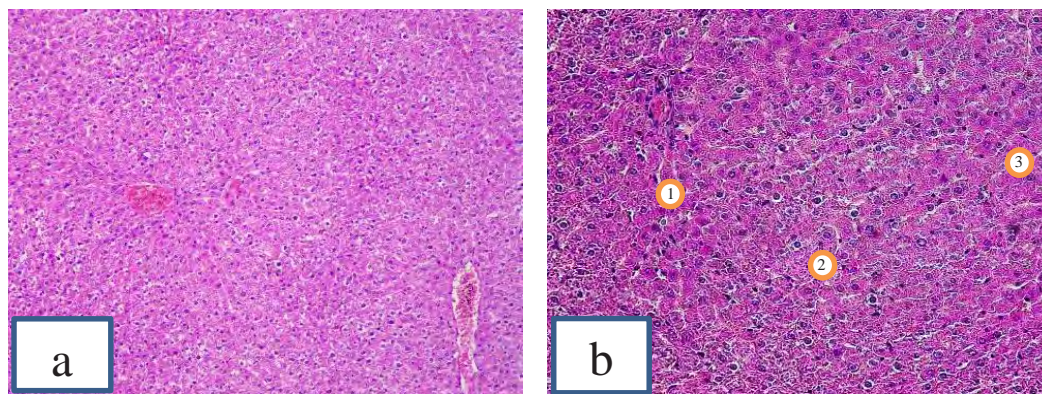


Рис. 4. Гістологічні зміни у печінці щурів на 3-ю добу після змодельованого гострого респіраторного дистрес-синдрому: а – периваскулярна лейкоцитарна інфільтрація. Венозні тромби. Розширені й кровонаповнені судини; б – порушення трабекулярної будови печінки. Темні (1) та світлі (2) типи гепатоцитів. Пікноз (3). Забарвлення гематоксилином та еозином. x100 (а), x200 (б).

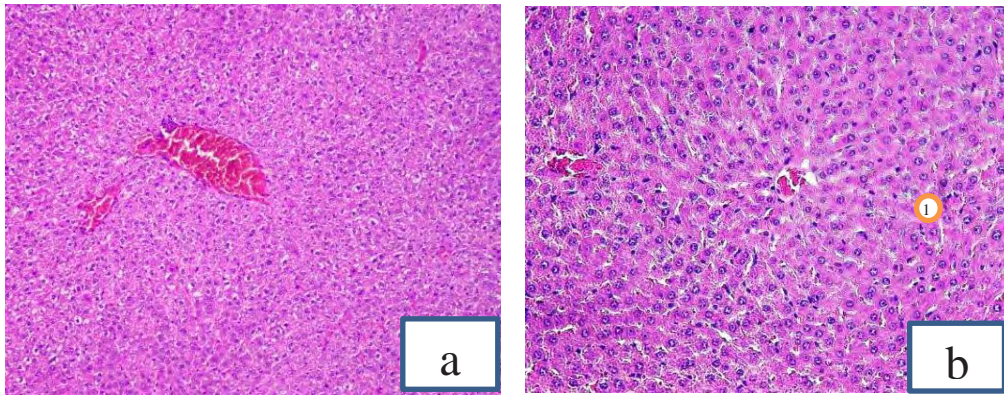


Рис. 5. Гістологічні зміни у печінці щурів на 7-му добу після змодельованого гострого респіраторного дистрес-синдрому. Лізовані венозні тромби. Пікноз (1). Забарвлення гематоксилином та еозином. x100 (a), x200 (b).

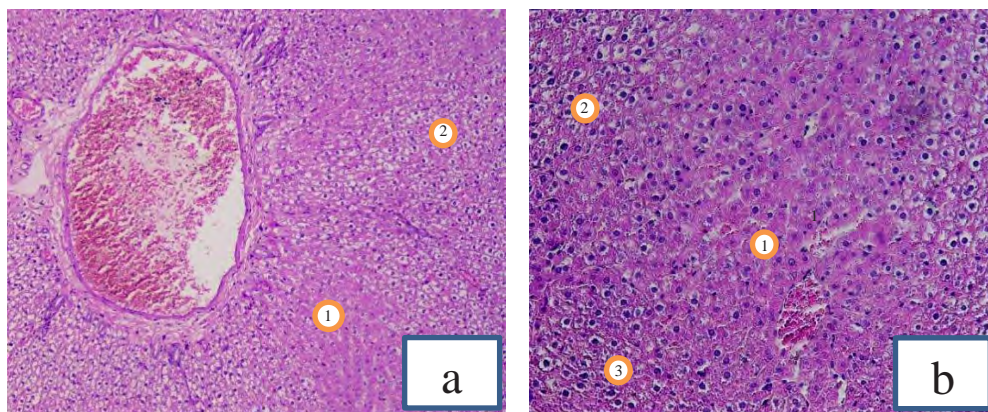


Рис. 6. Гістологічні зміни у печінці щурів на 14-ту добу після змодельованого гострого респіраторного дистрес-синдрому. Лізований венозний тромб. Темні (1) та світлі (2) гепатоцити. Пікноз (3). Порушення структури часточок. Забарвлення гематоксилином та еозином. x100 (a), x200 (b).

як на 24-ту год почали спостерігатися ознаки некрозу гепатоцитів, а на 3-ю добу та пізніші стадії будова печінки була порушена. У початкових стадіях (6–24 год) судини печінки були розширені та кровонаповнені, тоді як на 3-ю добу в мікроциркуляторному руслі почали з'являтися тромби, що на 7-му добу почали лізуватися.

Світлі та темні гепатоцити, які ми відмітили, також описав С. Г. Полінкевич при моделюванні хронічного токсичного гепатиту на щурах. У світлих клітинах автор зазначає наявність ознак дистрофії із подальшим некрозом [8].

Поява тромбів у судинах печінки, що спостерігалася при ГРДС, який ми змодельовали, є ознакою розвитку синдрому дисемінованого внутрішньосудинного зсідання крові (ДВЗ-синдрому) – частого ускладнення ГРДС, що настає унаслідок дисрегульованого запального процесу та асоційованого з ним порушення коагуляції [9]. ДВЗ-синдром здатний призводити до поліорганної недостатності, яка є головною причиною смертності при ГРДС. Дисфункція коагуляції при ГРДС виникає унаслідок активації тканинного фактора, який запускає інші ланки зсідання крові, а також втрати ендогенної антикоагулянтної

функції [10]. При ДВЗ-синдромі унаслідок нерегульованої внутрішньосудинної гіперкоагуляції формуються тромби у мікро- та макроциркуляторному руслі. При цьому порушується кровообіг, настає ураження ендотелію та мікроциркуляторного русла [11, 12].

Загибель гепатоцитів та інфільтрація печінки клітинами запалення, які ми описали при змодельованому ГРДС, можна пояснити гепатоцелюлярною гіпоксією [13]. Гіпоксичне ураження печінки виникає унаслідок гіпоксемії, спричиненої порушенням оксигенації при ГРДС [14].

Запальні зміни тканин печінки, які ми описали, також спостерігаються при COVID-19. Вони проявляються у появі тромбів у печінкових судинах, інфільтрації портальної тріади клітинами запалення, детеріорації гепатоцитів та некротичних змінах часточок [15, 16]. Відомо, що у розвитку ураження печінки при COVID-19 важливим фактором є гіпоксія та шок, викликані ГРДС, синдромом системної запальної відповіді та множинною недостатністю органів. Це, у свою чергу, призводить до гіперперфузії печінки та подальшого некрозу гепатоцитів [17, 18]. Також ішемічні та гіпоксичні зміни печінки при COVID-19 виникають унаслідок ДВЗ-синдрому, що

проявляється у розвитку мікрovasкулярного тромбозу [19]. Дослідження біопсії печінки 48 пацієнтів, які померли від COVID-19, виявили значний тромбоз на порталному та синусоїдному рівні, а також портальний фіброз із активацією перицитів [20].

ВИСНОВКИ

Експериментально змодельований ГРДС викликає значні зміни у компонентах тканин печінки. Характер і ступінь морфологічних ушкоджень органа неоднаковий у різні періоди експерименту. На початкових стадіях спостерігалось розширення просвіту мікроциркуляторного русла печінки та

збільшення його кровонаповнення, разом з тим, як структура печінки ще залишається збереженою. У пізніх стадіях ГРДС переважали тромби судин, які у подальшому лізувалися. Гепатоцити зазнавали некротичних змін, унаслідок чого порушувалася часточково-балкова будова печінки. Як на ранніх, так і на пізніх стадіях ГРДС відмічалася інфільтрація тканин печінки клітинами запалення.

Патологічні зміни печінки при експериментальному ГРДС корелюють з тими, які були описані при ураженні печінки унаслідок COVID-19, гіпоксичному ураженні печінки та ДВЗ-синдромі, що є причинами ураження печінки при клінічному ГРДС.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Pathophysiological mechanisms of liver injury in COVID-19 / A. D. Nardo, M. Schneeweiss-Gleixner, M. Bakail [et al.] // *Liver Int.* – 2021. – Vol. 41 (1). – P. 20–32. DOI: 10.1111/liv.14730.
2. Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) / V. Shyamala, R. Harini, D. Manikandan, S. M. Riyaz // *An. Epidemiological Update on COVID-19.* – 2022. – Vol. 1.
3. Pathogenesis of acute respiratory distress syndrome / L. A. Huppert, M. A. Matthay, L. B. Ware // *In Seminars in respiratory and critical care medicine.* – 2019. – Vol. 40, No. 01. – P. 31–39. DOI: 10.1055/s-0039-1683996.
4. Liver-lung interactions in acute respiratory distress syndrome / R. Herrero, G. Sánchez, I. Asensio, López E [et al.] // *Intensive Care Med. Exp.* – 2020. – Vol. 8 (1). – P. 1–13. DOI: 10.1186/s40635-020-00337-9.
5. Risk factors and outcomes of acute respiratory distress syndrome in critically ill patients with cirrhosis / P. Yang, P. Formanek, S. Scaglione, M. Afshar // *Hepatol. Res.* – 2019. – Vol. 49 (3). – P. 335–343. DOI: 10.1111/hepr.1324.
6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Інтерсервіс, 2017. – 179 с.
7. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський. – Житомир : Полісся, 2015. – 286 с.
8. Особливості ультраструктури печінки молодих ставонезрілих щурів при хронічному токсичному гепатиті / С. Г. Полінкевич // *Вісник морфології.* – 2014. – Vol. 20, № 2. – С. 375–379.
9. The significance of disseminated intravascular coagulation on multiple organ dysfunction during the early stage of acute respiratory distress syndrome / S. Gando, S. Fujishima, D. Saitoh [et al.] // *Thrombosis research.* – 2020. – Vol. 191. – P. 15–21. DOI: 10.1016/j.thromres.2020.03.023.
10. Coagulation dysfunction in acute respiratory distress syndrome and its potential impact in inflammatory subphenotypes / S. A. Livingstone, K. S. Wildi, H. J. Dalton [et al.] // *Frontiers in Medicine.* – 2021. – Vol. 8. – P. 723217. DOI: 10.3389/fmed.2021.723217.
11. Acute respiratory distress syndrome as an organ phenotype of vascular microthrombotic disease: based on hemostatic theory and endothelial molecular pathogenesis / J. C. Chang // *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis.* – 2019. Vol. 25. DOI: 10.1177/1076029619887437.
12. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries / G. Bellani, J. G. Laffey, T. Pham [et al.] // *JAMA.* – 2016. – Vol. 315. – P. 788–800. DOI: 10.1001/jama.2016.0291.
13. The impact of COVID-19 on liver injury: COVID-19 and Liver Injury / R. M. Dawood, G. M. Salum, M. Abd El-Meguid // *The American Journal of the Medical Sciences.* – 2021. DOI: 10.1016/j.amjms.2021.11.001.
14. Biomarkers of cholestasis and liver injury in the early phase of acute respiratory distress syndrome and their pathophysiological value / L. O. Harnisch, S. Baumann, D. Mihaylov [et al.] // *Diagnostics.* – 2021. – Vol. 11 (12). – P. 2356. DOI: 10.3390/diagnostics11122356.
15. General anatomy report of novel coronavirus pneumonia patients / Q. Liu, R. Wang, G. Qu [et al.] // *Journal of Forensic Medicine.* – 2020. – Vol. 36. – P. 21–23. DOI: 10.12116/j.issn.1004-5619.2020.01.005.
16. Pathophysiological mechanisms of liver injury in COVID-19 / A. D. Nardo, M. Schneeweiss-Gleixner, M. Bakail [et al.] // *Liver Int.* – 2021. – Vol. 41(1) – P. 20–32. DOI: 10.1111/liv.14730.
17. Liver impairment in COVID-19 patients: a retrospective analysis of 115 cases from a single centre in Wuhan city, China / Y. Zhang, L. Zheng, L. Liu [et al.] // *Liver Int.* – 2020. – Vol. 40 (9) – P. 2095–2103. DOI: 10.1111/liv.14455.
18. Liver injury, SARS-COV-2 infection and COVID-19: What physicians should really know? / A. Licata, M. G. Minissale, M. Distefano, G. Montalto // *GastroHep.* – 2021. – Vol. 3 (3) – P. 121–130. DOI: 10.1002/ygh2.455.
19. COVID-19 and the liver—Lessons learned / T. Herta, T. Berg // *Liver Int.* – 2021. – Vol. 41 – P. 1–8. DOI: 10.1111/liv.14854.
20. Liver histopathology in severe COVID 19 respiratory failure is suggestive of vascular alterations / A. Sonzogni, G. Previtali, M. Seghezzi [et al.] // *Liver Int.* – 2020. – Vol. 40. – P. 2110–2116. DOI: 10.1111/liv.14601.

REFERENCES

1. Nardo AD, Schneeweiss-Gleixner M, Bakail M, Dixon ED, Lax SF, Trauner M. Pathophysiological mechanisms of liver injury in COVID-19. *Liver International*, 2021;41(1): 20-32. DOI: 10.1111/liv.14730.
2. Shyamala, V, Harini, R, Manikandan D, Riyaz SM. Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). *An Epidemiological Update on COVID-19*, 2022;1.
3. Huppert LA, Matthay MA, Ware LB. Pathogenesis of acute respiratory distress syndrome. In: *Seminars in respiratory and critical care medicine*. Thieme Medical Publishers, 2019; 31-9. DOI: 10.1055/s-0039-1683996.
4. Herrero R, Sánchez G, Asensio I, López E, Ferruelo A, Vaquero J, et al. Liver–lung interactions in acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med Exp*. 2020;8(1): 1-13. DOI: 10.1186/s40635-020-00337-9.
5. Yang P, Formanek P, Scaglione S, Afshar M. Risk factors and outcomes of acute respiratory distress syndrome in critically ill patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2019;49(3): 335-43. DOI: 10.1111/hepr.1324.
6. Kozhemyakin YuM, Hromov OS, Filonenko MA, Sajfetdinova GA. Scientific and practical recommendations for keeping laboratory animals and working with them. [Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними] Kyiv: Interservis; 2017. Ukrainian.
7. Horalskyi LP, Khomych VT, & Kononskyi OI. Fundamentals of histological technique and morphofunctional methods of research in normal and pathology. [Основні гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології]. Zhytomyr: Polissia; 2015. Ukrainian.
8. Polinkevich S.G. Features of the liver ultrastructure at the young immature rats with chronic toxic hepatitis [Особливості ультраструктури печінки молодих статево незрілих щурів при хронічному токсичному гепатиті]. *Bulletin of Morphology*, 2014;20(2): 375-379. Ukrainian.
9. Gando, S., Fujishima, S., Saitoh, D., Shiraishi, A., Yamakawa, K., Kushimoto, S., & Umemura, Y. The significance of disseminated intravascular coagulation on multiple organ dysfunction during the early stage of acute respiratory distress syndrome. *Thrombosis research*, 2020;191: 15-21. DOI: 10.1016/j.thromres.2020.03.023.
10. Livingstone SA, Wildi KS, Dalton HJ, Usman A, Ki KK, Passmore MR, Fraser JF. Coagulation dysfunction in acute respiratory distress syndrome and its potential impact in inflammatory subphenotypes. *Frontiers in Medicine*. 2021;8: 723217. DOI: 10.3389/fmed.2021.723217.
11. Chang, J. C. Acute respiratory distress syndrome as an organ phenotype of vascular microthrombotic disease: based on hemostatic theory and endothelial molecular pathogenesis. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 2019;25: 1076029619887437. DOI: 10.1177/1076029619887437.
12. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries. *Jama*, 2016;315(8): 788-800. DOI: 10.1001/jama.2016.0291.
13. Dawood RM, Salum GM, Abd El-Meguid M. The impact of COVID-19 on liver injury: COVID-19 and liver injury. *The American Journal of the Medical Sciences*, 2021. DOI: 10.1016/j.amjms.2021.11.001.
14. Harnisch LO, Baumann S, Mihaylov D, Kiehnopf M., Bauer, M., Moerer, O., Quintel, M. Biomarkers of cholestasis and liver injury in the early phase of acute respiratory distress syndrome and their pathophysiological value. *Diagnostics*, 2021;11(12): 2356. DOI: 10.3390/diagnostics11122356.
15. Liu Q, Wang R, Qu G, Wang Y, Liu P, Zhu Y, Liu L. General anatomy report of novel coronavirus pneumonia patients. *Journal of Forensic Medicine* 2020;36: 21-3. DOI: 10.12116/j.issn.1004-5619.2020.01.005.
16. Nardo AD, Schneeweiss-Gleixner M, Bakail M, Dixon ED, Lax SF, Trauner M. Pathophysiological mechanisms of liver injury in COVID-19. *Liver International*, 2021;41(1): 20-32. DOI: 10.1111/liv.14730.
17. Zhang Y, Zheng L, Liu L, Zhao M, Xiao J, Zhao Q. Liver impairment in COVID-19 patients: a retrospective analysis of 115 cases from a single centre in Wuhan city, China. *Liver Int*. 2020;40(9): 2095-103. DOI: 10.1111/liv.14455.
18. Licata A, Minissale MG, Distefano M, Montalto G. Liver injury, SARS-COV-2 infection and COVID-19: What physicians should really know? *GastroHep*, 2021;3(3): 121-30. DOI: 10.1002/ygh2.455.
19. Herta T, Berg T. COVID-19 and the liver—Lessons learned. *Liver International*, 2021;41: 1-8. DOI: 10.1111/liv.14854.
20. Sonzogni A, Previtali G, Seghezzi M, Grazia Alessio M, Gianatti A, Licini L, Nebuloni M. Liver histopathology in severe COVID 19 respiratory failure is suggestive of vascular alterations. *Liver Int*. 2020;40: 2110-6. DOI: 10.1111/liv.14601.