УДК 612.833.11-018-02:616.98:578.834
DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369

Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-COV-2

І. С. Шпонька[1,A,F], В. І. Попович[2,A,F], О. М. Усова*[1,B,C,D], О. О. Бондаренко[1,C,E], Ю. В. Гаман[3,B], Г. З. Щурук[4,B]

[1]Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна, [2]Івано-Франківський національний медичний університет, Україна, [3]ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Україна, [4]КП «Волинська обласна клінічна лікарня», м. Луцьк, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Ключові слова: COVID-19, SARS-CoV-2, коронавірусна інфекція, аносмія, ольфакторний епітелій, ольфакторна цибулина, ольфакторний тракт.

Патологія. 2021. Т. 18, № 3(53). С. 278-285

***E-mail:** dr.olgausova@gmail.com

Коронавірусна інфекція, спричинена вірусом SARS-CoV-2, – надзвичайно важлива й актуальна проблема сучасної медицини. Захворювання швидко поширюється, має високу ймовірність тяжкого перебігу та викликає чимало критичних ускладнень у пацієнтів групи ризику. Наявність патогномонічних симптомів, одним із них є розвиток гіпо- або аносмії, дає змогу швидко диференціювати коронавірусну від інших гострих респіраторних вірусних інфекцій, тобто вчасно ізолювати пацієнта та почати коректне лікування, враховуючи можливі ризики.

Мета роботи – з'ясування морфологічних особливостей ольфакторних структурних елементів хворих на коронавірусну хворобу (COVID-19) для кращого розуміння механізмів розвитку нюхових розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.

Матеріали та методи. Здійснили ретроспективний аналіз аутопсійного матеріалу – слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини (ольфакторного епітелію) та ольфакторних цибулин 9 померлих (4 жінки, 5 чоловіків) віком від 53 до 79 років з лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19 та аносмією в анамнезі. Застосували стандартне забарвлення гематоксиліном та еозином, виконали імуногістохімічне дослідження за протоколами TermoScientific (США) з антитілами до нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) та протоколами RnDsystems з антитілами до ольфакторного маркерного протеїну (OMP), ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2). Для порівняння результатів сформували контрольну групу з 9 померлих (3 жінки, 6 чоловіків) віком від 59 до 68 років із лабораторно спростованим діагнозом COVID-19; причини смерті – ускладнення цукрового діабету, ішемічна хвороба серця та порушення мозкового кровообігу за ішемічним типом.

Результати. Середній вік померлих із лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19, аносмією в анамнезі та осіб групи контролю – 64,67 ± 7,73 та 62,33 ± 6,48 року відповідно. У семи з дев'яти зрізів ольфакторної слизової оболонки носової порожнини померлих із лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19 та аносмією в анамнезі експресія ольфакторного маркерного протеїну (OMP) та нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) частково позитивна (40,89 (25,00; 52,00) та 42,44 (29,00;55,00) клітини в полі зору відповідно при збільшенні 200×); а реакція з антитілами до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) вогнищево або субтотально відсутня (34,33 (14,00; 49,00) клітини в полі зору при збільшенні 200×). У контрольних зрізах ольфакторної слизової оболонки носової порожнини померлих із лабораторно спростованим діагнозом COVID-19 та відсутністю симптомів аносмії (тест Манна–Вітні, $p < 0,05$) виявлена експресія цих трьох маркерів. У зрізах ольфакторних цибулин хворих на COVID-19 визначили слабку (тест Манна–Вітні, $p < 0,05$) експресію рецепторів до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) (26,78 (15,00; 39,00) клітини в полі зору при збільшенні 200×) на відміну від контрольних зрізів (100,56 (94,00; 107,00) клітини в полі зору при збільшенні 200×).

Висновки. Розвиток аносмії за умов інфікування коронавірусом SARS-CoV-2 має специфічні саме для цього інфекційного агента риси, може бути зумовлений первинним зруйнуванням клітин, які експресують рецептори до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2-позитивних сустентакулярних клітин ольфакторної слизової оболонки носової порожнини, нейронів ольфакторних цибулин), із можливою наступною дисфункцією безпосередньо ольфакторних клітин (OMP- та TuJ-1-позитивних).

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, coronavirus infections, olfaction disorders, olfactory epithelium, olfactory bulb, olfactory tract.

Pathologia 2021; 18 (3), 278-285

Morphological features of changes in peripheral olfactory structures in SARS-COV-2 coronavirus infection

I. S. Shponka, V. I. Popovych, O. M. Usova, O. O. Bondarenko, Yu. V. Haman, H. Z. Shchuruk

Coronavirus infection caused by the SARS-CoV-2 virus is an extremely important and urgent problem of modern medicine. It spreads quickly, has a high probability of a severe course and a large number of critical complications in patients from the risk group. The presence of pathognomonic symptoms, one of which is the development of hypo– or anosmia, makes it possible to quickly differentiate coronavirus infection from other acute respiratory viral infections, that is, to isolate the patient on time and begin correct treatment, taking all possible risks into account.

The aim is to identify the morphological features of olfactory structural elements in patients with coronavirus disease (COVID-19) for a better understanding of the mechanisms of olfactory disorders development in coronavirus infection.

Materials and methods. The basis of the work is a retrospective analysis of autopsy material, namely the mucous membrane of the upper parts of the nasal cavity (olfactory epithelium) and olfactory bulbs of nine deceased (4 women and 5 men) aged

from 53 to 79 years with a laboratory-confirmed diagnosis of COVID-19 and anosmia in anamnesis. We used standard hematoxylin and eosin staining and immunohistochemical reactions in accordance with the TermoScientific protocols (USA) with antibodies to neurospecific beta-III tubulin (clone TuJ-1) and RnDsystems protocols with antibodies to olfactory marker protein (OMP) and angiotensin converting enzyme (ACE-2). To compare the results, a control group of 9 deaths (3 women and 6 men) aged from 59 to 68 years with a laboratory-refuted diagnosis of COVID-19 was formed. The causes of death of these patients were complications of diabetes, coronary heart disease and cerebrovascular disorders of the ischemic type.

Results. The average age of the deceased with a laboratory-confirmed diagnosis of COVID-19 and a history of anosmia and the control group was 64.67 ± 7.73 and 62.33 ± 6.48 years, respectively. The expression of olfactory marker protein (OMP) and neurospecific beta-III tubulin (clone TuJ-1) was partially positive (40.89 (25.00–52.00) and 42.44 (29.00–55.00) cells in the field of view at a magnification of 200×, respectively) in seven out of nine sections of the olfactory mucous membrane of deaths with a laboratory-confirmed diagnosis of COVID-19 and anosmia in anamnesis. The reaction with antibodies to angiotensin converting enzyme (ACE-2) was focally or subtotally absent (34.33 (14.00–49.00) cells in the field of view at 200× magnification). There was expression of these three markers in control sections of the olfactory mucosa of a deceased with a laboratory excluded diagnosis of COVID-19 and no symptoms of anosmia (Mann–Whitney test, $P < 0.05$). In sections of olfactory bulbs of patients with COVID-19 weak (Mann–Whitney test, $P < 0.05$) expression of receptors for angiotensin-converting enzyme (ACE-2) (26.78 (15.00–39.00) cells in field of view at a magnification of 200×) was revealed in contrast to control sections (100.56 (94.00–107.00) cells in the field of view at a magnification of 200×).

Conclusions. The development of anosmia in SARS-CoV-2 coronavirus infection has specific features. This may be due to the primary destruction of cells expressing receptors for the angiotensin-converting enzyme (ACE-2-positive: sustentacular cells of the olfactory mucosa, neurons of the olfactory bulbs). Subsequent dysfunction of olfactory cells (OMP- and TuJ-1-positive) is also possible.

Морфологические особенности изменений периферических ольфакторных структур при поражении коронавирусом SARS-COV-2

И. С. Шпонька, В. И. Попович, О. Н. Усова, А. А. Бондаренко, Ю. В. Гаман, Г. З. Щурук

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, коронавирусная инфекция, аносмия, ольфакторный эпителий, ольфакторная луковица, ольфакторный тракт.

Патология. 2021. Т. 18, № 3(53). С. 278-285

Коронавирусная инфекция, обусловленная вирусом SARS-CoV-2, – чрезвычайно важная и актуальная проблема современной медицины. Заболевание быстро распространяется, имеет высокую вероятность тяжёлого течения и вызывает большое количество критических осложнений у пациентов группы риска. Наличие патогномонических симптомов, одним из которых является развитие гипо- или аносмии, позволяет быстро дифференцировать коронавирусную инфекцию от других острых респираторных вирусных инфекций, то есть своевременно изолировать пациента и начать корректное лечение с учётом возможных рисков.

Цель работы – выяснение морфологических особенностей ольфакторных структурных элементов больных коронавирусной болезнью (COVID-19) для лучшего понимания механизмов развития обонятельных нарушений при инфицировании коронавирусом.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ аутопсийного материала – слизистой оболочки верхних отделов носовой полости (ольфакторного эпителия) и ольфакторных луковиц 9 умерших (3 женщины, 6 мужчин) в возрасте от 53 до 79 лет с лабораторно подтвержденным диагнозом COVID-19 и аносмией в анамнезе. Использовали стандартное окрашивание гематоксилином и эозином, провели иммуногистохимическое исследование в соответствии с протоколами TermoScientific (США) с антителами к нейроспецифическому бета-III тубулину (клон TuJ-1) и протоколами RnDsystems с антителами к ольфакторному маркерному протеину (OMP) и ангиотензинпревращающему энзиму (ACE-2). Для сравнения результатов сформирована контрольная группа из 9 умерших (4 женщины, 5 мужчин) в возрасте от 59 до 68 лет с лабораторно опровергнутым диагнозом COVID-19; причины смерти – осложнения сахарного диабета, ишемическая болезнь сердца и нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу.

Результаты. Средний возраст умерших с лабораторно подтверждённым диагнозом COVID-19 и аносмией в анамнезе и лиц группы контроля – 64,67 ± 7,73 и 62,33 ± 6,48 года соответственно. В семи из девяти исследуемых срезов ольфакторной слизистой оболочки носовой полости умерших с лабораторно подтверждённым диагнозом COVID-19 и аносмией в анамнезе экспрессия ольфакторного маркерного протеина (OMP) и нейроспецифического бета-III тубулина (клон TuJ-1) частично положительна (40,89 (25,00; 52,00) и 42,44 (29,00; 55,00) клетки в поле зрения соответственно при увеличении 200×); а реакция с антителами к ангиотензинпревращающему энзиму (ACE-2) очагово или субтотально отсутствовала (34,33 (14,00; 49,00) клетки в поле зрения при увеличении 200×).

У умерших с лабораторно исключённым диагнозом COVID-19 и отсутствием симптомов аносмии (тест Манна–Уитни, $p < 0,05$) обнаружена экспрессия этих трёх маркеров в контрольных срезах ольфакторной слизистой оболочки носовой полости. В срезах ольфакторных луковиц больных COVID-19 отмечена слабая (тест Манна–Уитни, $p < 0,05$) экспрессия рецепторов к ангиотензинпревращающему энзиму (ACE-2) (26,78 (15,00; 39,00) клетки в поле зрения при увеличении 200×) в отличие от контрольных срезов (100,56 (94,00; 107,00) клетки в поле зрения при увеличении 200×).

Выводы. Развитие аносмии в условиях инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2 имеет специфические именно для этого инфекционного агента черты и может быть обусловлено первичным разрушением клеток, экспрессирующих рецепторы к ангиотензинпревращающему энзиму (ACE-2-положительных сустентакулярных клеток ольфакторной слизистой оболочки носовой полости, нейронов ольфакторных луковиц), с возможной последующей дисфункцией непосредственно ольфакторных клеток (OMP- и TuJ-1-положительных).

Проблема надзвичайно швидкого поширення коронавірусної інфекції, спричиненої SARS-CoV-2, з високим ризиком тяжкого перебігу хвороби, чималою кількістю критичних ускладнень, а отже несприятливим прогнозом із високою летальністю залишається актуальною [2,12]. Для кращого розуміння особливостей патогенезу коронавірусної хвороби, поліпшення діагностики та диференціювання від інших респіраторних інфекцій необхідне ретельне вивчення клітинних механізмів розвитку патогномонічних симптомів COVID-19.

Провідний та один із найпоширеніших специфічних симптомів – зниження нюхової функції (гіпосмія) чи повне її зникнення (аносмія) [6,7,10]. Тому цікаво з'ясувати, які саме патогістологічні та імуногістохімічні зміни її спричиняють [3,13]. Ольфакторні клітини – видозмінені біполярні нейрони, що в нормі експресують рецептори до ольфакторного маркерного протеїну (OMP), який є специфічним для них; гістологічна належність до нервової тканини зумовлює наявність рецепторів до нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) [9].

Розташування нюхових нейронів на поверхні тіла людини зумовлює вразливість до дії різноманітних подразників на відміну від ділянок із глибшим розташуванням нервових клітин, коли назовні виходять лише аферентні волокна. Тобто у разі впливу біологічних (вірусні, бактеріальні, грибкові інфекції тощо), хімічних (інгаляції токсичних речовин) і фізичних (дія екстремальних температур, травми) агентів тіла нейронів можуть бути повністю зруйновані з наступною незворотною втратою нюху, а отже суттєвим погіршенням якості життя. Проте достеменно не відомо, чи є цей фактор єдиною причиною виникнення гіпо- та аносмії.

До складу ольфакторного епітелію входять ще два види клітин: сустентакулярні та базальні. Сустентакулярні клітини виконують опорну функцію, а також забезпечують життєздатність і нормальне функціонування нюхових нейронів, вони експресують рецептори до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) [1,3]. Базальні клітини розташовані на базальній мембрані. Це відносно недиференційовані, резервні клітини, їхня основна функція – відновлення структури ольфакторного епітелію в разі його пошкодження [4]. Ольфакторні цибулини – парні структури безпосередньо центральної нервової системи, утворюють синаптичний контакт з аксонами ольфакторних рецепторних клітин. Особливістю нейронів ольфакторних цибулин також є експресія рецепторів до ACE-2 [1,3,8].

Наголосимо, що немає єдиного механізму розвитку нюхових порушень, тому як причини виникнення гіпо- й аносмії у хворих на COVID-19 слід розглянути такі зміни: порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами, зруйнування ольфакторних рецепторних клітин, пошкодження сустентакулярних клітин, патологічні зміни у клітинах ольфакторних цибулин [2,5,15].

Мета роботи

З'ясування морфологічних особливостей ольфакторних структурних елементів хворих на коронавірусну хворобу (COVID-19) для кращого розуміння механізмів розвитку нюхових розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.

Матеріали і методи дослідження

Здійснили ретроспективний аналіз аутопсійного матеріалу – слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини (ольфакторного епітелію) та ольфакторних цибулин від 9 померлих (4 жінки, 5 чоловіків) віком від 53 до 79 років з лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19 та аносмією в анамнезі. Для контролю створена група з 9 померлих (3 жінки, 6 чоловіків) віком від 59 до 68 років із лабораторно спростованим діагнозом COVID-19, причини смерті – ускладнення цукрового діабету, ішемічна хвороба серця та порушення мозкового кровообігу за ішемічним типом. Матеріал зібрали співробітники Івано-Франківського національного медичного університету та ДВНЗ «Ужгородський національний університет» під час аутопсійних досліджень померлих у патологоанатомічних відділеннях КП «Волинська обласна клінічна лікарня», КНП «Обласна клінічна лікарня Івано-Франківської обласної ради» та КНП «Закарпатська обласна клінічна лікарня імені Андрія Новака». Матеріал для контрольної групи взято у відділенні загальної патології КЗ «Дніпропетровське обласне патологоанатомічне бюро».

Для морфологічного дослідження зразки слизової оболонки та нервової тканини фіксували у 10 % нейтральному забуференому формаліні, зневоднювали та занурювали в парафін. Морфологічне дослідження виконали на базі міжкафедральної морфологічної лабораторії Дніпровського державного медичного університету. З парафінових блоків з тканиною зробили зрізи завтовшки 4 мкм. Наступний етап – депарафінізація та регідратація зрізів, стандартне забарвлення гематоксиліном та еозином; виконали імуногістохімічне дослідження згідно із протоколами TermoScientific (США) з антитілами до нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) та протоколами RnDsystems з антитілами до ольфакторного маркерного протеїну (OMP) й ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2). Цифрові фотографії отримали за допомогою кольорової камери ZEISS Axiocam 512 під мікроскопом Axio Imager.A2 (збільшення ×100/200/400).

Статистичний аналіз і графічну презентацію результатів дослідження виконали з використанням пакетів комп'ютерних програм Statistica 6.1 (StatSoft Inc., серійний № AGAR909E415822FA) та Microsoft Excel 2016. Дані описової статистики наведені у форматі середнє арифметичне ± стандартне відхилення (M ± SD) або як медіана та міжквартильний інтервал (Me (Q1; Q3)) залежно від розподілу ознаки. Категоріальні змінні наведені як абсолютна кількість випадків (n) у групі та частота у відсотках (%). Для оцінювання різниці між порівнюваними середніми значеннями двох незалежних сукупностей у разі дослідження малих вибірок використовували непараметричний метод статистичного аналізу – U-критерій Манна–Вітні. Відмінності зі значенням $p < 0,05$ вважали статистично значущими.

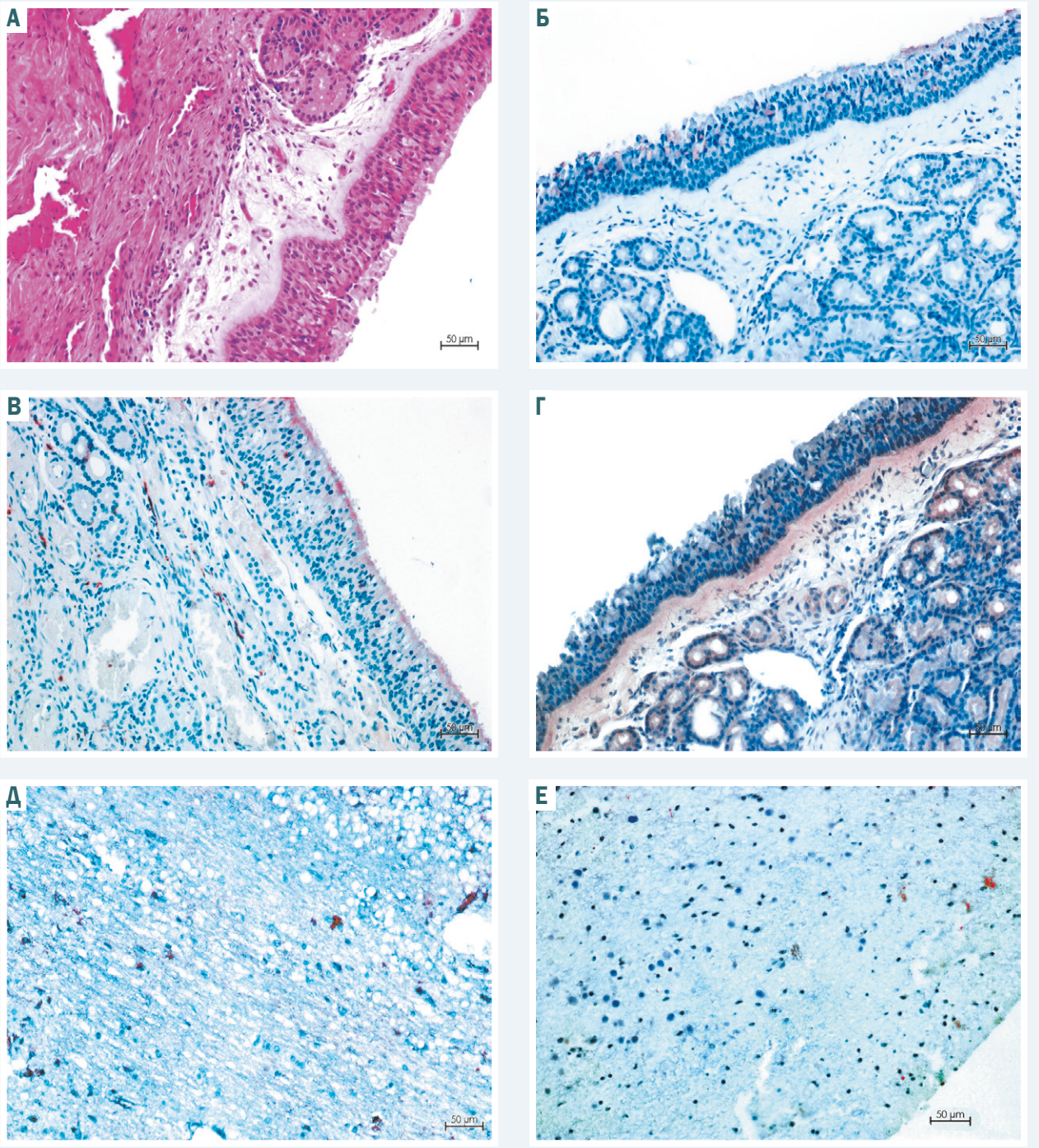

Рис. 1. А. Зразок ольфакторної слизової оболонки хворого на COVID-19 із загальними ознаками гострих запальних змін, забарвлення гематоксиліном та еозином. **Б.** Частково позитивна експресія рецепторів до ольфакторного маркерного протеїну (OMP) ольфакторними рецепторними клітинами хворого на COVID-19, OMP. **В.** Частково позитивна експресія рецепторів до нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) ольфакторними рецепторними клітинами хворого на COVID-19, TuJ-1. **Г.** Вогнищева відсутність експресії рецепторів до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) ольфакторними рецепторними клітинами хворого на COVID-19, ACE-2. **Д.** Позитивна реакція рецепторів нейронів ольфакторної цибулини з антитілами до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) померлого зі спростованим діагнозом COVID-19, ACE-2. **Е.** Вогнищево позитивна експресія рецепторів до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) в нейронах ольфакторної цибулини хворого на COVID-19, ACE-2. Збільшення: А, Б, В, Г, Д, Е ×200.

Результати

Середній вік померлих із лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19 та аносмією в анамнезі та осіб групи контролю становив 64,67 ± 7,73 та 62,33 ± 6,48 року відповідно. Під час морфологічного дослідження встановили, що зміни ольфакторної слизової оболонки носової порожнини мали і загальні риси, притаманні будь-якій гострій респіраторній вірусній інфекції, і специфічні особливості. В усіх зразках виявили ознаки гострих запальних змін слизової оболонки верхніх дихальних шляхів: виражену лімфоплазмоцитарну інфільтрацію слизової оболонки та підслизового шару, розширення та повнокров'я кровоносних судин,

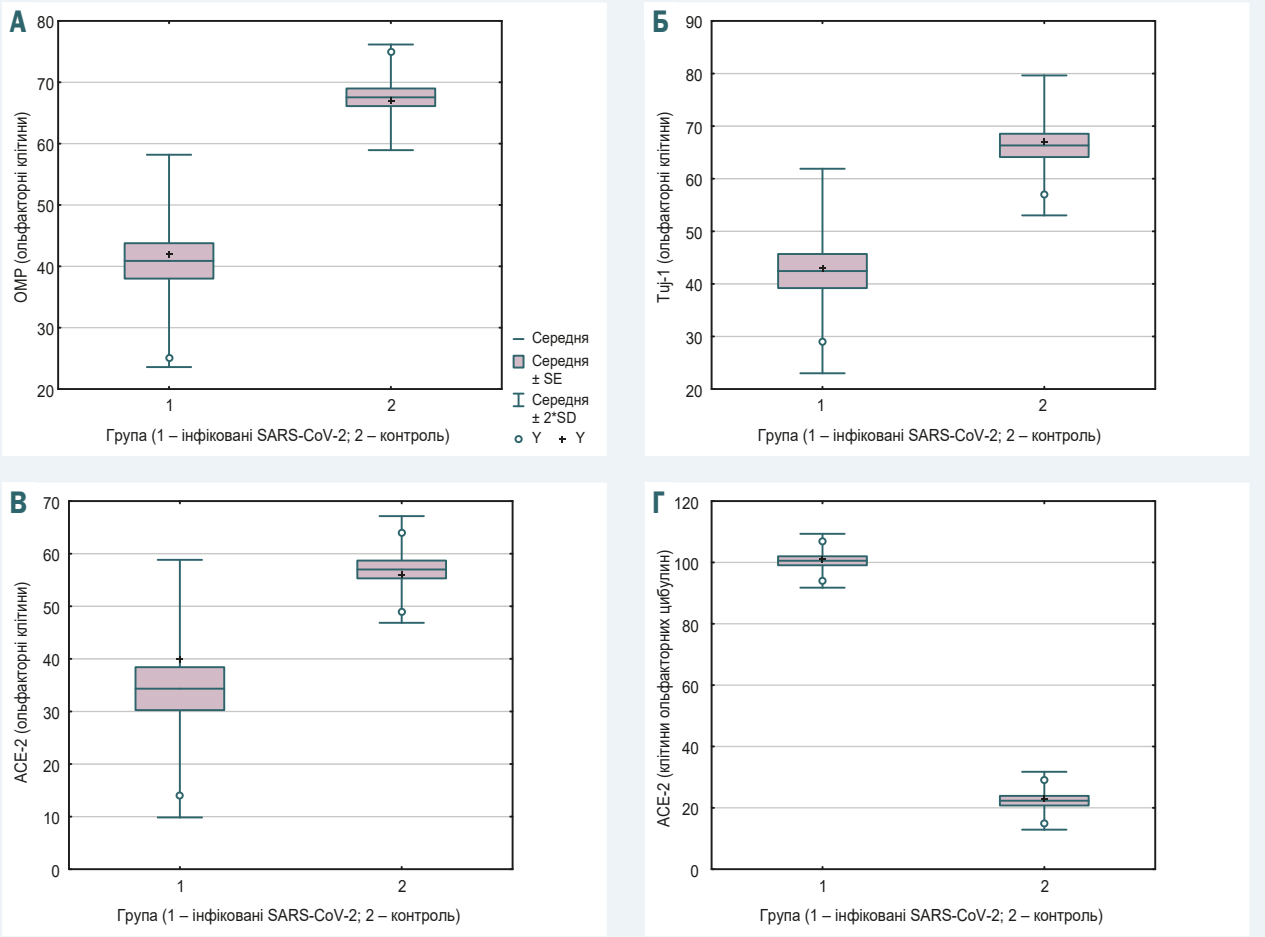

Рис. 2. Середня кількість OMP-, TuJ-1-та ACE-2-позитивних клітин у полі зору при збільшенні ×200 під час дослідження зрізів ольфакторної слизової оболонки носової порожнини контрольної групи та хворих із лабораторно підтвердженим інфікуванням коронавірусом SARS-CoV-2; середня кількість ACE-2-позитивних клітин у полі зору при збільшенні ×200 під час дослідження зрізів ольфакторних цибулин контрольної групи та хворих із лабораторно підтвердженим інфікуванням коронавірусом SARS-CoV-2.

потовщення підслизового шару внаслідок набряку, вогнищеву десквамацію епітелію (*рис. 1А*).

Цікаві результати порівняння стану клітин у контрольних зрізах ольфакторної слизової оболонки померлих з лабораторно спростованим діагнозом COVID-19 та відсутністю симптомів аносмії, де була позитивна реакція з антитілами до ольфакторного маркерного протеїну (OMP), нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) та ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2), зі зрізами інфікованих коронавірусом SARS-CoV-2. Так, кількість OMP-позитивних клітин у контрольних зрізах у середньому становила 67,56 (63,00; 75,00) у полі зору при збільшенні 200×, кількість TuJ-1-позитивних клітин у цих зрізах у середньому дорівнювала 66,33 (57,00; 75,00) у полі зору при збільшенні 200×, кількість ACE-2-позитивних клітин у середньому становила 56,00 (53,00; 64,00) у полі зору при збільшенні 200×.

У зразках слизової оболонки ольфакторної ділянки носової порожнини обстежених із лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19 та аносмією в анамнезі кількість OMP-позитивних клітин була меншою (тест Манна–Вітні, $p < 0,05$), тобто з частково позитивною експресією рецепторів до ольфакторного маркерного протеїну (OMP) (40,89 (25,00;52,00) клітини в полі зору при збільшенні 200×) та нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) (42,44 (29,00; 55,00) клітини в полі зору при збільшенні 200×). У контрольній групі – вогнищево або субтотально відсутня (тест Манна–Вітні, $p < 0,05$) експресія рецепторів до ангіотензинперетворювального ензиму (34,33 (14,00; 49,00) клітини в полі зору при збільшенні 200×) (*рис. 1Б, В, Г*, *рис. 2А, Б, В*). Ці факти свідчать про швидке та масивне зруйнування ольфакторних рецепторних клітин під впливом біологічного агента внаслідок поверхневого розташування з наступним порушенням передавання нюхового імпульсу до структур центральної нервової системи, а також про пошкодження сустентакулярних клітин ольфакторного епітелію, яке може стати причиною порушення секреції одорант-зв'язувальних протеїнів, а тому відсутності зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами.

Загибель сустентакулярних клітин може викликати опосередковане зруйнування ольфакторних рецепторних клітин. У зрізах ольфакторних цибулин хворих на COVID-19 виявлена слабка (тест Манна–Вітні, $p < 0,05$) експресія рецепторів до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) (26,78 (15,00; 39,00) клітини в полі зору при збільшенні 200×) на

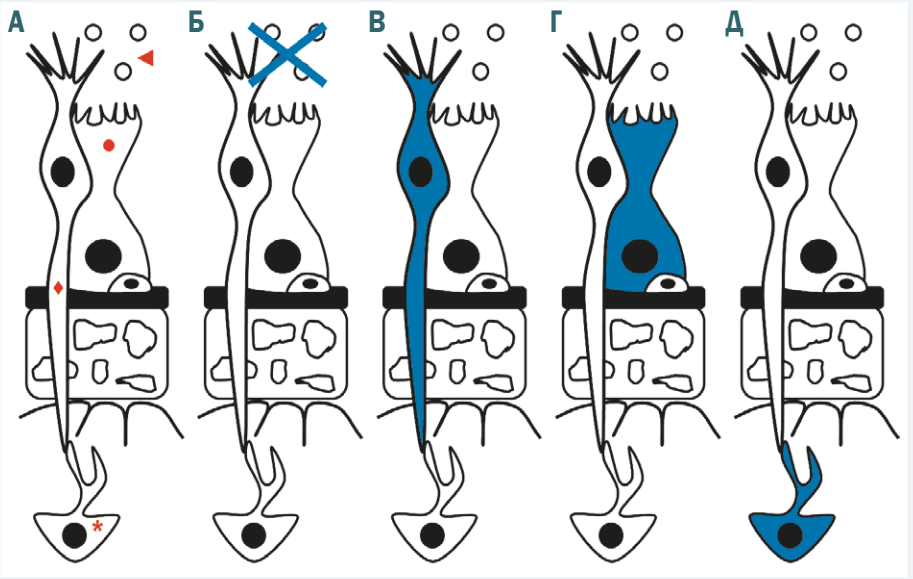

Рис. 3. Схематичне зображення механізму сприйняття нюхових відчуттів і його порушень (елементи графіки запозичені з дослідження R. Butowt та C. S. von Bartheld [2]). **А.** Ланцюг передачі нюхового відчуття у нормі: одоранти (◀) → секреція одорант-зв'язувальних протеїнів сустентакулярною клітиною (●) → зв'язування одорантів з ольфакторною рецепторною клітиною (♦) → утворення синаптичного контакту між ольфакторною рецепторною клітиною та нейроном ольфакторної цибулини (*). **Б.** Порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами внаслідок назальної обструкції при гіперпродукції слизу. **В.** Порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами внаслідок зруйнування ольфакторних рецепторних клітин. **Г.** Порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами внаслідок припинення секреції одорант-зв'язувальних протеїнів через зруйнування сустентакулярних клітин. **Д.** Порушення сприйняття нюхових відчуттів унаслідок зруйнування нейронів ольфакторних цибулин центральної нервової системи.

відміну від контрольних зрізів (100,56 (94,00; 107,00) клітини в полі зору при збільшенні 200×) (*рис. 1Д, Е*, *рис. 2Г*). Отже, не треба виключати можливість зруйнування нейронів ольфакторних цибулин центральної нервової системи, що спричиняє відсутність нюхових відчуттів.

Обговорення

Коронавірусна хвороба, спричинена коронавірусом SARS-CoV-2, – нова проблема сьогодення, тому дослідження особливостей перебігу й основних клінічних проявів цього захворювання тільки починаються. Наукові пошуки у цій сфері показали: будь-які клітини організму людини, що експресують рецептори до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2), можуть бути таргетними для дії коронавірусу SARS-CoV-2. Це пояснює високу частоту ускладнень з боку серцево-судинної системи та нирок, тому не виключене первинне зруйнування сустентакулярних клітин ольфакторного епітелію носової порожнини та нейронів ольфакторних цибулин, які також мають ці рецептори (*рис. 3Г*).

Результати цього дослідження збігаються з даними провідних світових науковців [1–3,11,14]. Виявлені гістологічні зміни підтверджують, що ACE-2-позитивні клітини є частково ураженими або тотально зруйнованими у лабораторно підтверджених випадках інфікування SARS-CoV-2. Проте нерозкритим залишається питання про те, що саме є первинною ланкою розвитку аносмії. Відповісти на нього допоможе ретельне вивчення стану клітинного складу периферичних відділів ольфакторної системи залежно від часу, який минув після виникнення нюхових розладів.

Відомо, що ольфакторні рецепторні клітини відіграють головну роль у механізмі сприйняття запахів, тому стан цих клітин також впливає на наявність, порушення або повну відсутність нюхового сприйняття [3,5]. Наше дослідження показало зменшення кількості ольфакторних рецепторних клітин (OMP-позитивних) у слизовій оболонці хворих із лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19. Це можна пояснити тим, що ці клітини також можуть бути вразливими до дії SARS-CoV-2 безпосередньо або опосередковано після пошкодження сустентакулярних клітин (*рис. 3В*) [1,5,15]. Оборотність нюхових розладів, що спостерігають у більшості випадків, свідчить про ураження саме клітин ольфакторної слизової оболонки носової порожнини або ж не досить критичне ураження нейронів ольфакторних цибулин (*рис. 3Д*). Оскільки більшість гострих респіраторних вірусних інфекцій супроводжується інтенсивним набряком слизової оболонки носової порожнини з гіперфункцією слизових залоз, а отже гіперсекрецією слизу, не можна виключати порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами як одну з можливих причин розвитку нюхових розладів (*рис. 3Б*). Отже, особливості аносмії при коронавірусній хворобі COVID-19 потребують додаткових наукових досліджень.

Висновки

1. В ольфакторній ділянці носової порожнини померлих із лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19 та аносмією в анамнезі виявили зміни периферичних ольфакторних структур, і притаманні респіраторним інфекціям загалом, і специфічні саме для інфікування коронавірусом SARS-CoV-2.

2. Розвиток аносмії за умов інфікування коронавірусом SARS-CoV-2 специфічний саме для цього інфекційного агента, зумовлений первинним зруйнуванням сустентакулярних клітин ольфакторного епітелію (ACE-2-позитивних) з наступною дисфункцією безпосередньо ольфакторних клітин (OMP- та TuJ-1-позитивних).

3. Наявність рецепторів до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) на нейронах ольфакторних цибулин – причина пошкодження цих структур та ще одна ланка в патогенезі виникнення нюхової дисфункції.

4. Ретельне вивчення патогістологічних і молекулярно-генетичних змін периферичних і центральних відділів ольфакторної системи хворих на COVID-19 може покращити розуміння виникнення та розвитку аносмії як патогномонічного симптому, корисне для прогнозування функціонального стану нюхового апарату та диференціальної діагностики гострих респіраторних інфекційних хвороб.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні структурно-функціональних особливостей елементів ольфакторної системи в умовах інфікування коронавірусом SARS-CoV-2.

Конфлікт інтересів: відсутній.
Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 15.06.2021
Після доопрацювання / Revised: 11.10.2021
Прийнято до друку / Accepted: 28.10.2021

Відомості про авторів:
Шпонька І. С., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії і судової медицини, перший проректор, Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна.
ORCID ID: 0000-0002-7561-6489
Попович В. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. оториноларингології з курсом хірургії голови та шиї, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.
ORCID ID: 0000-0002-2898-8474
Усова О. М., асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-8505-2309
Бондаренко О. О., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна.
ORCID ID: 0000-0002-9739-9219
Гаман Ю. В., аспірант, ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Україна.
ORCID ID: 0000-0002-0475-3312
Щурук Г. З., зав. відділення оториноларингології, КП «Волинська обласна клінічна лікарня», м. Луцьк, Україна.
ORCID ID: 0000-0003-1916-9589

Information about authors:
Shponka I. S., MD, PhD, DSc, First ViceRector, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Dnipro State Medical University, Ukraine.
Popovych V. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Otorhinolaryngology and Ophthalmology with the Course of Head and Neck Surgery, IvanoFrankivsk National Medical University, Ukraine.
Usova O. M., MD, Assistant Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.
Bondarenko O. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Dnipro State Medical University, Ukraine.
Haman Yu. V., MD, Graduate Student, Uzhhorod National University, Ukraine.
Shchuruk H. Z., MD, Head of the Department of Otorhinolaryngology, Volyn Regional Clinical Hospital, Lutsk, Ukraine.

Сведения об авторах:
Шпонька И. С., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, первый проректор, Днепровский государственный медицинский университет, г. Днепр, Украина.
Попович В. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. оториноларингологии с курсом хирургии головы и шеи, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.
Усова О. Н., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Днепровский государственный медицинский университет, г. Днепр, Украина.
Бондаренко А. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Днепровский государственный медицинский университет, г. Днепр, Украина.
Гаман Ю. В., аспирант, ГВУЗ «Ужгородский национальный университет», Украина.
Щурук Г. З., зав. отделением оториноларингологии, КП «Волынская областная клиническая больница», г. Луцк, Украина.

Список літератури

[1] Expression of the SARS-CoV-2 Entry Proteins, ACE2 and TMPRSS2, in Cells of the Olfactory Epithelium: Identification of Cell Types and Trends with Age / K. Bilinska, P. Jakubowska, C. S. Von Bartheld, R. Butowt. *ACS chemical neuroscience*, 2020. Vol. 11, Iss. 11. P. 1555-1562. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.0c00210
[2] Butowt R., von Bartheld, C. S. Anosmia in COVID-19: Underlying Mechanisms and Assessment of an Olfactory Route to Brain Infection. *The Neuroscientist*. 2020. 1073858420956905. URL : https://doi.org/10.1177/1073858420956905
[3] Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19 / J. Meinhardt, J. Radke, C. Dittmayer et al. *Nature neuroscience*. 2021. Vol. 24, Iss. 2. P. 168-175. https://doi.org/10.1038/s41593-020-00758-5
[4] Anatomy and cellular constituents of the human olfactory mucosa: a review / C. R. Chen, C. Kachramanoglou, D. Li et al. *Journal of neurological surgery. Part B, Skull base*. 2014. Vol. 75, Iss. 5. P. 293-300. https://doi.org/10.1055/s-0033-1361837
[5] Saussez S., Lechien J. R., Hopkins C. Anosmia: an evolution of our understanding of its importance in COVID-19 and what questions remain to be answered. *European archives of oto-rhino-laryngology*. 2021. Vol. 278, Iss. 7. P. 2187-2191. https://doi.org/10.1007/s00405-020-06285-0
[6] The Prevalence of Olfactory and Gustatory Dysfunction in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis / J. Y. Tong, A. Wong, D. Zhu et al. *Otolaryngology--head and neck surgery*, 2020. Vol. 163, Iss. 1. P. 3-11. https://doi.org/10.1177/0194599820926473
[7] Potential pathogenesis of ageusia and anosmia in COVID-19 patients / L. A. Vaira, G. Salzano, A. G. Fois et al. *International forum of allergy & rhinology*. 2020. Vol. 10, Iss. 9. P. 1103-1104. https://doi.org/10.1002/alr.22593
[8] van Riel D., Verdijk R., Kuiken T. The olfactory nerve: a shortcut for influenza and other viral diseases into the central nervous system. *The Journal of pathology*. 2015. Vol. 235, Iss. 2. P. 277-287. https://doi.org/10.1002/path.4461
[9] Vedin V., Slotnick B., Berghard A. Zonal ablation of the olfactory sensory neuroepithelium of the mouse: effects on odorant detection. *The European journal of neuroscience*. 2004. Vol. 20, Iss. 7. P. 1858-1864. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03634.x
[10] Self-Reported Symptoms of COVID-19, Including Symptoms Most Predictive of SARS-CoV-2 Infection, Are Heritable / F. Williams, M. B. Freidin, M. Mangino et al. *Twin research and human genetics*. 2020. Vol. 23, Iss. 6. P. 316-321. https://doi.org/10.1017/thg.2020.85
[11] High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa / H. Xu, L. Zhong, J. Deng et al. *International journal of oral science*. 2020. Vol. 12, Iss. 1. P. 8. https://doi.org/10.1038/s41368-020-0074-x
[12] Smell and taste dysfunction in patients with COVID-19 / M. S. Xydakis, P. Dehgani-Mobaraki, E. H. Holbrook et al. *The Lancet. Infectious diseases*. 2020. Vol. 20, Iss. 9. P. 1015-1016. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30293-0
[13] Self-reported olfactory loss associates with outpatient clinical course in COVID-19 / C. H. Yan, F. Faraji, D. P. Prajapati et al. *International forum of allergy & rhinology*. 2020. Vol. 10, Iss. 7. P. 821-831. https://doi.org/10.1002/alr.22592
[14] SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues / C. Ziegler, S. J. Allon, S. K. Nyquist et al. *Cell*. 2020. Vol. 181, Iss. 5. P. 1016-1035.e19. https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.035
[15] Neuropathogenesis and Neurologic Manifestations of the Coronaviruses in the Age of Coronavirus Disease 2019: A Review / A. S. Zubair, L. S. McAlpine, T. Gardin et al. *JAMA neurology*. 2020. Vol. 77, Iss. 8. P. 1018-1027. https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.2065

References

[1] Bilinska, K., Jakubowska, P., Von Bartheld, C. S., & Butowt, R. (2020). Expression of the SARS-CoV-2 Entry Proteins, ACE2 and TMPRSS2, in Cells of the Olfactory Epithelium: Identification of Cell Types and Trends with Age. *ACS chemical neuroscience*, *11*(11), 1555-1562. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.0c00210

[2] Butowt, R., & von Bartheld, C. S. (2020). Anosmia in COVID-19: Underlying Mechanisms and Assessment of an Olfactory Route to Brain Infection. *The Neuroscientist*, 1073858420956905. Advance online publication. https://doi.org/10.1177/1073858420956905

[3] Meinhardt, J., Radke, J., Dittmayer, C., Franz, J., Thomas, C., Mothes, R., Laue, M., Schneider, J., Brünink, S., Greuel, S., Lehmann, M., Hassan, O., Aschman, T., Schumann, E., Chua, R. L., Conrad, C., Eils, R., Stenzel, W., Windgassen, M., Rößler, L., … Heppner, F. L. (2021). Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. *Nature neuroscience*, *24*(2), 168-175. https://doi.org/10.1038/s41593-020-00758-5

[4] Chen, C. R., Kachramanoglou, C., Li, D., Andrews, P., & Choi, D. (2014). Anatomy and cellular constituents of the human olfactory mucosa: a review. *Journal of neurological surgery. Part B, Skull base*, *75*(5), 293-300. https://doi.org/10.1055/s-0033-1361837

[5] Saussez, S., Lechien, J. R., & Hopkins, C. (2021). Anosmia: an evolution of our understanding of its importance in COVID-19 and what questions remain to be answered. *European archives of oto-rhino-laryngology*, *278*(7), 2187-2191. https://doi.org/10.1007/s00405-020-06285-0

[6] Tong, J. Y., Wong, A., Zhu, D., Fastenberg, J. H., & Tham, T. (2020). The Prevalence of Olfactory and Gustatory Dysfunction in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. *Otolaryngology--head and neck surgery*, *163*(1), 3-11. https://doi.org/10.1177/0194599820926473

[7] Vaira, L. A., Salzano, G., Fois, A. G., Piombino, P., & De Riu, G. (2020). Potential pathogenesis of ageusia and anosmia in COVID-19 patients. *International forum of allergy & rhinology*, *10*(9), 1103-1104. https://doi.org/10.1002/alr.22593

[8] van Riel, D., Verdijk, R., & Kuiken, T. (2015). The olfactory nerve: a shortcut for influenza and other viral diseases into the central nervous system. *The Journal of pathology*, *235*(2), 277-287. https://doi.org/10.1002/path.4461

[9] Vedin, V., Slotnick, B., & Berghard, A. (2004). Zonal ablation of the olfactory sensory neuroepithelium of the mouse: effects on odorant detection. *The European journal of neuroscience*, *20*(7), 1858-1864. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03634.x

[10] Williams, F., Freidin, M. B., Mangino, M., Couvreur, S., Visconti, A., Bowyer, R., Le Roy, C. I., Falchi, M., Mompeó, O., Sudre, C., Davies, R., Hammond, C., Menni, C., Steves, C. J., & Spector, T. D. (2020). Self-Reported Symptoms of COVID-19, Including Symptoms Most Predictive of SARS-CoV-2 Infection, Are Heritable. *Twin research and human genetics*, *23*(6), 316-321. https://doi.org/10.1017/thg.2020.85

[11] Xu, H., Zhong, L., Deng, J., Peng, J., Dan, H., Zeng, X., Li, T., & Chen, Q. (2020). High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *International journal of oral science*, *12*(1), 8. https://doi.org/10.1038/s41368-020-0074-x

[12] Xydakis, M. S., Dehgani-Mobaraki, P., Holbrook, E. H., Geisthoff, U. W., Bauer, C., Hautefort, C., Herman, P., Manley, G. T., Lyon, D. M., & Hopkins, C. (2020). Smell and taste dysfunction in patients with COVID-19. *The Lancet. Infectious diseases*, *20*(9), 1015-1016. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30293-0

[13] Yan, C. H., Faraji, F., Prajapati, D. P., Ostrander, B. T., & DeConde, A. S. (2020). Self-reported olfactory loss associates with outpatient clinical course in COVID-19. *International forum of allergy & rhinology*. *10*(7), 821-831. https://doi.org/10.1002/alr.22592

[14] Ziegler, C., Allon, S. J., Nyquist, S. K., Mbano, I. M., Miao, V. N., Tzouanas, C. N., Cao, Y., Yousif, A. S., Bals, J., Hauser, B. M., Feldman, J., Muus, C., Wadsworth, M. H., 2nd, Kazer, S. W., Hughes, T. K., Doran, B., Gatter, G. J., Vukovic, M., Taliaferro, F., Mead, B. E., … HCA Lung Biological Network (2020). SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues. *Cell*, *181*(5), 1016-1035.e19. https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.035

[15] Zubair, A. S., McAlpine, L. S., Gardin, T., Farhadian, S., Kuruvilla, D. E., & Spudich, S. (2020). Neuropathogenesis and Neurologic Manifestations of the Coronaviruses in the Age of Coronavirus Disease 2019: A Review. *JAMA neurology*, *77*(8), 1018-1027. https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.2065