

# Patološke spremembe v pljučih pri umrlih bolnikih s covidom-19

Pathological lung changes in COVID-19 deceased patients

Gregor Vlačič, Mile Kovačević, Izidor Kern

Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, Golnik, Slovenija

## Korespondenca/ Correspondence:

Mile Kovačević, e: [mile.kovacevic@klinika-golnik.si](mailto:mile.kovacevic@klinika-golnik.si)

## Ključne besede:

covid-19; pljuča; patologija; obdukcija

## Key words:

COVID-19; lungs; pathology; autopsy

Prispelo: 27. 4. 2020

Sprejeto: 25. 6. 2020



## Izvleček

**Izhodišče:** Bolezen covid-19 povzroča difuzno alveolno okvaro, povezano z visoko stopnjo umrljivosti. Namen analize umrlih bolnikov, okuženih z virusom SARS-CoV-2, je oceniti histopatološke spremembe v pljučih kot glavnem tarčnem organu pri tej okužbi.

**Metode:** Opravili smo delne obdukcije bolnikov s covidom-19, ki so se zdravili na Univerzitetni kliniki za pljučne bolezni in alergijo Golnik. Ocenjevali smo izraženost različnih histopatoloških sprememb v pljučih umrlih. Z imunohistokemično metodo smo dokazovali prisotnost virusa SARS-CoV-2 v vzorcih pljuč.

**Rezultati:** V pljučih so izstopali znaki akutne alveolne okvare s tvorbo hialinih membran, intersticijskim in alveolnim edemom ter fibrinsko eksudacijo v alveolih. Spremljajoča vnetna reakcija je bila blago do zmerno izražena. Pri nekaterih bolnikih je bila alveolna okvara že v fazi organizacije, vendar brez prisotne fibroze. Pri vseh bolnikih smo našli citopatsko spremenjen alveolni epitel kot znak virusne okužbe celic. V vzorcih pljuč vseh bolnikov smo dokazali prisotnost virusa.

**Zaključek:** Bolezen covid-19 prizadene pljuča in povzroči difuzno alveolno okvaro, zaradi katere bolniki lahko umrejo. Obdukcija se je izkazala za pomembno tudi v svetu zaradi raziskovanja nove bolezni.

## Abstract

**Background:** COVID-19 disease causes diffuse alveolar damage associated with a high mortality rate. The aim of the analysis of deceased patients with SARS-CoV-2 virus infection is to assess histopathological changes in the lungs as the key target organ in this infection.

**Methods:** We performed partial autopsies on patients with COVID-19 treated at the University Hospital of Respiratory and Allergic Diseases Golnik. We assessed various histopathological changes in the lungs of deceased patients with COVID-19 disease. We performed immunohistochemical stainings to prove the presence of SARS-CoV-2 virus in lung samples.

**Results:** The main histopathological finding was diffuse alveolar damage with hyaline membrane formation, interstitial and alveolar oedema and fibrinous exudation in the alveoli. Interstitial inflammatory infiltration was mild to moderate. In some patients, alveolar damage was partly organized, but without the presence of fibrosis. We found cytopathic changes of the alveolar epithelium consistent with viral infection in all patients. We found the presence of virus in lung samples of all patients.

**Conclusion:** COVID-19 disease affects the lungs, causing diffuse alveolar damage, which can lead to death. Autopsy still plays an important role in modern medicine, giving a contribution to the understanding of new diseases.

**Citirajte kot/Cite as:** Vlačič G, Kovačević M, Kern I. Patološke spremembe v pljučih pri umrlih bolnikih s covidom-19. *Zdrav Vestn.* 2020;89(11–12):603–613.

**DOI:** <https://doi.org/10.6016/ZdravVestn.3097>



Avtorske pravice (c) 2020 Zdravniški Vestnik. To delo je licencirano pod Creative Commons Priznanje avtorstva-Nekomercialno 4.0 mednarodno licenco.

## 1 Uvod

Globalna pandemija bolezni covid-19, ki se je začela decembra 2019 na Kitajskem in se hitro, v nekaj mesecih razširila po vsem svetu, predstavlja velik izziv za zdravstvene sisteme številnih držav, tudi Slovenije. Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik (UKG) je bila po razglasitvi epidemije v Republiki Sloveniji ena od zdravstvenih ustanov, v kateri so diagnosticirali in zdravili to bolezen.

Bolezen covid-19 prizadene dihala in pri manjšem deležu okuženih bolnikov vodi v dihalno stisko z visoko stopnjo umrljivosti zaradi nje. Med pandemijo so bile raziskave predvsem usmerjene v epidemiologijo, mikrobiologijo, kliniko in zdravljenje. Objave s področja patologije te nove bolezni so maloštevilne in skromne, zato bolezen s patološkega vidika ni zadostno raziskana, saj ni odgovora na vprašanje, ali bolniki umirajo s covidom-19 ali zaradi covid-19 (1). Kljub pri nas odsvetovani obdukciji umrlih bolnikov s covidom-19 se je zaradi nepoznavanja patogenetičnih mehanizmov in patoloških sprememb pri bolnikih, ki so umrli z okužbo z virusom SARS-CoV-2, poudarila potreba po izvajanju obdukcij in temeljiti analizi vzorcev (2). V vseh dostopnih objavah so analizirali posamezne bolnike ali manjše serije le-teh (3,4). Prva poročila o histopatoloških spremembah v pljučih umrlih bolnikov s covidom-19 temeljijo na vzorcih igelnih biopsij pljuč,

izvedenih po smrti bolnikov (4). V najbolj obsežni objavljeni analizi doslej so zajeli obdukcijske vzorce 21 bolnikov, ki so umrli zaradi covid-19 (5). Še bolj so skopi podatki o patoloških spremembah v pljučih živih bolnikov, ki so imeli dokazano okužbo z virusom SARS-CoV-2. Dejansko so prvi podatki o histopatoloških spremembah v pljučih zaradi okužbe z virusom SARS-CoV-2 pridobljeni iz pregledanih vzorcev kirurško odstranjenih pljuč zaradi tumorja pri bolnikih, pri katerih so okužbo dokazali naknadno (6). Vodilna patološka sprememba pri večini primerov je difuzna alveolna okvara v različnih fazah razvoja s pridruženimi citopatskimi spremembami alveolnega epitela, ki so jih pripisali neposredni virusni okužbi. Nekateri avtorji navajajo pogosto najdbo pljučne trombombolije pri umrlih bolnikih s covidom-19 (7,8). V patogenetični mehanizem se vpleta možnost endotelne virusne okužbe v pljučnih žilah (5,9).

V laboratoriju za citologijo in patologijo UKG smo se odločili analizirati histopatološke značilnosti v pljučih, zato smo pregledali obdukcijske vzorce pljuč bolnikov, ki so umrli z dokazano okužbo z virusom SARS-CoV-2.

## 2 Material in metode

V dvomesečnem obdobju razglašene epidemije v državi smo opravili delne obdukcije bolnikov, umrlih v UKG, pri

katerih je bila z metodo verižne reakcije s polimerazo in reverzno transkripcijo v realnem času iz kužnine nazofaringealnega brisa, odvzetega za življenja, potrjena okužba z virusom SARS-CoV-2, zaradi česar so bili hospitalizirani. Nihče od umrlih, ki smo jih obducirali, ni bil intubiran in mehansko predihavan. Obdukcije so bile opravljene v skladu z veljavno zakonodajo v Republiki Sloveniji. Med obdukcijo, ki smo jo izvedli najmanj 24 ur po smrti, smo odvzeli desno pljučno krilo in vzorčili steno levega prekata srca in desnega jetrnega režnja. Odvzete vzorce smo sekundarno vzorčili po 48-urni fiksaciji v 10-odstotnem nevtralnem pufriranem formalinu. Iz desnega pljučnega krila smo odvzeli sistematično po pet vzorcev iz vsakega režnja. Tkivni vzorci so bili po skupno 72-urni fiksaciji vklopljeni v parafin. Histološke preparate smo rutinsko obarvali s hematoksilinom-eozinom (HE) in jih pregledali s svetlobnim mikroskopom.

Pri pregledu histopatoloških sprememb smo ocenjevali prisotnost intersticijskega in alveolnega edema, vnetne infiltracije v intersticiju, fibrinske in vnetne eksudacije v alveolih, hialinih membran, reaktivnih sprememb alveolnega epitela, izraženost organizacije vnetja ter vnetja v dihalnih poteh. Večino naštetih sprememb smo ocenjevali semikvantitativno na štiristopenjski lestvici (– odsotnost sprememb, + blaga stopnja/žariščne spremembe, ++ zmerna stopnja, +++ huda stopnja). Kvalitativno smo ocenili izraženost vnetne reakcije z nevtrofilnimi granulociti ali limfociti. Posebno pozorni smo bili na spremembe alveolnega epitela, ki bi lahko bile povezane s prisotnostjo virusa v celicah. Gre za citopatski učinek s povečanjem celic in jedra, penasto ali grobo vakuolizirano citoplazmo, pomnožitvijo jeder, steklastim videzom jeder in grobo kromatinsko

strukturo jeder. Vse ostale morebitne histopatološke spremembe smo posebej beležili (npr. alveolna krvavitev).

Dodatno smo opravili imunohistokemijo, ki smo jo izvedli avtomatizirano z aparatom Benchmark XT (Roche, ZDA). Za opredelitev sestave mononuklearnoceličnega vnetnega infiltrata smo uporabili protitelesa za dokaz limfocitov B (CD20), limfocitov T (CD3), celic pomagalk (CD4), celic zaviralk (CD8) in makrofagov (CD163). Za prikaz alveolnega epitela smo uporabili protitelo proti proteinu A surfaktanta. Prisotnosti virusa v tkivu pljuč smo dokazovali z uporabo zajčjega protitelesa SARS-CoV-2 (2019-nCoV), usmerjenega proti jedrnemu proteinu virusa (klon 019, titer 1:500, Sino Biological, Kitajska). Točkasto ali difuzno citoplazemsko reakcijo smo ocenili kot pozitivno.

Raziskavo je odobrila Komisija za medicinsko etiko Republike Slovenije, dne 7. 5. 2020 (sklep št. 0120-201/2020/7).

## 3 Rezultati

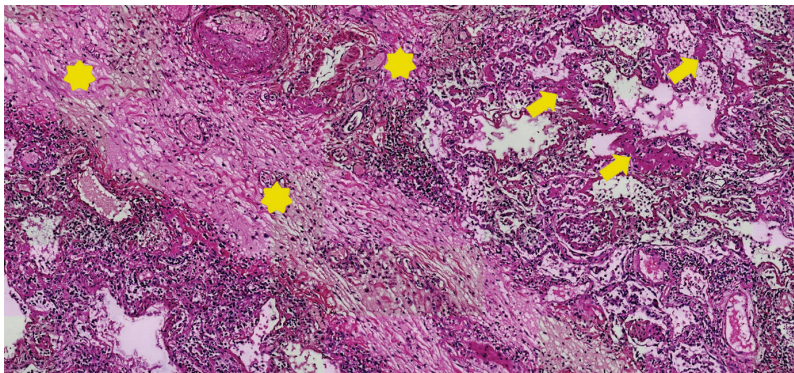
### 3.1 Bolniki

V raziskavo je bilo vključenih sedem bolnikov (dve ženski, pet moških), ki so bili zdravljeni v UKG z okužbo z virusom SARS-CoV-2, dokazano za življenje, in so med hospitalizacijo umrli ter bili obducirani. Povprečna starost bolnikov je bila 81,7 let (razpon let 68–91). Povprečno trajanje hospitalizacije je bilo 16 dni (razpon hospitalizacije v dnevih 3–28). Vsi so imeli več pridruženih kroničnih bolezni. Najpogosteje je šlo za bolezni srca in ožilja, ki so bile prisotne pri šestih bolnikih. Dva bolnika sta imela sladkorno bolezen tipa 2, od katerih je bil eden odvisen od insulina. Trije bolniki so imeli diagnosticirano demenco, po en bolnik pa paranoidno shizofrenijo,

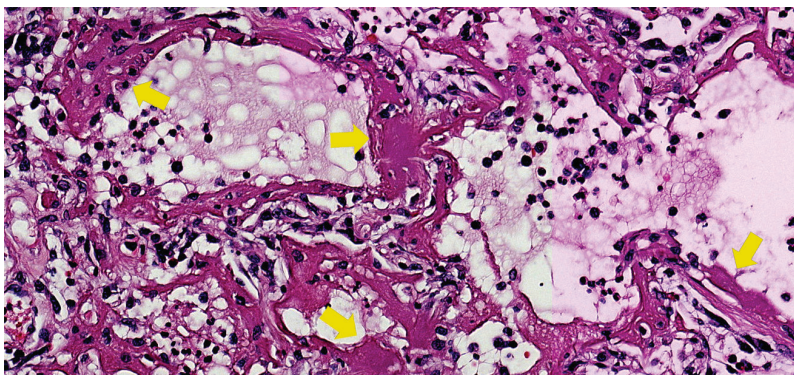
**Tabela 1:** Podatki o bolnikih.

Bolnik	Dnevi hospitalizacije	Starost	Spol	Pridružene bolezni
1	3	91	Ž	SP, AF, AH
2	22	81	M	demenca, nepomičnost, aspiracijska pljučnica
3	21	80	M	Stanje po biliarnem pankreatitisu in sepsi, AF, SP, parkinsonizem, KOPB
4	8	90	Ž	SP, SB, demenca, astma, stanje po CVI
5	28	68	M	drobnocelični rak pljuč (cT3N3M1b), AH, SB, shizofrenija, sepsa
6	12	74	M	demenca, HLP, epilepsija, AH, nepomičnost
7	19	88	M	rak prostate, AH, HLP, fibrotoraks

Ž – ženska, M – moški, SP – srčno popuščanje, AF – atrijska fibrilacija, AH – arterijska hipertenzija, KOPB – kronična obstruktivna pljučna bolezen, SB – sladkorna bolezen, CVI – cerebrovaskularni inzult, HLP - hiperlipidemija.



**Slika 1:** Intersticijski edem (označeno z zvezdico) in hialine membrane (označeno s puščico) (HE, 4x).



**Slika 2:** Hialine membrane (označeno s puščico) (HE, 20x).

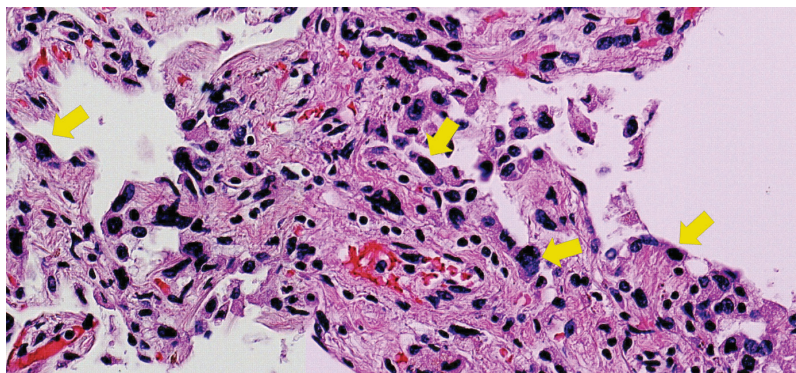
parkinsonizem in epilepsijo. Pri dveh bolnikih so bile prisotne aktivne rakave bolezni. Dva bolnika sta imela pridružene pljučne bolezni (astma in kronična obstruktivna pljučna bolezen). Dva bolnika sta bila prej zdravljena zaradi akutnih bolezenskih stanj (biliarni pankreatitis s sepsa, sepsa neznanega izvora). Pri enem bolniku je bila klinično diagnosticirana aspiracijska pljučnica kot zaplet zdravljenja covid-19. Klinični podatki so prikazani v **Tabeli 1**.

### 3.2 Histopatološke spremembe v pljučih

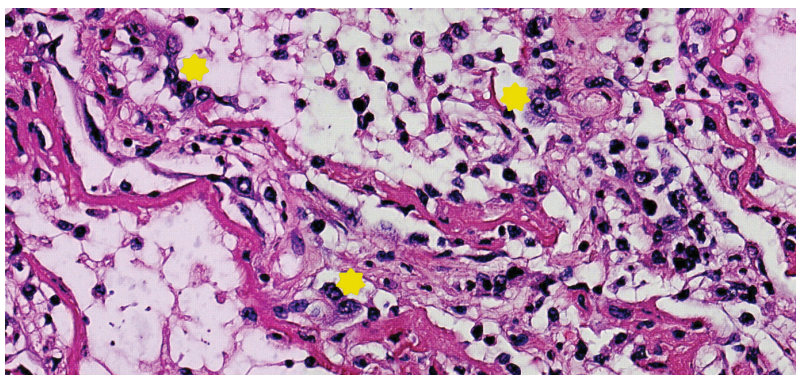
Pri šestih bolnikih smo našli intersticijski edem (**Slika 1**), le pri enem ni bilo zanesljivo izraženih sprememb intersticijskega edema. Pri vseh je bila izražena kongestija pljučnega žilja in prisoten alveolni edem. Intersticijsko vnetocelično infiltracijo smo našli pri vseh bolnikih. Ocenili smo jo kot blage ali zmerne stopnje, v vseh primerih pa je šlo za



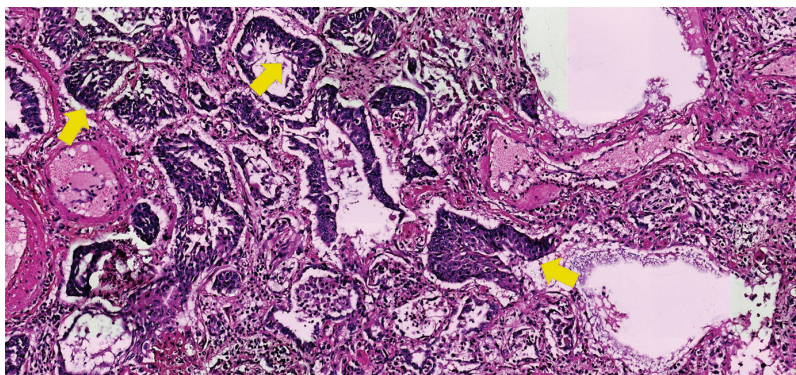
infiltracijo z limfociti. Enakomerno so bili razporejeni tako limfociti B kot tudi limfociti T. Med limfociti T smo dokazali intersticijsko infiltracijo s celicami pomagalkami in zaviralkami v podobnem



**Slika 3:** Hude reaktivne spremembe (označeno s puščico) alveolnih epitelnih celic (HE, 40x).



**Slika 4:** Hude citopatske spremembe (označeno z zvezdico) alveolnih epitelnih celic (HE, 40x).



**Slika 5:** Ploščatocelična metaplazija v alveolih (označeno s puščico) (HE, 4x).

razmerju. V intersticiju in alveolih so bili pri vseh bolnikih pomnoženi makrofagi. Tvorbo hialinih membran in ali fibrinsko eksudacijo v alveolih smo našli pri štirih bolnikih hude stopnje, pri enem pa je šlo za zmerno izražene spremembe in pri drugem za blago (Sliki 1 in 2). V pljučih bolnika z drobnoceličnim rakom nismo našli hialinih membran ali fibrina. Reaktivno spremenjen alveolni epitel z izraženimi citopatskimi spremembami smo našli pri šestih bolnikih (Sliki 3 in 4). Alveolni epitel je bil večinoma odluščen z izraženo pomnožitvijo kubičnih epitelnih celic, pnevmocitov tipa 2. Alveolno eksudativno vnetje je bilo hudo izraženo pri enem bolniku, zmerno pri treh ter blago prav tako pri treh. Kvalitativno je šlo za vnetno eksudacijo z nevtrofilnimi granulociti v primeru s hudim vnetjem, za pretežno mešanocelični eksudat v primerih z zmernim vnetjem ter za limfocitno-makrofagno vnetje pri blagem vnetju. Znaki organizacije vnetja (intersticijska in alveolna fibroplazija) zmerne stopnje so bili prisotni pri treh bolnikih. Vnetje v dihalnih poteh je bilo hude stopnje pri enem bolniku, zmerne pri štirih ter blage pri dveh. Kvalitativno smo opazili prisotnost nevtrofilnih granulocitov pri bolnikih s hudim in zmernim vnetjem. Pri enem od bolnikov z zmernim vnetjem so bili v infiltratu tudi limfociti. Pri obeh bolnikih z blago stopnjo vnetja je šlo za limfocitno infiltracijo. Od ostalih histopatoloških sprememb smo opazili v vseh primerih prisotnost ploščatocelične metaplazije, zlasti peribronhialno razporejene (Slika 5). Pri treh bolnikih smo videli v manjših dihalnih poteh tujo vsebino z granulomsko reakcijo tujkovega tipa, kar smo ocenili za aspiracijsko bronhopnevmonijo. Pri treh bolnikih so bili v pljučnih arterijah manjšega premera zaživiljenjski strdki. Pri enem bolniku so bili prisotni

**Tabela 2:** Histopatološke spremembe v pljučih. Navedeno je število bolnikov z ustrežno oceno stopnje izraženosti sprememb.

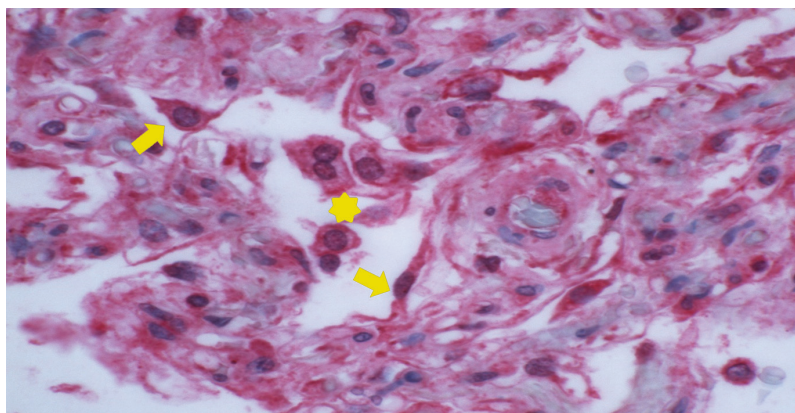
	Ni prisotnih sprememb	Blaga stopnja (+)	Zmerna stopnja (++)	Huda stopnja (+++)
Intersticijski edem	0	1	2	4
Intersticijsko vnetje	0	3	4	0
Alveolno vnetje	0	3	3	1
Vnetje v dihalnih poteh	0	2	4	1
Hialine membrane, fibrinska eksudacija	1	1	1	4
Reaktivni alveolni epitel	1	1	3	2
Organizacija vnetja	4	0	3	0

znaki alveolne krvavitve z ekstravaziranimi eritrociti in številnimi siderofagi v alveolih. Vsi semikvantitativno ocenjevani rezultati so prikazani v **Tabeli 2**.

V vzorcih pljuč pri vseh umrlih smo z imunohistokemično metodo dokazali prisotnost virusa s pozitivno reakcijo predvsem v alveolnem epitelu in makrofagih (**Slika 6**).

## 4 Razpravljanje

Glavna patološka sprememba, ki smo



**Slika 6:** Imunohistokemični dokaz virusa v alveolnih epitelih celicah (označeno s puščico) in makrofagih (označeno z zvezdico) (40x).

jo našli v pljučih analiziranih bolnikov, umrlih zaradi virusne okužbe z virusom SARS-CoV-2, je prisotnost hialinih membran in fibrinske eksudacije v alveolih kot znak akutne okvare pljučnega parenhima. Vsi umrli bolniki s covidom-19, zdravljeni na UKG, so bili starejši in so imeli pridružene bolezni. Virusno okužbo smo dokazali v alveolnih epitelih celicah in makrofagih. V primerjavi z objavljenimi rezultati kitajskih študij, pri katerih so opravili vzorčenje pljuč po smrti z igelno biopsijo (4), je prednost naše analize v sistematičnem vzorčenju in pregledu celotnih pljuč, kar izključuje možnost napake zaradi vzorčenja. V prikazanem gradivu smo se osredinili na histopatološke spremembe v pljučih, kar je bil namen analize, čeprav smo vzorčili tudi druga organa.

Vzrok smrti pri večini umrlih bolnikov s covidom-19 v naši analizi je bila difuzna alveolna okvara. Našli smo hialine membrane in fibrinsko eksudacijo v alveolne prostore ter druge znake eksudativne faze razvoja difuzne alveolne okvare: luščenje alveolnega epitela in njihove reaktivne spremembe, kar so opisovali v prvih poročilih kitajskih avtorjev (4,10). V vzorcih pljuč nekaterih bolnikov smo našli znake zgodnje organizacije difuzne alveolne okvare z blago zadebelitvijo alveolnih pretinov zaradi intersticijske fibroplazije in žarišči intraalveolne fibroplazije. V nobenem primeru nismo našli napredovale fibroze. Pri vseh primerih smo opazovali žarišča alveolne ploščatocelične metaplazije brez izraženih celičnih atipij, kar skupaj z izraženo organizacijo vnetja govori za proliferativno fazo razvoja difuzne alveolne okvare, kar so poudarili tudi v drugih večjih serijah bolnikov (5,7). Obseg vnetne reakcije v pljučnem parenhimu je bil presenetljivo majhen s prisotno blago do zmerno limfatično infiltracijo v intersticiju, v kateri



so bili limfociti B in T, s pomnožitvijo makrofavov v alveolih in intersticiju ter z blago do zmerno izraženo granulocitno eksudacijo v alveolih. Predvsem limfatično infiltracijo je zelo verjetno povzročila sama virusna okužba (4,6). Nekaj bolnikov je imelo bronhopnevmonične eksudativne vnetne spremembe, ki so bile omejene na dihalne poti in okolni pljučni parenhim. Verjetno sta jih povzročili aspiracija ali dodatna bakterijska okužba. O aspiracijski bronhopneumoniji so poročali v posameznih primerih tudi drugi avtorji (11). Skoraj polovica bolnikov v švicarski študiji je umrla zaradi bronhopneumonije, povzročene z dodatno bakterijsko okužbo (5). Med pridruženimi patološkimi spremembami velja poudariti kongestijo žilja in alveolni edem ter v enem primeru tudi izstopajočo alveolno krvavitev. Pljučno tromboembolijo smo našli v treh od sedmih bolnikov. Strdki so bili v pljučnih arterijah manjšega premera, kar bi lahko bila posledica razvite koagulopatije pri hudo potekajoči bolezni covid-19 (7). V dveh študijah so poudarili pogostejšo najdbo pljučne tromboembolije. Nemška serija poroča o tromboemboliji pljučnih žil pri eni tretjini bolnikov, kar je primerljivo z našimi rezultati (7). Mikrotrombozo so našli pri vseh 12 bolnikih podobno kot v švicarski seriji (5). V objavljeni študiji avstrijskih kolegov so pri vseh 11 bolnikih našli trombozo pljučnih arterij, a so slike strdkov v pljučnih žilah nepreprečljive, saj gre bolj verjetno za posmrtno strjevanje krvi (8). Nastajanje strdkov za življenje si razlagajo z endotelno disfunkcijo, ki bi lahko bila povezana z neposredno virusno okužbo endotelnih celic, na površini katerih so receptorji za virus SARS-CoV-2 (9). Najdene histopatološke spremembe v pljučih bolnikov, umrlih za covidom-19, niso patognomonične za okužbo z virusom SARS-CoV-2. Enake

spremembe so opisovali v vzorcih pljuč bolnikov, okuženih z drugimi koronavirusi (SARS-CoV in MERS-CoV), kot tudi z virusi drugih družin. Ackermann in sodelavci so primerjali histopatološke spremembe v pljučih bolnikov, umrlih zaradi covid-19, s tistimi, ki so umrli zaradi gripe (H1N1). Pri obeh skupinah so našli znake akutne alveolne okvare in blago intersticijsko vnetno celično infiltracijo, medtem ko so bile endotelne spremembe in mikrotromboze bolj značilne za covid-19 (12). Vse najdbe v pljučih umrlih oseb s covidom-19, ki so bile objavljene, vključno z rezultati naše analize, predstavljajo napredovalo težko potekajočo obliko okužbe (Tabela 3). Malo je znanega o histopatoloških spremembah v zgodnjem poteku okužbe in pri bolnikih, ki so uspešno okrevali in okužbo preboleli (13). Med prvimi objavljenimi primeri bolnikov, okuženih z virusom SARS-CoV-2, sta dva, ki sta bila operirana zaradi pljučnega raka (6). Pri obeh so v vzorcih odstranjenih pljuč opisovali zgodnejše spremembe akutne okvare z alveolnim edemom, fibrinsko eksudacijo, blago vnetno infiltracijo, a brez tvorbe hialinih membran. Tudi pri enem od bolnikov v naši analizi, ki je imel razsejani drobnocelični rak pljuč, so bile histopatološke spremembe v pljučih blago izražene. Omenjeni je zato verjetno umrl zaradi napredovalega raka ob okužbi z virusom SARS-Cov-2 in ne zaradi te okužbe.

Vsi umrli bolniki s covidom-19 so imeli dokazano okužbo z virusom SARS-CoV-2 iz vzorca nazofaringealnega brisa, odvzetega v času življenja. V vzorcih pljuč vseh umrlih bolnikov s covidom-19 smo dokazali prisotnost virusne okužbe z imunohistokemično metodo in tako izražene citopatske spremembe v alveolnem epitelu. Za imunohistokemični dokaz virusne okužbe

**Tabela 3:** Pregled objavljenih histopatoloških sprememb v pljučih v dostopni angleški literaturi.

Avtor	Število bolnikov	Živ bolnik/ po smrti	Način odvzema	Glavne ugotovitve
Tian S et al (4)	4	po smrti	Igelna biopsija	HM, hiperplazija pnevmocitov tipa 2, OP
Barton LM et al (11)	2	po smrti	obdukcija	DAO, bronhopneumonija, aspiracija, kronični bronhitis in edem
Tian S et al (6)	2	živ bolnik	lobektomija	edem, hiperplazija pnevmocitov tipa 2, intersticijsko vnetje, večjedrne velikanke
Xu Z et al (10)	1	po smrti	obdukcija	DAO, intersticijsko vnetje, reaktivni pnevmociti tipa 2, citopatski efekt, aspiracija
Zeng Z et al (12)	1	živ bolnik	lobektomija	eksudativno vnetje, večjedrne velikanke, hiperplazija pnevmocitov tipa 2, citopatski učinek
Lacy JM et al (20)	1	po smrti	obdukcija	HM, intersticijsko vnetje, hiperplazija pnevmocitov tipa 2, alveolarna krvavitev
Wichmann D et al (7)	12	po smrti	obdukcija	DAO, hiperplazija pnevmocitov tipa 2, organizacija, bronhopneumonija
Lax S et al (8)	11	po smrti	obdukcija	DAO, pljučna tromembolija, edem, hiperplazija pnevmocitov tipa 2
Menter T et al (5)	21	po smrti	obdukcija	DAO, bronhopneumonija, pljučna trombembolija, alveolna krvavitev
Konopka KE et al (3)	1	po smrti	obdukcija	DAO, intersticijsko vnetje, hiperplazija pnevmocitov tipa 2
Adachi T et al (14)	1	po smrti	obdukcija	DAO, organizacija, ploščatocelična metaplazija, hiperplazija pnevmocitov tipa 2
Yao et al (24)	3	po smrti	minimalno invazivna obdukcija	HM, pljučna fibroza, intersticijsko vnetje
Golnik	7	po smrti	delna obdukcija	HM, hiperplazija pnevmocitov tipa 2, intersticijski edem, ploščatocelična metaplazija, organizacija, bronhopneumonija

HM – hialine membrane, OP – organizirajoča pljučnica, DAO – difuzna alveolna okvara.

SARS-CoV-2 smo uporabili protitelo, usmerjeno proti antigenu na jedrnem proteinu virusa, podobno kot v dveh drugih študijah, ki sta skupaj vključili tri bolnike (14,15). Prisotnost virusa v tkivu, fiksiranem v formalinu in vklopljenem v parafinu, je možno dokazati tudi z metodo *in situ* hibridizacije (16). Večina objavljenih študij je uporabila

za dokaz virusne okužbe v pljučih molekularno metodo verižne reakcije s polimerazo in reverzno transkripcijo v realnem času (4,5,7,15). Slednja metoda, ki je podobna, kot se uporablja za rutinsko diagnosticiranje okužbe z virusom SARS-CoV-2, je v obdukcijah vzorcih lahko zahtevna zaradi hitre razgradnje RNK po smrti, vendar pride v poštev še



posebej pri obdukcijah umrlih zaradi dihalne odpovedi neznanega vzroka. Prav tako je ta molekularna metoda ustrezna pri naključni najdbi akutne okvare pljuč v vzorcih, odvzetih za življenje. Virus so dokazali v tkivnih vzorcih tudi s pomočjo elektronske mikroskopije, kjer so našli virusne partikle v citoplazemskih veziklih, vezanih na celično membrano in prosto ležeče zunaj celic v alveolnih prostorih (5,9,17). Citopatske spremembe alveolnega epitela, ki smo jih opazovali v histoloških vzorcih pljuč, so obsegale povečanje velikosti celic, penasto in grobo vakuolizirano citoplazmo, povečana jedra, večjedrnost, steklast videz jeder in grobo kromatinsko strukturo jeder. Podobne spremembe so opisovali tudi drugi avtorji (17). Naštete citološke morfološke spremembe alveolnih epitelnih celic bi lahko pričakovali v različnih vzorcih iz pljuč, odvzetih pri bolnikih s covidom-19 za življenje, npr. v bronhoalveolnem izpirku. Za patologa bi lahko predstavljale diagnostično težavo, ker spominjajo na tumorsko spremenjene celice. Citopatske spremembe poznamo pri različnih virusnih okužbah pljuč (adenovirus, respiratorni sincicijski virus, virus influence, virus parainfluence, citomegalovirus, herpes simpleks virus, virus ošpic). Za nekatere najdemo dokaj značilne citomorfološke spremembe, večinoma pa gre za prekrivanje sprememb in za potrditev virusne okužbe. Potrebujemo dokaz prisotnosti virusa v vzorcu. Podobne spremembe smo našli tudi v pregledanih vzorcih pljuč umrlih bolnikov s covidom-19. Zanimiva je objava najdenih sprememb v bronhoalveolnem izpirku bolnika s covidom-19, ki je potreboval zunajtelesno membransko oksigenacijo (18). Med makrofagi in limfociti je izstopal visok delež aktiviranih plazmatk, kar je nenavadno, saj se to ne ujema z doslej znanimi histopatološkimi

spremembami.

Obdukcija je v času pandemije covid-19 pridobila svoj osnovni pomen: raziskovati novo, neznano bolezen. V priporočilih za ravnanje z umrlimi s covidom-19, ki so bila izdana v Republiki Sloveniji, so obdukcijo umrlih bolnikov s covidom-19 odsvetovali. Ni znano, kolikšna je kužnost SARS-CoV-2 po smrti, vendar virus uvrščajo v skupino z visokim tveganjem okužbe, podobno kot SARS-CoV, MERS-CoV, HIV, virus stekline, virusi hepatitisa B, C in D (19). Ker v času razglašene epidemije v državi še ni bilo objavljenih podatkov o histopatoloških spremembah pljuč, povzročenih z virusom SARS-CoV-2, smo se na UKG odločili opraviti obdukcije umrlih bolnikov s covidom-19 v naši ustanovi. Da bi se izognili prevelikemu tveganju za okužbo osebja, smo opravili delne obdukcije *in situ* z odvzemom vzorcev pljuč, jeter in srca. Pri tem smo upoštevali izdelan protokol, ki je temeljil na mednarodnih priporočilih za izvedbo obdukcij v primerih okuženih s SARS-CoV-2 (20-23). Pri izvedbi obdukcije sta sodelovala patolog in obdukcijski pomočnik, ki sta uporabila ustrezno osebno zaščitno opremo. V izogib tvorbi aerosola med obdukcijo nista uporabljala vode in oscilacijske žage. V prostoru je bil podtlak in urejeno prezračevanje z več kot 15-kratno izmenjavo zraka na uro.

Med epidemijo covid-19 smo se soočili tudi z izzivom, kako zaščititi osebje v patoloških laboratorijih, ki sprejemajo sveže, nefiksirane citološke in histološke vzorce iz dihal živih bolnikov. Ker v Republiki Sloveniji nismo sprejeli posebnih ukrepov za takšne okoliščine, smo smiselno uporabili mednarodna priporočila, ki vključujejo obvezno uporabo osebnih zaščitnih sredstev (maske FFP2, vizirji ali očala, nitrilne rokavice) pri sprejemu

in obdelavi potencialno okuženih vzorcev: manipuliranje nefiksiranih tkivnih vzorcev, procesiranje nefiksiranih citoloških vzorcev, še posebej postopek centrifugiranja (24). Ob upoštevanju priporočil nismo beležili okužbe zaposlenih v laboratoriju. Delo v prosekturi in laboratoriju smo morali prilagoditi možnosti neprepoznane okužbe z virusom SARS-CoV-2.

## 5 Zaključek

Pljuča so glavni tarčni organ pri hudi obliki bolezni covid-19, kar se kaže z difuzno alveolno okvaro. Klinične in patološke značilnosti umrlih v tej analizi potrjujejo že prej znane podatke iz literature in prispevajo k razumevanju patogeneze okužbe z virusom SARS-CoV-2. Dokazali smo pomen obdukcij ob pojavu novih bolezni v sodobnosti.

## Literatura

1. Pomara C, Li Volti G, Cappello F. COVID-19 Deaths: Are We Sure It Is Pneumonia? Please, Autopsy, Autopsy, Autopsy! *J Clin Med*. 2020;9(5):1259. DOI: [10.3390/jcm9051259](https://doi.org/10.3390/jcm9051259) PMID: [32357503](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32357503/)
2. Barth RF, Xu X, Buja LM. A call to action: the need for autopsies to determine the full extent of organ involvement associated with COVID-19. *Chest*. 2020;158(1):43-4. DOI: [10.1016/j.chest.2020.03.060](https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.03.060) PMID: [32283063](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32283063/)
3. Konopka KE, Wilson A, Myers JL. Postmortem Lung Findings in an Asthmatic Patient With Coronavirus Disease 2019. *Chest*. 2020;S0012-3692(20)30775-3. DOI: [10.1016/j.chest.2020.04.032](https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.04.032) PMID: [32360729](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32360729/)
4. Tian S, Xiong Y, Liu H, Niu L, Guo J, Liao M, et al. Pathological study of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) through postmortem core biopsies. *Mod Pathol*. 2020;33(6):1007-14. DOI: [10.1038/s41379-020-0536-x](https://doi.org/10.1038/s41379-020-0536-x) PMID: [32291399](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32291399/)
5. Menter T, Haslbauer JD, Nienhold R, Savic S, Deigendesch H, Frank S, et al. Postmortem examination of COVID-19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings in lungs and other organs suggesting vascular dysfunction. *Histopathology*. 2020;10.1111/his.14134. DOI: [10.1111/his.14134](https://doi.org/10.1111/his.14134) PMID: [32364264](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32364264/)
6. Tian S, Hu W, Niu L, Liu H, Xu H, Xiao SY. Pulmonary pathology of early phase 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia in two patients with lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2020;15(5):700-4. DOI: [10.1016/j.jtho.2020.02.010](https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.02.010) PMID: [32114094](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32114094/)
7. Wichmann D, Sperhake JP, Lütgehetmann M, Steurer S, Edler C, Heinemann A, et al. Autopsy Findings and Venous Thromboembolism in Patients With COVID-19. *Ann Intern Med*. 2020:M20-2003. DOI: [10.7326/M20-2003](https://doi.org/10.7326/M20-2003) PMID: [32374815](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32374815/)
8. Lax SF, Skok K, Zechner P, Kessler HH, Kaufmann N, Koelblinger C, et al. Pulmonary arterial thrombosis in COVID-19 with fatal outcome: results from a prospective, single center, clinicopathologic case series. *Ann Intern Med*. 2020:M20-2566. DOI: [10.7326/M20-2566](https://doi.org/10.7326/M20-2566) PMID: [32422076](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32422076/)
9. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endothelitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395(10234):1417-8. DOI: [10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5) PMID: [32325026](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32325026/)
10. Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*. 2020;8(4):420-2. DOI: [10.1016/S2213-2600\(20\)30076-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30076-X) PMID: [32085846](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32085846/)
11. Barton LM, Duval EJ, Stroberg E, Ghosh S, Mukhopadhyay S. COVID-19 Autopsies, Oklahoma, USA. *Am J Clin Pathol*. 2020;153(6):725-33. DOI: [10.1093/ajcp/aqaa062](https://doi.org/10.1093/ajcp/aqaa062) PMID: [32275742](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32275742/)
12. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020. DOI: [10.1056/NEJMoa2015432](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2015432) PMID: [32437596](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32437596/)
13. Zeng Z, Xu L, Xie XY, Yan HL, Xie BJ, Xu WZ, et al. Pulmonary Pathology of Early Phase COVID-19 Pneumonia in a Patient with a Benign Lung Lesion. *Histopathology*. 2020;10.1111/his.14138. DOI: [10.1111/his.14138](https://doi.org/10.1111/his.14138) PMID: [32374419](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32374419/)
14. Zhang H, Zhou P, Wei Y, Yue H, Wang Y, Hu M, et al. Histopathologic Changes and SARS-CoV-2 Immunostaining in the Lung of a Patient With COVID-19. *Ann Intern Med*. 2020;172(9):629-32. DOI: [10.7326/M20-0533](https://doi.org/10.7326/M20-0533) PMID: [32163542](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32163542/)
15. Adachi T, Chong J-M, Nakajima N, Sano M, Yamazaki J, Miyamoto I, et al. Clinicopathologic and

- Immunohistochemical Findings from Autopsy of Patient with COVID-19. *Emerg Inf Dis*. 2020;26(9). DOI: [10.3201/eid2609.201353](https://doi.org/10.3201/eid2609.201353) PMID: [32412897](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32412897/)
16. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al.; China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727-33. DOI: [10.1056/NEJMoa2001017](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017) PMID: [31978945](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31978945/)
  17. Yan L, Mir M, Sanchez P, Beg M, Peters J, Enriquez O, et al. COVID-19 in Hispanic Woman. Autopsy report with clinical pathological correlation. *Arch Pathol Lab Med*. 2020. DOI: [10.5858/arpa.2020-0217-SA](https://doi.org/10.5858/arpa.2020-0217-SA) PMID: [32422081](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32422081/)
  18. Giani M, Seminati D, Lucchini A, Foti G, Pagni F. Exuberant Plasmocytosis in Bronchoalveolar Lavage Specimen of the First Patient Requiring Extracorporeal Membrane Oxygenation for SARS-CoV-2 in Europe. *J Thorac Oncol*. 2020;15(5):e65-6. DOI: [10.1016/j.jtho.2020.03.008](https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.03.008) PMID: [32194247](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32194247/)
  19. Hanley B, Lucas SB, Youd E, Swift B, Osborn M. Autopsy in suspected COVID-19 cases. *J Clin Pathol*. 2020;73(5):239-42. DOI: [10.1136/jclinpath-2020-206522](https://doi.org/10.1136/jclinpath-2020-206522) PMID: [32198191](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32198191/)
  20. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Interim laboratory biosafety guidelines for handling and processing specimens associated with coronavirus disease 2019 (COVID-19). 2020 [cited 2020 Jul 07]. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/>
  21. Lacy JM, Brooks EG, Akers J, Armstrong D, Decker L, Gonzalez A, et al. COVID-19: postmortem diagnostic and biosafety considerations. *Am J Forensic Med Pathol*. 2020. DOI: [10.1097/PAF.0000000000000567](https://doi.org/10.1097/PAF.0000000000000567) PMID: [32379077](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32379077/)
  22. Santurro A, Scopetti M, D'Errico S, Fineschi V. A technical report from the Italian SARS-CoV-2 outbreak. Postmortem sampling and autopsy investigation in cases of suspected or probable COVID-19. *Forensic Sci Med Pathol*. 2020:1-6. DOI: [10.1007/s12024-020-00258-9](https://doi.org/10.1007/s12024-020-00258-9) PMID: [32399755](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32399755/)
  23. Aquila I, Sacco MA, Abenavoli L, Malara N, Arena V, Grassi S, et al. SARS-CoV-2 pandemic: review of the literature and proposal for safe autopsy practice. *Arch Pathol Lab Med*. 2020;144(9):1048-56. DOI: [10.5858/arpa.2020-0165-SA](https://doi.org/10.5858/arpa.2020-0165-SA) PMID: [32383963](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32383963/)
  24. Pambuccian SE. The COVID-19 pandemic: implications for the cytology laboratory. *J Am Soc Cytopathol*. 2020;9(3):202-11. DOI: [10.1016/j.jasc.2020.03.001](https://doi.org/10.1016/j.jasc.2020.03.001) PMID: [32284276](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32284276/)
  25. Yao XH, Li TY, He ZC, Ping YF, Liu HW, Yu SC, et al. A pathological report of three COVID-19 cases by minimal invasive autopsies. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 2020;49(5):411-7. DOI: [10.3760/cma.j.cn112151-20200312-00193](https://doi.org/10.3760/cma.j.cn112151-20200312-00193) PMID: [32172546](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32172546/)