

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**УСОВА ОЛЬГА МИКОЛАЇВНА**

УДК: 616.214.8:616.833.11]-091.8:616.98:578.834(043.3/.5)

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ПАТОГІСТОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ  
СТАНУ ПЕРИФЕРИЧНОЇ ЛАНКИ ОЛЬФАКТОРНОЇ СИСТЕМИ  
ХВОРИХ НА КОРОНАВІРУСНУ ХВОРОБУ (COVID-19)**

галузь знань – 22 «Охорона здоров'я»,  
спеціальність – 222 «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ О.М. Усова.

Науковий керівник – Шпонька Ігор Станіславович, заслужений діяч науки і техніки України, доктор медичних наук, професор

Дніпро - 2024

## АНОТАЦІЯ

*Усова О.М.* Патогістологічні та імуноморфологічні особливості стану периферичної ланки ольфакторної системи хворих на коронавірусну хворобу (COVID-19).

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (22 – «Охорона здоров'я»). – Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, 2024.

Дисертаційна робота присвячена актуальній науковій задачі – визначенню морфологічних особливостей ураження клітин периферичної ланки ольфакторної системи при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2 з урахуванням впливу тривалості коронавірусної хвороби (COVID-19), вікових та анамнестичних особливостей.

Дисертаційна робота виконана на кафедрі патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету.

Досліджено тканини структур периферичної ланки ольфакторної системи (ольфакторний епітелій та ольфакторні цибулини) 102 померлих з аносмією чи гіпосмією в анамнезі у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19, які померли у 2020-2021 рр. та мали встановлений клінічний та / або патологоанатомічний діагноз «Коронавірусна хвороба (COVID-19)», підтверджений лабораторно (якісне виявлення РНК вірусу SARS-CoV-2 методом ПЛР), при чому на підготовчому етапі було виключено 7 померлих у зв'язку з наявністю супутньої патології, яка могла б бути причиною розвитку ольфакторних розладів, а решта померлих розділені за періодами COVID-19 – гострим та раннім постгострим. Таким чином, з 95 померлих було сформовано дві основних групи та групу контролю: 1 група (померлі у гострому періоді COVID-19) – 71 померлий (середній вік – 68,7 (32; 91) років, жінок – 30 (42,25 %), чоловіків – 41 (57,75 %)), яка була розподілена на чотири підгрупи залежно

від тривалості гострого періоду (підгрупа А – перший тиждень гострого періоду (8 померлих), підгрупа Б – другий тиждень (23 померлих), підгрупа В – третій тиждень (28 померлих), підгрупа Г – четвертий тиждень (12 померлих)); 2 група (померлі у ранньому постгострому періоді COVID-19) – 24 померлих (середній вік – 64,54 (37; 84) років, жінок – 13 (54,17 %), чоловіків – 11 (45,83 %)); група контролю – 30 померлих (середній вік – 66,8 (42; 84) років, жінок – 13 (43,33 %), чоловіків – 17 (56,67 %)). Підгрупи обстежених були співставні за віком та статтю.

Ольфакторні розлади, асоційовані з інфікуванням вірусом SARS-CoV-2, визначалися у будь-який період COVID-19 (за даними ретроспективного аналізу медичних карт стаціонарних хворих з лабораторно підтвердженим діагнозом за 2020-2021 роки), але були найбільш виразними у перші тижні даного патологічного процесу, а саме у гострий та ранній постгострий періоди хвороби.

Середня кількість клітин, які мали позитивну реакцію з ольфакторним маркерним протеїном (ОМР-позитивних), у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з лабораторно підтвердженим діагнозом «COVID-19» у гострому періоді хвороби (30,47 (7,00; 64,50) клітин), ранньому постгострому періоді (68,77 (61,00; 76,50) клітин) та групі контролю (71,37 (60,50; 82,00) клітин) корелювала з середньою кількістю клітин з позитивною реакцією з нейроспецифічним бета-III тубуліном (TuJ-1-позитивних) у 1 мм ольфакторного епітелію відповідних груп досліджуваних (гострий період COVID-19 – 30,42 (8,00; 63,50) клітин, ранній постгострий період – 68,10 (59,50; 74,50) клітин, група контролю - 71,27 (58,50; 81,50) клітин) ( $p < 0,05$ ), що дає змогу використовувати маркер TuJ-1 одночасно з маркером ОМР для контролю правильності підрахунку кількості вцілілих ольфакторних рецепторних клітин. Також середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у ранньому постгострому періоді чисельно наближалась до такої групи контролю ( $p < 0,05$ ), що свідчить про поступове відновлення

структури ольфакторного епітелію, а відповідно і повернення ольфакторного сприйняття.

Середня кількість клітин з позитивною реакцією з ангіотензин-перетворюючим ензимом-2 (АСЕ-2-позитивних) у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у гострому періоді хвороби (30,16 (9,00; 62,00) клітин), ранньому постгострому періоді (67,44 (57,50; 76,00) клітин) та групі контролю (71,13 (59,50; 83,50) клітин) корелювала з середньою кількістю ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідних груп досліджуваних (гострий період COVID-19 – 30,47 (7,00; 64,50) клітин, ранній постгострий період – 68,77 (61,00; 76,50) клітин, група контролю – 71,37 (60,50; 82,00) клітин) ( $p < 0,05$ ), що підтверджує опосередковане руйнування ольфакторних рецепторних клітин шляхом первинного ушкодження суспендакулярних клітин.

Середня кількість клітин, які мали позитивну реакцію з трансмембранною сериною протеазою-2 (TMPRSS2-позитивних), у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у ранньому постгострому періоді (129,29 (108,00; 144,50) клітин) та групі контролю (137,57 (113,50; 157,50) клітин) корелювала з сумарною середньою кількістю ОМР- та АСЕ-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідних груп досліджуваних (ранній постгострий період – 136,21 (118,50; 152,50) клітин, група контролю – 142,50 (120,00; 164,00) клітин) ( $p < 0,05$ ), що підтверджує наявність рецепторів TMPRSS2 як у ольфакторних рецепторних клітин, так і у суспендакулярних клітин, а також їх сприяння інвазії вірусу SARS-CoV-2.

Середня кількість ОМР- та АСЕ-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у гострому та ранньому постгострому періодах хвороби не корелювала з віком даних померлих ( $p > 0,05$ ), але у групі контролю дані параметри корелювали ( $p < 0,05$ ), що може свідчити про вплив сторонніх факторів на стан цього відділу ольфакторної системи і, як наслідок, існування додаткових механізмів розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2.

У 40,00 % померлих з COVID-19 при гістологічному дослідженні зрізів слизової оболонки ольфакторної ділянки носової порожнини були наявні ознаки структурної перебудови, а саме ділянки атрофічних змін (середня товщина епітеліального шару в даній групі досліджуваних - 41,23 мкм, тоді як у інфікованих вірусом SARS-CoV-2 без ознак реструктуризації ольфакторного епітелію - 66,55 мкм), метаплазії циліндричного епітелію у багат шаровий плоский (у 18,95 % від загальної кількості померлих з COVID-19) та склерозування, при чому середня кількість OMP- та ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих цієї групи корелювала з товщиною епітеліального шару ( $p < 0,05$ ), що свідчить про розвиток ольфакторних розладів більшої вираженості у хворих, слизова оболонка носової порожнини яких раніше підлягала впливу сторонніх чинників, які призвели до якісних та кількісних змін її складу.

Середня кількість OMP-позитивних (36,75 (13,50; 61,50)), TuJ-1-позитивних (37,13 (15,50; 62,50)) та ACE-2-позитивних (36,13 (16,50; 60,00)) клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді COVID-19, які мали супутні хвороби, суттєво відрізнялася від такого показника у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді COVID-19 без супутніх хвороб (OMP-позитивні – 19,38 (7,50; 32,00), TuJ-1-позитивні – 20,25 (9,00; 34,00), ACE-2-позитивні – 20,25 (8,50; 33,50)) та була меншою ( $p > 0,100$ ), а середня кількість OMP-позитивних (71,80 (66,00; 76,50)), TuJ-1-позитивних (70,60 (65,00; 74,50)) та ACE-2-позитивних (69,70 (64,00; 76,00)) клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19, які мали супутні хвороби, суттєво відрізнялася від такого показника у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 без супутніх хвороб (OMP-позитивні – 62,90 (61,00; 64,50), TuJ-1-позитивні – 61,30 (59,50; 62,50), ACE-2-позитивні – 60,40 (57,50; 63,50)) та була меншою ( $p > 0,100$ ), що свідчить про вплив супутньої патології на стан складових ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини.

Середній відсоток ACE-2-позитивних клітин від загальної площі поля зору при дослідженні ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 у гострому періоді хвороби (7,30 (1,00; 14,00) %) корелював з середнім відсотком TMPRSS2-позитивних клітин цієї ділянки у даному періоді (7,05 (1,00; 19,00) %) ( $p < 0,05$ ), проте у ранньому постгострому періоді (ACE-2-позитивні – 16,50 (6,00; 31,00) %, TMPRSS2-позитивні – 12,15 (3,00; 21,00) %) та у групі контролю (ACE-2-позитивні – 65,65 (52,00; 83,00) %, TMPRSS2-позитивні – 44,20 (32,00; 61,00) %) ці показники не корелювали ( $p > 0,05$ ), що може свідчити про різний розподіл даних клітин у різних ділянках ольфакторних цибулин. Однак середній відсоток ACE-2- та TMPRSS2-позитивних клітин ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 був меншим за середній відсоток таких клітин у ольфакторних цибулинах групи контролю ( $p < 0,05$ ), що підтверджує роль нейронів ольфакторних цибулин в одному з механізмів розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2 з більш тривалим часом їх існування.

У даній дисертаційній роботі на основі результатів застосування клінічних, морфометричних, гістологічних, імуногістохімічних та статистичних методів досліджень було теоретично обґрунтовано та практично підтверджено вирішення актуального та важливого наукового завдання медицини сьогодення – поглиблення знань щодо характеру та особливостей розвитку ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі (COVID-19) у різні періоди даного патологічного процесу, а саме у гострому та ранньому постгострому, морфологічних змін у ольфакторній ділянці слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини та ольфакторних цибулинах; визначення ефективності й обґрунтування доцільності застосування специфічних імуногістохімічних маркерів ураження клітин ольфакторного епітелію та ольфакторних цибулин при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2 (OMP, TuJ-1, ACE-2, TMPRSS2); розкриття нових деталей у механізмах ушкодження периферичних відділів ольфакторної системи; прогнозування тривалості існування ольфакторних розладів та оборотності патологічних змін у складових периферичних відділів ольфакторної системи при COVID-19.

У ході проведеного дисертаційного дослідження було запропоновано алгоритм імуногістохімічної діагностики патологічних змін структурних елементів периферичної ланки ольфакторної системи хворих на COVID-19 з урахуванням вікових та анамнестичних особливостей. Розроблений нами алгоритм є якісно новим підходом до вивчення стану структур ольфакторного епітелію та ольфакторних цибулин, оскільки його застосування дозволяє максимально точно підрахувати кількість основних клітинних елементів периферичних ольфакторних органів та спрогнозувати подальші зміни цих елементів з урахуванням оборотності процесу та відновлення ольфакторної функції.

**Новизна дослідження та одержаних результатів.** Вперше були визначені особливості стану ольфакторних рецепторних клітин та сустентакулярних клітин ольфакторного епітелію з урахуванням експресії рецепторів TuJ-1, OMP, ACE-2, TMPRSS2 у залежності від тривалості хвороби у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19.

Вперше була визначена необхідність використання маркера TuJ-1 одночасно з маркером OMP у послідовних зрізах ольфакторної ділянки слизової оболонки носової порожнини для контролю правильності підрахунку кількості ольфакторних рецепторних клітин.

Вперше був встановлений взаємозв'язок між кількістю OMP-, ACE-2-позитивних клітин та TMPRSS2-позитивних клітин ольфакторного епітелію, а також взаємозв'язок між кількістю ACE-2-позитивних клітин та TMPRSS2-позитивних клітин ольфакторних цибулин у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19.

Вперше були визначені особливості стану нейронів ольфакторних цибулин з урахуванням експресії рецепторів TuJ-1, ACE-2, TMPRSS2 у залежності від тривалості хвороби у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19.

Вперше була доведена значущість вікових та анамнестичних особливостей у розвитку ольфакторних розладів у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19.

Вперше була доведена значущість попередньої реструктуризації ольфакторного епітелію у розвитку ольфакторних розладів у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19.

Вперше розроблений алгоритм імуногістохімічної діагностики патологічних змін структурних елементів периферичної ланки ольфакторної системи (ольфакторного епітелію та ольфакторних цибулин) хворих на COVID-19 з урахуванням вікових та анамнестичних особливостей.

**Теоретична та практична цінність роботи.** Розроблений алгоритм імуногістохімічної діагностики патологічних змін структурних елементів периферичної ланки ольфакторної системи (ольфакторного епітелію та ольфакторних цибулин) хворих на коронавірусну хворобу (COVID-19) з урахуванням вікових та анамнестичних особливостей.

Нові положення дисертації були впроваджені до науково-педагогічного процесу кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету, кафедри патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, кафедри патологічної анатомії Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету, кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету.

Нові практичні положення дисертації впроваджено до лікувально-діагностичного процесу відділення загальної патології КП «Дніпропетровське обласне патолого-анатомічне бюро Дніпропетровської обласної ради», патологоанатомічного відділення ВСП «Університетська лікарня»

Дніпровського державного медичного університету, патологоанатомічного відділення КНП «Кіровоградська обласна лікарня Кіровоградської обласної ради», відділення загальної патології з гістологічними дослідженнями КНП «Вінницьке обласне патологоанатомічне бюро» Вінницької обласної ради.

**Ключові слова:** *COVID-19, коронавірусна хвороба 2019, SARS-CoV-2, коронавірусна інфекція, аносмія, ольфакторний епітелій, ольфакторна цибулина, ольфакторний тракт, одоранти, нюх, імуногістохімія, рецептори, TMPRSS2, ACE-2.*

## ANNOTATION

*Usova O.M.* Pathohistological and immunomorphological features of the olfactory system peripheral subdivision state in patients with coronavirus disease (COVID-19).

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of Medicine (Specialty 222 "Medicine", field of knowledge "22" Healthcare"). Dnipro State Medical University, Dnipro, 2024.

The dissertation is devoted to the current scientific problem - the determination of the morphological features of damage to the cells of the peripheral link of the olfactory system during infection with the SARS-CoV-2 virus, taking into account the influence of the duration of the coronavirus disease (COVID-19), age and anamnestic features.

The dissertation was completed at the Department of Pathological Anatomy, Forensic Medicine and Pathological Physiology of the Dnipro State Medical University.

The structures of the olfactory system peripheral link (olfactory epithelium and olfactory bulbs) of 102 deceased with a history of anosmia or hyposmia in the acute and early post-acute periods of COVID-19 who died in 2020-2021 and had a clinical and/or pathological diagnosis of "Coronavirus disease (COVID-19)", laboratory-confirmed (qualitative detection of RNA of the SARS-CoV-2 virus by the PCR method), while at the preparatory stage, 7 deaths were excluded due to the presence of concomitant pathology, which could be the cause of the development of olfactory disorders, and the rest of the dead are divided by the periods of COVID-19 – acute and early post-acute. Thus, two main groups (95 deceased) and a control group were formed: group 1 (died in the acute period of COVID-19) - 71 deceased (average age - 68.7 (32; 91) years, women - 30 (42.25 %), men - 41 (57.75 %)), which was divided into four subgroups depending on the duration of the acute period (subgroup A - the first week of the acute period (8 deaths), subgroup B - the second week (23 deaths),

subgroup B – third week (28 deaths), subgroup G – fourth week (12 deaths)); group 2 (died in the early post-acute period of COVID-19) – 24 deceased (average age – 64.54 (37; 84) years, women – 13 (54.17%), men – 11 (45.83%)); control group – 30 deceased (average age – 66.8 (42; 84) years, women – 13 (43.33%), men – 17 (56.67%)). Examined subgroups were comparable in terms of age and sex.

Olfactory disorders associated with infection with the SARS-CoV-2 virus were determined in any period of COVID-19 (according to the data of a retrospective analysis of the medical records of hospitalized patients with a laboratory-confirmed diagnosis for the years 2020-2021), but were most pronounced in the first weeks of this pathological process, namely in the acute and early post-acute periods of the disease.

The average number of cells with positive reaction with olfactory marker protein (OMP-positive cells) in 1 mm of the olfactory epithelium of the deceased with a laboratory-confirmed diagnosis of COVID-19 in the acute period of the disease (30.47 (7.00; 64.50) cells), early post-acute period (68.77 (61, 00; 76.50) cells) and the control group (71.37 (60.50; 82.00) cells) correlated with the average number of cells with positive reaction with neuron-specific beta-III tubulin (TuJ-1-positive cells) in 1 mm of the olfactory epithelium of the respective groups of subjects (acute period of COVID-19 – 30.42 (8.00; 63.50) cells, early post-acute period – 68.10 (59.50; 74.50) cells, control group – 71.27 (58.50; 81.50) cells) ( $p < 0.05$ ), which makes it possible to use the TuJ-1 marker simultaneously with the OMP marker to control the correctness of counting the number of surviving olfactory receptor cells. Also, the average number of OMP-positive cells per 1 mm of the olfactory epithelium of those who died of COVID-19 in the early post-acute period numerically approached such a control group ( $p < 0.05$ ), which indicates a gradual restoration of the structure of the olfactory epithelium, and, accordingly, the return of olfactory perception.

The average number of cells with positive reaction with angiotensin-converting enzyme-2 (ACE-2-positive cells) per 1 mm of the olfactory epithelium of those who died from COVID-19 in the acute period of the disease (30.16 (9.00; 62.00) cells), early post-acute period (67.44 (57.50; 76 ,00) cells) and the control group (71.13

(59.50; 83.50) cells) correlated with the average number of OMP-positive cells in 1 mm of the olfactory epithelium of the respective groups of subjects (acute period of COVID-19 – 30.47 ( 7.00; 64.50) cells, early post-acute period – 68.77 (61.00; 76.50) cells, control group – 71.37 (60.50; 82.00) cells) ( $p < 0,05$ ), which confirms the accelerated destruction of olfactory receptor cells by primary damage to sustentacular cells.

The average number of cells with positive reaction with transmembrane serine protease-2 (TMPRSS2-positive cells) in 1 mm of the olfactory epithelium of the deceased with COVID-19 in the early post-acute period (129.29 (108.00; 144.50) cells) and the control group (137.57 (113.50; 157.50)) cells) correlated with the total average number of OMP- and ACE-2-positive cells in 1 mm of the olfactory epithelium of the respective groups of subjects (early post-acute period - 136.21 (118.50; 152.50) cells, control group - 142.50 (120.00; 164.00) cells) ( $p < 0.05$ ), which confirms the presence of TMPRSS2 receptors in both olfactory receptor cells and sustentacular cells, as well as their promotion of SARS-CoV-2 virus invasion.

The average number of OMP- and ACE-2-positive cells per 1 mm of the olfactory epithelium of the deceased with COVID-19 in the acute and early post-acute periods of the disease did not correlate with the age of the deceased ( $p > 0.05$ ), but in the control group, these parameters were correlated ( $p < 0.05$ ), which may indicate the influence of extraneous factors on the state of this department of the olfactory system and, as a result, the existence of additional mechanisms for the development of olfactory disorders during infection with the SARS-CoV-2 virus.

In 40.00 % of those who died from COVID-19, upon histological examination of sections of the mucous membrane of the olfactory area of the nasal cavity, there were signs of structural rearrangement, namely areas of atrophic changes (the average thickness of the epithelial layer in this group of subjects was 41.23  $\mu\text{m}$ , while in infected by the SARS-CoV-2 virus without signs of restructuring of the olfactory epithelium - 66.55  $\mu\text{m}$ ), metaplasia of cylindrical epithelium into multi-layered flat (in 18.95 % of the total number of deaths from COVID-19) and sclerosis, with the average

number of OMP- and ACE-2-positive cells in 1 mm of the olfactory epithelium of this group dead correlated with the thickness of the epithelial layer ( $p < 0.05$ ), which indicates the development of olfactory disorders of greater severity in patients whose mucous membrane of the nasal cavity was previously exposed to external factors that caused qualitative and quantitative changes in its composition.

The average number of OMP-positive (36.75 (13.50; 61.50)), TuJ-1-positive (37.13 (15.50; 62.50)) and ACE-2-positive (36.13 (16.50; 60.00)) of cells in 1 mm of the olfactory epithelium of those who died in the acute period of COVID-19, who had concomitant diseases, differed significantly from such an indicator in 1 mm of the olfactory epithelium of those who died in the acute period of COVID-19 without concomitant diseases (OMP-positive – 19.38 (7.50; 32.00), TuJ-1-positive – 20.25 (9.00; 34.00), ACE-2-positive – 20.25 (8.50; 33.50)) and was smaller ( $p > 0.100$ ). The average number of OMP-positive (71.80 (66.00; 76.50)), TuJ-1-positive (70.60 (65.00; 74.50)) and ACE-2-positive (69.70 (64.00; 76.00)) of cells in 1 mm of the olfactory epithelium of those who died in the early post-acute period of COVID-19, who had concomitant diseases, differed significantly from such an indicator in 1 mm of the olfactory epithelium of those who died in the early post-acute period of COVID-19 without concomitant diseases (OMP-positive – 62.90 (61.00; 64.50), TuJ-1-positive – 61.30 (59.50; 62.50), ACE-2-positive – 60.40 (57.50; 63.50)) and was smaller ( $p > 0.100$ ), which indicates the influence of concomitant pathology on the condition of the components of the olfactory mucous membrane of the upper parts of the nasal cavity.

The average percentage of ACE-2-positive cells from the total area of the visual field when examining the olfactory bulbs of those who died from COVID-19 in the acute period of the disease (7.30 (1.00; 14.00) %) correlated with the average percentage of TMPRSS2-positive cells of this sites in this period (7.05 (1.00; 19.00) %) ( $p < 0.05$ ), but in the early post-acute period (ACE-2-positive – 16.50 (6.00; 31.00) %, TMPRSS2-positive – 12.15 (3.00, 21.00) %) and in the control group (ACE-2-positive – 65.65 (52.00; 83.00) %, TMPRSS2-positive – 44.20 (32.00; 61.00) %) these indicators were not correlated ( $p > 0.05$ ), which may indicate a different distribution

of these cells in different areas of the olfactory bulbs. However, the average percentage of ACE-2- and TMPRSS2-positive cells in the olfactory bulbs of those who died from COVID-19 was lower than the average percentage of such cells in the olfactory bulbs of the control group ( $p < 0.05$ ), which confirms the role of the olfactory bulbs neurons in one of the mechanisms of development olfactory disorders during infection with the SARS-CoV-2 virus with a longer duration of their existence.

In this dissertation, based on the results of the application of clinical, morphometric, histological, immunohistochemical and statistical research methods, the solution to the current and important scientific task of today's medicine - deepening knowledge about the nature and features of the development of olfactory disorders in the case of the coronavirus disease (COVID-19) was theoretically substantiated and practically confirmed ) in different periods of this pathological process, namely in acute and early post-acute, morphological changes in the olfactory area of the mucous membrane of the upper parts of the nasal cavity and olfactory bulbs; determination of the effectiveness and substantiation of the feasibility of using specific immunohistochemical markers of damage to the cells of the olfactory epithelium and olfactory bulbs during infection with the SARS-CoV-2 virus (OMP, TuJ-1, ACE-2, TMPRSS2); disclosure of new details in the mechanisms of damage to the peripheral departments of the olfactory system; predicting the duration of the existence of olfactory disorders and the reversibility of pathological changes in the components of the peripheral departments of the olfactory system during COVID-19.

In the course of the dissertation research, an algorithm for immunohistochemical diagnosis of pathological changes in the structural elements of the peripheral link of the olfactory system of patients with COVID-19 was proposed, taking into account age and anamnestic features. The algorithm developed by us is a qualitatively new approach to the study of the state of the structures of the olfactory epithelium and olfactory bulbs, since its application allows for the most accurate calculation of the number of basic cellular elements of the peripheral olfactory organs

and to predict further changes of these elements, taking into account the reversibility of the process and the restoration of the olfactory function.

**The novelty of the research and the obtained results.** For the first time, the features of the state of olfactory receptor cells and sustentacular cells of the olfactory epithelium were determined, taking into account the expression of receptors TuJ-1, OMP, ACE-2, TMPRSS2, depending on the duration of the disease in the acute and early post-acute periods of COVID-19.

For the first time, the need to use the TuJ-1 marker simultaneously with the OMP marker in consecutive sections of the olfactory area of the mucous membrane of the nasal cavity was determined to control the correctness of counting the number of olfactory receptor cells.

For the first time, the relationship between the number of OMP-, ACE-2-positive cells and TMPRSS2-positive cells of the olfactory epithelium, as well as the relationship between the number of ACE-2-positive cells and TMPRSS2-positive cells of the olfactory bulbs in the acute and early post-acute periods was established COVID-19.

For the first time, the features of the state of neurons of the olfactory bulbs were determined, taking into account the expression of receptors TuJ-1, ACE-2, TMPRSS2, depending on the duration of the disease in the acute and early post-acute periods of COVID-19.

For the first time, the significance of age and anamnestic features in the development of olfactory disorders in the acute and early post-acute periods of COVID-19 was proven.

For the first time, the significance of the preliminary restructuring of the olfactory epithelium in the development of olfactory disorders in the acute and early post-acute periods of COVID-19 was proven.

For the first time, an algorithm for immunohistochemical diagnosis of pathological changes in the structural elements of the peripheral link of the olfactory system (olfactory epithelium and olfactory bulbs) of patients with COVID-19 was developed, taking into account age and anamnestic features.

**The theoretical and practical value of the work.** An algorithm for immunohistochemical diagnosis of pathological changes in the structural elements of the peripheral link of the olfactory system (olfactory epithelium and olfactory bulbs) of patients with coronavirus disease (COVID-19) has been developed, taking into account age and anamnestic features.

The new provisions of the dissertation were introduced into the scientific and pedagogical process of the Department of Pathological Anatomy, Forensic Medicine and Pathological Physiology of Dnipro State Medical University, the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, the Department of Pathological Anatomy of Ivano-Frankivsk National Medical University, the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine of Poltava State Medical University, Department of Pathological Anatomy of Kharkiv National Medical University.

The new practical provisions of the dissertation have been introduced into the treatment and diagnostic process of the general pathology department of the ME "Dnipropetrovsk Regional Pathological Anatomical Bureau of the Dnipropetrovsk Regional Council", the pathology department of the SSU "University Hospital" of the Dnipro State Medical University, the pathology department of the MNE "Kirovohrad Regional Hospital of the Kirovohrad Regional Council", department of general pathology with histological studies of the MNE "Vinnytsia Regional Pathological Anatomical Bureau of the Vinnytsia Regional Council".

**Keywords:** *COVID-19, coronavirus disease 2019, SARS-CoV-2, coronavirus infection, anosmia, olfactory epithelium, olfactory bulb, olfactory tract, odorants, smell, immunohistochemistry, receptors, TMPRSS2, ACE-2.*

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ЗДОБУВАЧЕМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ:

1. Шпонька ІС, Попович ВІ, Усова ОМ, Бондаренко ОО, Гаман ЮВ, Щурук ГЗ. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2. *Патологія*. 2021;18(3):278-285. DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання статті.*

2. Шпонька ІС, Усова ОМ. Вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу 2019: імуноморфологічна оцінка. *Медичні перспективи*. 2024;29(1):4-9. DOI: 10.26641/2307-0404.2024.1.300438. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання статті.*

3. Усова ОМ. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2. *Морфологія*. 2024;18(1):78-82. DOI: 10.26641/1997-9665.2024.1.78-82.

4. Усова ОМ, Бондаренко ОО, Шпонька ІС, Попович ВІ. Гістологічні та імуногістохімічні особливості стану периферичних відділів ольфакторної системи за умов інфікування коронавірусом SARS-COV-2. *Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку*: матеріали Міжнародної науково-практичної онлайн-конференції (м. Київ, 22-23 квітня 2021 р.). Київ, 2021. С. 29. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання тез та підготовка доповіді.*

5. Шпонька ІС, Усова ОМ, Бондаренко ОО. Обтяжливі чинники у виникненні ольфакторних порушень у хворих на коронавірусну хворобу. *Теорія та практика сучасної морфології*: матеріали П'ятої науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Дніпро, 20-22 жовтня 2021 р.). Дніпро, 2021. С. 159-161. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання тез.*

6. Шпонька ІС, Усова ОМ, Бондаренко ОО. Гіпотези розвитку ольфакторної дисфункції при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2. *Теорія та практика сучасної морфології*: матеріали Шостої науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Дніпро, 09-11 листопада 2022 р.). Дніпро, 2022. С. 160-162. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання тез.*

7. Шпонька ІС, Усова ОМ. Роль рівнів ольфакторної системи у розвитку нюхових розладів при COVID-19: морфологічні та імуногістохімічні аспекти. *Актуальні проблеми патологічної анатомії*: спеціальний випуск Українського науково-медичного молодіжного журналу № 4 (143) з матеріалами науково-практичної конференції, присвяченої 30-річчю заснування Асоціації патологоанатомів України (м. Київ, 05-06 жовтня 2023 р.). Київ, 2023. С. 30-31. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання тез та підготовка доповіді.*

8. Усова ОМ. Про доцільність вивчення ролі рецепторів до TMPRSS2 у розвитку ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019. *Теорія та практика сучасної морфології*: матеріали Сьомої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Дніпро, 01-03 листопада 2023 р.). Дніпро, 2023. С. 114-115.

9. Усова ОМ, Алексєєнко О.А., Мальцев І.О. Значення ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019. Новини і перспективи медичної науки: матеріали XXIV наукової конференції студентів та молодих учених (м. Дніпро, квітень 2024 р.). Дніпро, 2024. С. 105. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання тез та підготовка доповіді.*

10. Usova OM. Assessment of the significance of TMPRSS2 and ACE-2 receptors for the olfactory disorders development in Coronavirus Disease 2019. Здобутки клінічної та експериментальної медицини: матеріали підсумкової LXVII науково-практичної конференції (м. Тернопіль, 13-14 червня 2024 р.). Тернопіль, 2024. С. 45-46.

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	23
ВСТУП.....	24
РОЗДІЛ 1. УРАЖЕННЯ ЕЛЕМЕНТІВ ОЛЬФАКТОРНОЇ СИСТЕМИ ПРИ ІНФІКУВАННІ ВІРУСОМ SARS-CoV-2 (огляд літератури).....	31
1.1 Термінологія, епідеміологія, основні симптоми та діагностика коронавірусної хвороби (COVID-19).....	32
1.2 Основні структурні елементи периферичної ланки ольфакторної системи.....	35
1.3 Можливі механізми розвитку ольфакторних розладів.....	40
1.4 Особливості ольфакторних розладів у хворих на COVID-19.....	43
1.5 Імуноморфологічні особливості клітин периферичної ланки ольфакторної системи людини.....	46
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	49
2.1 Дизайн дослідження.....	49
2.2. Обґрунтування обсягу вибірки.....	52
2.3 Загальна характеристика померлих, відібраних для дослідження, та сформованих груп.....	53
2.4 Методи дослідження.....	57
РОЗДІЛ 3. МОРФОЛОГІЧНІ, МОРФОМЕТРИЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННИХ ЕЛЕМЕНТІВ ОЛЬФАКТОРНОГО ЕПІТЕЛІЮ ПРИ COVID-19.....	62

3.1 Гістологічні особливості ольфакторної ділянки слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини при COVID-19.....	62
3.2 Характеристика стану ольфакторних рецепторних клітин за допомогою дослідження експресії маркерів OMP та TuJ-1.....	64
3.3 Характеристика стану суспендулярних клітин за допомогою дослідження експресії маркеру ACE-2.....	73
3.4. Взаємозв'язок стану ольфакторних рецепторних клітин та суспендулярних клітин ольфакторного епітелію при COVID-19.....	79
3.5 Особливості експресії маркеру TMPRSS2 в ольфакторних рецепторних клітинах та у суспендулярних клітинах.....	81
3.6 Узагальнення результатів дослідження.....	87
<b>РОЗДІЛ 4. МОРФОЛОГІЧНІ, МОРФОМЕТРИЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИН ОЛЬФАКТОРНОГО ЕПІТЕЛІЮ З РЕСТРУКТУРИЗАЦІЄЮ ПРИ COVID-19.....</b>	<b>90</b>
4.1 Морфологічні та морфометричні особливості клітин ольфакторного епітелію з реструктуризацією при COVID-19.....	90
4.2 Імуногістохімічні особливості клітин ольфакторного епітелію з реструктуризацією при COVID-19.....	93
4.3 Вплив супутньої патології на стан клітин ольфакторного епітелію досліджуваних з COVID-19.....	96
4.4 Узагальнення результатів дослідження.....	101
<b>РОЗДІЛ 5. МОРФОЛОГІЧНІ, МОРФОМЕТРИЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННИХ ЕЛЕМЕНТІВ ОЛЬФАКТОРНИХ ЦИБУЛИН ПРИ COVID-19.....</b>	<b>103</b>

5.1 Характеристика стану нейронів ольфакторних цибулин за допомогою дослідження експресії маркеру ACE-2.....	103
5.2 Характеристика стану нейронів ольфакторних цибулин за допомогою дослідження експресії маркеру TMPRSS2.....	107
5.3 Взаємозв'язок експресії маркерів ACE-2 та TMPRSS2 при COVID-19.....	108
5.4 Узагальнення результатів дослідження.....	109
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	112
ВИСНОВКИ.....	119
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	123
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	124
ДОДАТКИ.....	146

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АГ – артеріальна гіпертензія

Г+Е – гематоксилін та еозин

ГПМК – гостре порушення мозкового кровообігу

ІГХ – імуногістохімічне (дослідження)

ІХС – ішемічна хвороба серця

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

ЦД – цукровий діабет

ACE2 – angiotensin-converting enzyme-2 (ангіотензин-перетворюючий ензим-2)

COVID-19 – coronavirus disease 2019 (коронавірусна хвороба 2019)

DAB – 3,3'-diaminobenzidin (3,3'-діамінобензидин)

Me – медіана

OMP – olfactory marker protein (ольфакторний маркерний протеїн)

SARS-CoV-2 – severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (коронавірус важкого гострого респіраторного синдрому 2)

TMPRSS2 – transmembrane serine protease-2 (трансмембранна серинова протеаза-2)

Tuj1 – neuron-specific beta-III tubulin (нейроспецифічний бета-III тубулін)

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Ольфакторна система – одна з основних сенсорних систем, функцією якої є ідентифікація запахів, що надзвичайно важливо у світосприйнятті, а ольфакторна дисфункція, спричинена впливом різних патогенних факторів, залишається значимою проблемою сьогодення. Розвиток сенсорних розладів даного типу асоційований із суттєвим зниженням якості життя, погіршенням психічного та фізичного здоров'я. Основними чинниками виникнення ольфакторних порушень вважаються літній вік, чоловіча стать, травми голови, вплив токсичних речовин та інфекційні хвороби верхніх дихальних шляхів. Коронавірусна хвороба 2019 (COVID-19), викликана вірусом SARS-CoV-2, наразі зберігає свою актуальність та поширеність серед інфекційних хвороб з переважним ураженням органів респіраторної системи, а мінливість її патогномонічних симптомів залишається важливою темою для дискусій. Ольфакторні розлади у вигляді гіпосмії, аносмії або дизосмії було виявлено у якості загальної ознаки COVID-19, яка є початковим симптомом у більш ніж 25% хворих, а з часом вражає більше 75%. Як правило, тривалість даного патологічного стану складає від 1 до 3 тижнів, однак існують випадки стійких ольфакторних порушень. Морфологічною особливістю ольфакторної системи є її ступінчастість, яка лежить в основі існування декількох гіпотез виникнення ольфакторних розладів. Ольфакторна система складається з ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини, ольфакторних цибулин та ольфакторної кори головного мозку, але питання щодо ключової ролі тих чи інших клітинних складових у розвитку гіпосмії, аносмії чи дизосмії досі лишається відкритим. Так як ольфакторні клітини є видозміненими біполярними нейронами, у нормі вони мають не лише специфічні рецептори ольфакторного маркерного протеїну (OMP), а й рецептори нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1). Суспендакулярні клітини відрізняються наявністю рецепторів ангіотензин-перетворюючого ензиму (АСЕ-2). Деякими науковими дослідженнями підтверджено, що такі ж рецептори мають нейрони ольфакторних цибулин. Також вже встановлено, що провідну роль у розвитку

клінічних проявів COVID-19 відіграють рецептори TMPRSS2, але досі немає відповіді на питання, чи є вони вагомим чинником виникнення ольфакторних розладів?

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація є фрагментом спільної науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології та кафедри внутрішньої медицини 1 Дніпровського державного медичного університету на тему: «Клінічні, морфологічні та молекулярно-генетичні підходи у діагностиці та лікуванні коронавірусної хвороби (COVID-19) та її ускладнень, оцінка ризиків прогресування та вивчення особливостей постморбідної реабілітації хворих: мультисистемний аналіз», державний реєстраційний номер: 0120U105652, термін виконання: 01.2021 - 12.2024 рр..

**Мета дослідження:** визначити морфологічні особливості ураження периферичної ланки ольфакторної системи при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2 з урахуванням впливу тривалості коронавірусної хвороби (COVID-19) та можливої дії зовнішніх факторів та супутньої патології на розвиток ольфакторних розладів.

**Задачі дослідження:**

1. Провести ретроспективний аналіз медичних карт стаціонарних хворих, що померли та мали коронавірусну хворобу (COVID-19) в анамнезі з розвитком ольфакторних розладів.

2. Виконати розтин з забором матеріалу з ольфакторної ділянки слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини, ольфакторних цибулин, ольфакторної зони кори головного мозку та наступним його гістологічним дослідженням із застосуванням як рутинних, так і специфічних патоморфологічних методів.

3. Виконати порівняльний аналіз результатів дослідження аутопсійного матеріалу, отриманого від померлих з лабораторно

підтвердженим діагнозом «Коронавірусна хвороба (COVID-19)», та аутопсійного матеріалу, взятого у померлих контрольної групи.

4. Визначити вплив зовнішніх факторів та супутньої патології на структурні елементи ольфакторної системи хворих на коронавірусну хворобу (COVID-19).

5. За допомогою отриманих даних розробити патогістологічні та імуноморфологічні критерії оцінки стану структурних елементів ольфакторної системи при розвитку коронавірусної хвороби (COVID-19).

6. На підставі клініко-морфологічних даних визначити подальший прогноз та відновлювальну спроможність структурних елементів ольфакторної системи хворих на коронавірусну хворобу (COVID-19) в залежності від вікових, анамнестичних особливостей та стану пацієнта.

**Об'єкт дослідження:** ураження клітин ольфакторної системи при коронавірусній хворобі (COVID-19) у різні періоди патологічного процесу та у залежності від особливостей впливу зовнішніх факторів та супутньої патології на розвиток ольфакторних розладів.

**Предмет дослідження:** клінічні, гістологічні, морфометричні та імуногістохімічні показники у померлих з ураженням ольфакторної системи на тлі коронавірусної хвороби (COVID-19) у різні періоди патологічного процесу та у залежності від особливостей впливу зовнішніх факторів та супутньої патології на розвиток ольфакторних розладів.

**Методи дослідження:**

1. Клінічні: вивчення анамнезу хвороби та життя померлих з підтвердженим діагнозом «Коронавірусна хвороба (COVID-19)».

2. Морфометричні: визначення та оцінка кількості та розмірів структурних елементів різних відділів ольфакторної системи.

3. Гістологічні: дослідження структурних особливостей елементів різних відділів ольфакторної системи померлих з підтвердженим діагнозом «Коронавірусна хвороба (COVID-19)» і контрольної групи.

4. Імуногістохімічні: ідентифікація специфічних антигенних властивостей ольфакторного епітелію.

5. Статистичні: обробка та аналіз отриманих даних (з використанням методів параметричної та непараметричної статистики).

**Новизна дослідження та одержаних результатів.** Вперше були визначені особливості стану ольфакторних рецепторних клітин та суштентакулярних клітин ольфакторного епітелію з урахуванням експресії рецепторів TuJ-1, OMP, ACE-2, TMPRSS2 у залежності від тривалості хвороби у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19.

Вперше була визначена необхідність використання маркера TuJ-1 одночасно з маркером OMP у послідовних зрізах ольфакторної ділянки слизової оболонки носової порожнини для контролю правильності підрахунку кількості ольфакторних рецепторних клітин.

Вперше був встановлений взаємозв'язок між кількістю OMP-, ACE-2-позитивних клітин та TMPRSS2-позитивних клітин ольфакторного епітелію, а також взаємозв'язок між кількістю ACE-2-позитивних клітин та TMPRSS2-позитивних клітин ольфакторних цибулин у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19.

Вперше були визначені особливості стану нейронів ольфакторних цибулин з урахуванням експресії рецепторів TuJ-1, ACE-2, TMPRSS2 у залежності від тривалості хвороби у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19.

Вперше була доведена значущість вікових та анамнестичних особливостей у розвитку ольфакторних розладів у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19.

Вперше була доведена значущість попередньої реструктуризації ольфакторного епітелію у розвитку ольфакторних розладів у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19.

Вперше розроблений алгоритм імуногістохімічного дослідження патологічних змін клітин периферичної ланки ольфакторної системи (ольфакторного епітелію та ольфакторних цибулин) хворих на COVID-19 з урахуванням вікових та анамнестичних особливостей.

**Практичне значення одержаних результатів, впровадження їх у практику.** Розроблений алгоритм імуногістохімічної діагностики патологічних змін структурних елементів периферичної ланки ольфакторної системи (ольфакторного епітелію та ольфакторних цибулин) хворих на коронавірусну хворобу (COVID-19) з урахуванням вікових та анамнестичних особливостей.

Нові положення дисертації були впроваджені до науково-педагогічного процесу кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету, кафедри патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, кафедри патологічної анатомії Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету, кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету.

Нові практичні положення дисертації впроваджено до лікувально-діагностичного процесу відділення загальної патології КП «Дніпропетровське обласне патолого-анатомічне бюро Дніпропетровської обласної ради», патологоанатомічного відділення ВСП «Університетська лікарня» Дніпровського державного медичного університету, патологоанатомічного відділення КНП «Кіровоградська обласна лікарня Кіровоградської обласної ради», відділення загальної патології з гістологічними дослідженнями КНП «Вінницьке обласне патологоанатомічне бюро» Вінницької обласної ради.

**Особистий внесок здобувача.** Мета та основні задачі, які вивчались під час виконання дисертаційної роботи, були сформульовані разом з науковим керівником – заслуженим діячем науки і техніки України, доктором медичних

наук, професором І.С. Шпонькою. Автором самостійно проведений ретроспективний аналіз, а також літературний огляд сучасних вітчизняних та зарубіжних джерел, за результатами якого були окреслені основні напрями роботи. Також автором особисто було проведено відбір померлих, виконано їх розтин з забором необхідного матеріалу та його гістологічне, морфометричне, імуногістохімічне дослідження. Самостійно проведено аналіз анамнестичних даних померлих та статистичну обробку отриманих результатів дослідження, на основі чого результати було апробовано та опубліковано. Автором написано всі розділи дисертаційної роботи, сформульовано висновки та практичні рекомендації, які було впроваджено в роботу лікувальних закладів та навчально-педагогічний процес.

Дисертаційна робота виконана на кафедрі патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати, отримані в ході дисертаційної роботи, представлені на щорічній науково-практичній конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (м. Дніпро, 2021 р., 2022 р., 2023 р.), міжнародній науково-практичній онлайн-конференції «Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку» (м. Київ, 2021 р.), науково-практичній конференції «COVID-школа 2022» (м. Дніпро, 2022 р.), науково-практичній конференції, присвяченій 30-річчю заснування Асоціації патологоанатомів України «Актуальні проблеми патологічної анатомії» (м. Київ, 2023 р.), XXIV науковій конференції студентів та молодих учених «Новини і перспективи медичної науки» (м. Дніпро, 2024 р.), підсумковій LXVII науково-практичної конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (м. Тернопіль, 2024 р.).

**Публікації.** За результатами дисертації було опубліковано 10 наукових праць, з яких – 3 статті у наукових фахових виданнях України (з них 1 стаття – у виданні, що індексується у міжнародних

наукометричних базах Scopus та Web of Science, 1 – у виданні, що індексується у міжнародній наукометричній базі Web of Science) та 7 тез доповідей, опублікованих у матеріалах науково-практичних конференцій.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація викладена на 158 сторінках та складається зі вступу, огляду літератури, розділу з описанням матеріалів і методів дослідження, трьох розділів з результатами власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій, а також списку використаних джерел, що містить 175 посилань. Робота ілюстрована 13 таблицями, 51 рисунком.

## РОЗДІЛ 1

### УРАЖЕННЯ ЕЛЕМЕНТІВ ОЛЬФАКТОРНОЇ СИСТЕМИ ПРИ ІНФІКУВАННІ ВІРУСОМ SARS-CoV-2 (огляд літератури)

Ольфакторна система – одна з основних сенсорних систем, функцією якої є ідентифікація запахів, що надзвичайно важливо у світосприйнятті, а ольфакторна дисфункція, спричинена впливом різних патогенних факторів, залишається значимою проблемою сьогодення. Розвиток сенсорних розладів даного типу асоційований із суттєвим зниженням якості життя, погіршенням психічного та фізичного здоров'я. Основними чинниками виникнення ольфакторних порушень вважаються літній вік, чоловіча стать, травми голови, вплив токсичних речовин та інфекційні хвороби верхніх дихальних шляхів.

Коронавірусна хвороба 2019 (COVID-19), викликана вірусом SARS-CoV-2, наразі зберігає свою актуальність та поширеність серед інфекційних хвороб з переважним ураженням органів респіраторної системи, а мінливість її патогномонічних симптомів залишається важливою темою для дискусій. Ольфакторні розлади у вигляді гіпосмії, аносмії або дизосмії було виявлено у якості загальної ознаки COVID-19, яка є початковим симптомом у більш ніж 25% хворих, а з часом вражає більше 75%. Як правило, тривалість даного патологічного стану складає від 1 до 3 тижнів, однак існують випадки стійких ольфакторних порушень.

Морфологічною особливістю ольфакторної системи є її ступінчастість, яка лежить в основі існування декількох гіпотез виникнення ольфакторних розладів. Ольфакторна система складається з периферичних елементів, а саме ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини та ольфакторних цибулин, а також ольфакторної кори головного мозку, але питання щодо ключової ролі тих чи інших клітинних складових у розвитку гіпосмії, аносмії чи дизосмії досі лишається відкритим.

## **1.1 Термінологія, епідеміологія, основні симптоми та діагностика коронавірусної хвороби (COVID-19)**

Аналізуючи світові наукові джерела, можна визначити коронавірусну хворобу 2019 як хворобу, спричинену новим видом коронавірусу, коронавірусом тяжкого гострого респіраторного синдрому 2 (SARS-CoV-2)» (раніше – 2019-nCoV), який вперше було ідентифіковано під час спалаху даного респіраторного захворювання у місті Ухань (Китай) у грудні 2019 року. Акронім COVID-19 походить саме від назви «коронавірусна хвороба 2019» і має більш широке застосування як у літературі, так і практичній діяльності [1-3].

Упродовж останніх чотирьох років коронавірусна хвороба (COVID-19) набула серйозного характеру та несе загрозу для людей у всьому світі. Цей факт підтверджує те, що з 30 січня 2020 року дана хвороба визначалася як «надзвичайна ситуація у сфері охорони здоров'я, що викликає міжнародне занепокоєння», а 11 березня 2020 року Всесвітня організація охорони здоров'я оголосила COVID-19 пандемією, яка тривала до 4 травня 2023 року, і зараз, після припинення цього статусу, небезпека інфікування вірусом SARS-CoV-2 та розвитку під його впливом критичних змін у внутрішніх органах залишається актуальною [4-6]. Так, за даними ВООЗ, станом на квітень 2024 року відсоток позитивного результату ПЛР-дослідження з метою виявлення РНК вірусу SARS-CoV-2 під час інтегрованого дозорного нагляду в рамках Глобальної системи епіднагляду та реагування на грип (GISRS) становив 7,3 % із 79 країн протягом тижня, тобто за цей місяць було зареєстровано понад 147 000 нових випадків розвитку COVID-19 та 2 600 летальних випадків, причиною яких була дана хвороба, тож усього з кінця 2019 року загальна кількість підтверджених випадків COVID-19 склала понад 775 000 000 [7].

Розглядаючи термінологію COVID-19, важливо відмітити особливості періодизації. Наразі виділяють два основні періоди даної хвороби: гострий, який триває перші чотири тижні від її початку, та ранній постгострий (post-COVID-19), розвиток якого починається від кінця четвертого тижня. У свою чергу ранній

постгострий період COVID-19 підрозділяється на ранній (підгострий) період (4-12 тижнів) та пізній (від кінця 12 тижнів). Також пізній постгострий період включає в себе довготривалий COVID-19 (long-COVID-19), який триває понад 6 місяців від початку хвороби (рис. 1.1) [8-11].

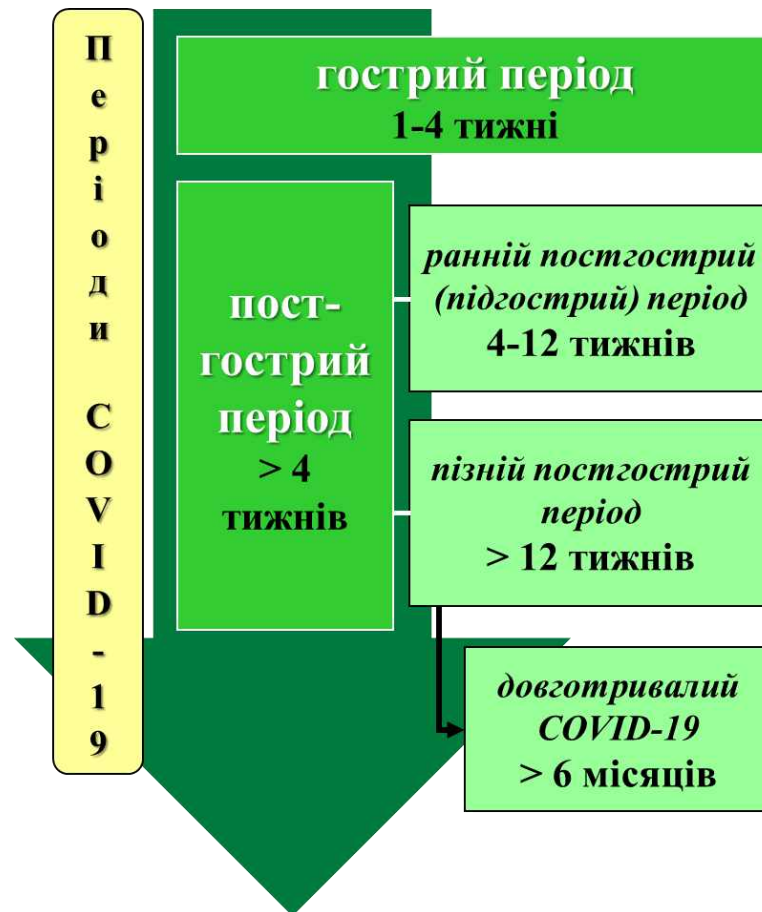


Рис. 1.1. Періоди COVID-19

Відомо, що люди будь-якої вікової категорії сприйнятливі до інфікування вірусом SARS-CoV-2, але середній вік розвитку хвороби становить близько 50 років. Однак клінічні прояви відрізняються з віком і статтю. Встановлено, що у чоловіків старше 60 років, які мають супутні хвороби, частіше розвиваються тяжкі ускладнення з боку респіраторної системи, які вимагають госпіталізації та можуть спричинити смертельний наслідок, тоді як більшість молодших пацієнтів мають легку форму COVID-19 або безсимптомний перебіг [12-16]. При інфікуванні даним вірусом найчастішими симптомами є лихоманка, підвищена втомлюваність та сухий кашель. Менш поширеними симптомами є підвищене

виділення мокротиння, головний біль, кровохаркання, діарея, анорексія, біль у горлі, біль у грудях, озноб, нудота та блювання [15-16]. Також описані такі специфічні симптоми, як ольфакторні та смакові розлади [17-20]. Більшість досліджуваних мали ознаки захворювання після завершення інкубаційного періоду, тривалість якого у середньому складала 1–14 днів (найчастіше – 5 днів), а задишка та пневмонія у середньому розвивалися упродовж 8 днів від початку хвороби [12].

У звіті про 72 314 випадки COVID-19 у Китаї 81 % випадків були класифіковані як легкі, 14 % – як важкі, які потребували штучної вентиляції легень у відділенні інтенсивної терапії, а 5 % були критичними (з розвитком дихальної недостатності, септичного шоку та / або поліорганної недостатності) [13, 21-24]. У більшості хворих також розвивалася виражена лімфопенія. У порівнянні з пацієнтами, які не перебували у відділенні інтенсивної терапії, пацієнти відділень інтенсивної терапії мали вищі рівні цитокінів у плазмі крові, що може свідчити про імунopatологічний процес, спричинений цитокіновим штормом. У цій когорті пацієнтів близько 2,3 % людей померли у середньому протягом 16 днів від початку розвитку хвороби. Чоловіки старше 68 років мали вищий ризик дихальної та серцевої недостатності, які були причиною смерті, незалежно від наявності в анамнезі серцево-судинних захворювань. Більшість пацієнтів одужали та були виписали з лікарні через 2 тижні [25-29].

Рання діагностика є ключовою у контролі за поширенням COVID-19. Молекулярне виявлення нуклеїнової кислоти вірусу SARS-CoV-2 є золотим стандартом. Багато наборів для виявлення вірусних нуклеїнових кислот націлені на детекцію генів ORF1b (включаючи RdRp), N, E або S [30-32]. Важливо також відмітити, що хоча вірус SARS-CoV-2 виявляється у різному біологічному матеріалі: мазках з горла, задньої стінки ротоглотки та носоглотки, мокротинні та бронхіальній рідині, вірусне навантаження вище в зразках нижніх дихальних шляхів [33-36]. Також серологічні тести, направлені на виявлення білків N або S, можуть доповнити молекулярну діагностику, особливо на пізніх стадіях хвороби

або у ретроспективних дослідженнях. Однак ступінь і тривалість імунної відповіді все ще вивчені не достатньо, а доступні серологічні тести відрізняються своєю чутливістю та специфічністю, що слід враховувати при веденні пацієнтів та подальшому аналізі клінічних випадків [37-38].

## 1.2 Основні структурні елементи периферичної ланки ольфакторної системи

Ольфакторна система – це одна з основних сенсорних систем людини, основною функцією якої є розпізнавання різноманітних запахів. Морфологічною особливістю даної системи є її ступінчастість. Ольфакторна система складається з периферичної ланки, до складу якої входять ольфакторний епітелій слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини та ольфакторні цибулини, а також ольфакторної кори головного мозку (рис. 1.2) [39-43].

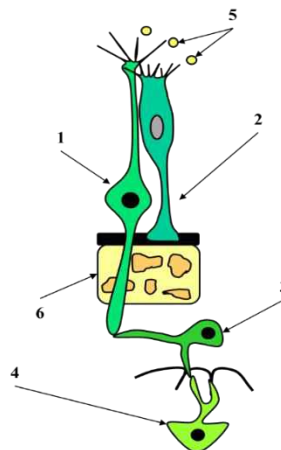


Рис. 1.2. Основні складові ольфакторної системи:

- 1 – ольфакторна рецепторна клітина ольфакторного епітелію;
- 2 – суспендулярна клітина ольфакторного епітелію;
- 3 – нейрон ольфакторної цибулини;
- 4 – нейрон ольфакторної кори;
- 5 – одоранти;
- 6 – решітчаста пластинка решітчастої кістки

Примітка. елементи графіки запозичені з дослідження R. Butowt та C.

S. von Bartheld

**Особливості будови ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини.** Ольфакторна ділянка слизової оболонки макроскопічно має жовтуватий відтінок та займає більшу частину криші носової порожнини: розпочинається біля переднього краю верхньої носової раковини та простягається у глибину порожнини у середньому на 1 см, з криші кожної носової порожнини опускається по латеральному боку майже на всю верхню раковину, а по медіальному – близько 1 см донизу по носовій перетинці [41].

Ольфакторна оболонка складається з одношарового багаторядного епітелію та підлеглої власної пластинки слизової оболонки. До складу ольфакторного епітелію входять клітини трьох видів: ольфакторних рецепторних клітин, суспендакулярних (опорних) клітин та базальних клітин (рис. 1.3) [44-46].

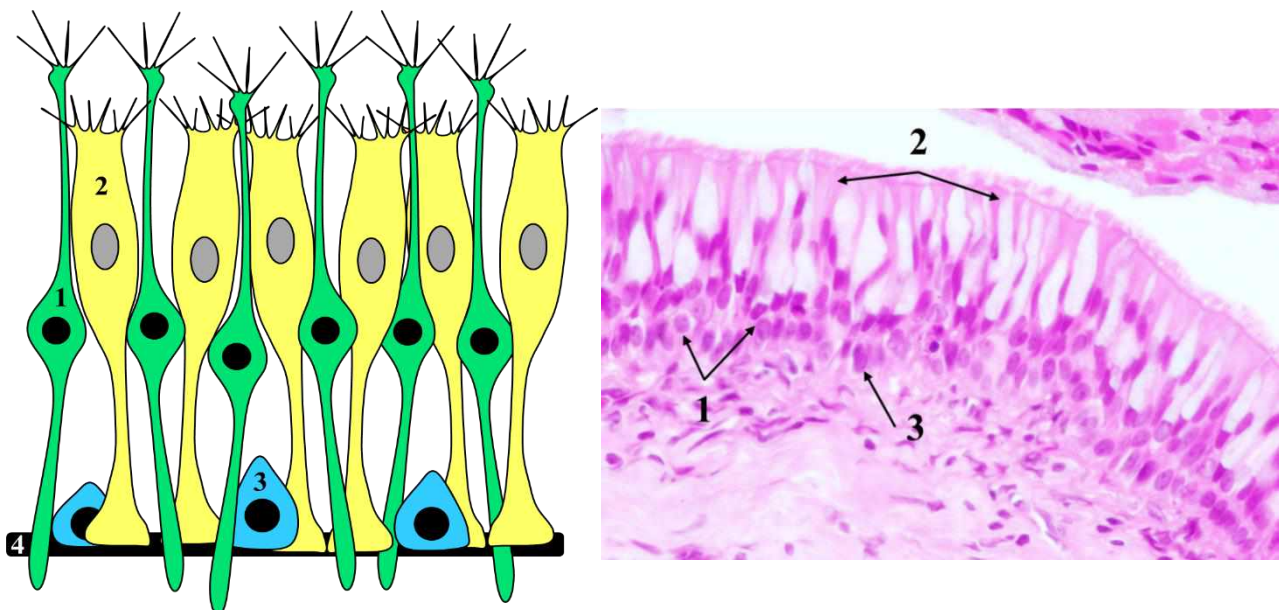


Рис. 1.3. Основні елементи ольфакторного епітелію слизової оболонки носової порожнини, Г+Е, збільшення  $\times 630$ :

- 1 – ольфакторна рецепторна клітина;
- 2 – суспендакулярна клітина;
- 3 – базальна клітина;
- 4 – базальна мембрана

*Ольфакторні рецепторні клітини* є видозміненими біполярними нейронами: від верхнього полюса тіла клітини відходить дендрит у бік поверхні

епітеліального шару, а від нижнього полюса – аксон у глибину власної пластинки слизової оболонки. Тіло даної клітини дещо розширене та під тиском суспензії клітин розташоване ближче до базальної мембрани, містить округле ядро, дендрит у кінцевій своїй частині має потовщення, яке називається ольфакторною булавою, яке виступає над поверхнею слизової оболонки та сполучається з прилеглими суспензійними клітинами за допомогою міжклітинного контактного комплексу. Кожна ольфакторна булава має множинні ольфакторні війки на своїй поверхні, які за своєю природою є хеморецепторами. Немієлінований аксон направлений в середину власної пластинки слизової оболонки, де сполучається з іншими аксонами з утворенням пучків волокон ольфакторного нерва, який направляє у бік ольфакторних цибулин через отвори у решітчастій пластинці решітчастої кістки (рис. 1.4) [47-49].

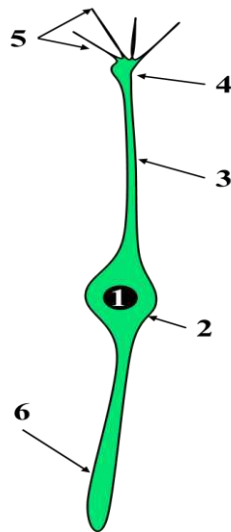


Рис. 1.4. Будова ольфакторної рецепторної клітини ольфакторного епітелію:

- 1 – ядро;
- 2 – тіло;
- 3 – дендрит;
- 4 – ольфакторна булава;
- 5 – ольфакторні війки;
- 6 – аксон

Хоча ольфакторні рецепторні клітини являють собою аферентні нейрони, нетипова для нейронів локалізація цих клітин – на поверхні тіла людини – робить їх надзвичайно вразливими до дії різноманітних біологічних, хімічних та фізичних патогенних факторів, тому при травмуванні або розвитку респіраторних інфекційних хвороб клітини швидко руйнуються з порушенням ольфакторної функції слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини. Особливості локалізації ольфакторних рецепторних клітин сприяють їх прогресуючій втраті з кожним роком життя людини [48-49].

*Суспендакулярні (опорні) клітини* ольфакторного епітелію мають дещо неправильну циліндричну форму, а їх верхівка вкрита мікроборсинками. Цитоплазма цих клітин багата на гранули коричнево-жовтого пігменту, який і надає ольфакторній ділянці слизової оболонки носової порожнини жовтуватий відтінок. Ядро має овальну форму, бліде, розташоване у ширшій частині клітини та лежить вище відносно ядра ольфакторної рецепторної клітини. У бік базальної мембрани суспендакулярна клітина нерівномірно звужується (рис. 1.5) [47-49].

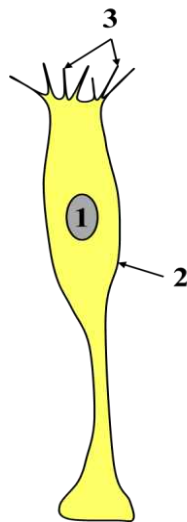


Рис. 1.5. Будова суспендакулярної клітини ольфакторного епітелію:

- 1 – ядро;
- 2 – тіло;
- 3 – мікроборсинки

*Базальні клітини* ольфакторного епітелію мають конічну форму та невеликі розміри, розташовані на базальній мембрані на деякій віддаленості одна від одної. Ці клітини є відносно недиференційованими, а тому вважаються

резервними, які у разі потреби можуть диференціюватися у суспендикулярні клітини, а за даними деяких літературних джерел – навіть у ольфакторні рецепторні клітини, що свідчить про можливість відновлення як структури ольфакторної ділянки слизової оболонки носової порожнини після її порушення під впливом тих чи інших патогенних чинників, так і відповідно ольфакторної функції даної ланки ольфакторної системи [50-54].

Під епітеліальним шаром ольфакторної ділянки слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини розташована власна пластинка, утворена з волокнисто-еластичної сполучної тканини, багатой на артеріальні та венозні судини, а також трубчасто-альвеолярні залози Боумена. Залози Боумена є специфічними для ольфакторної ділянки слизової оболонки та продукують рідкий секрет, який постійно зволожує ольфакторні війки ольфакторних рецепторних клітин, також в цій рідині розчинюються одоранти, що є обов'язковим для правильної взаємодії таких хімічних речовин з ольфакторними війками [55-56].

**Особливості будови ольфакторних цибулин.** Парні ольфакторні цибулини мають овальну форму та локалізовані в ольфакторних борознах нижніх поверхонь лобних часток головного мозку. Морфологічною особливістю ольфакторної цибулини є те, що у її структурі виділяють шість концентричних шарів, але основними є гломерулярний шар (другий від поверхні) та шар мітральних клітин (четвертий від поверхні). Дендрити мітральних клітин утворюють синапси з аксонами ольфакторних рецепторних клітин слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини, тобто зі складовими ольфакторного нерва. Ці сполучення називаються гломерулами. До складу гломерул також входять відростки пучкових та перигломерулярних клітин ольфакторної цибулини. Аксони мітральних клітин утворюють парні ольфакторні тракти (лівий та правий), безмієлінові волокна якого прямують до ольфакторних ділянок сірої речовини головного мозку. Найглибший, центрально розташований клітинний шар ольфакторної цибулини – це гранулярний шар,

відростки його нейронів утворюють синапси з відростками пучкових та перигломерулярних клітин з метою забезпечення латеральних зв'язків [57-62].

### **1.3 Можливі механізми розвитку ольфакторних розладів**

У результаті аналізу результатів світових науково-медичних досліджень можна зробити узагальнюючий висновок, що поширеність ольфакторних розладів у людей старше 50 років становить близько 25 %, цей показник поступово зростає з віком та у людей старше 80 років вже сягає 62,5 %. Оскільки функціонування ольфакторної системи погіршується з віком, старіння посилює клінічну важливість ольфакторної дисфункції. Також до факторів ризику зниження, погіршення сприйняття запахів або спотворення цього сприйняття відносять чоловічу стать, куріння, порушення мозкового кровообігу, епілепсію, травми голови та хронічні захворювання носової порожнини та навколоносових пазух [63-72].

Механізми розвитку ольфакторної дисфункції є складними та багатофакторними, а від комбінації умов їх розвитку у кожному окремому випадку залежить тривалість та оборотність патологічних змін. Факторами, які впливають на функціонування ольфакторної системи, є структурні особливості носової порожнини, а також розвиток запальних та інших патологічних процесів, які можуть модулювати повітряний потік, а значить і доступ одорантів до ольфакторної ділянки слизової оболонки, змінювати морфологію та стан клітинних ольфакторних елементів. Хоча наразі старіння є основною причиною втрати нюху, вважається, що низка клінічних та зовнішніх факторів також впливає на хемосенсорну функцію. На сьогодні існує декілька таких механізмів: через порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами ольфакторного епітелію, безпосереднє або опосередковане зруйнування ольфакторних рецепторних клітин чи зруйнування суштентакулярних клітин ольфакторного епітелію, а також шляхом порушення сприйняття ольфакторного імпульсу унаслідок пошкодження нейронів

ольфакторних цибулин та нейронів ольфакторної кори головного мозку (рис. 1.6) [73-76].

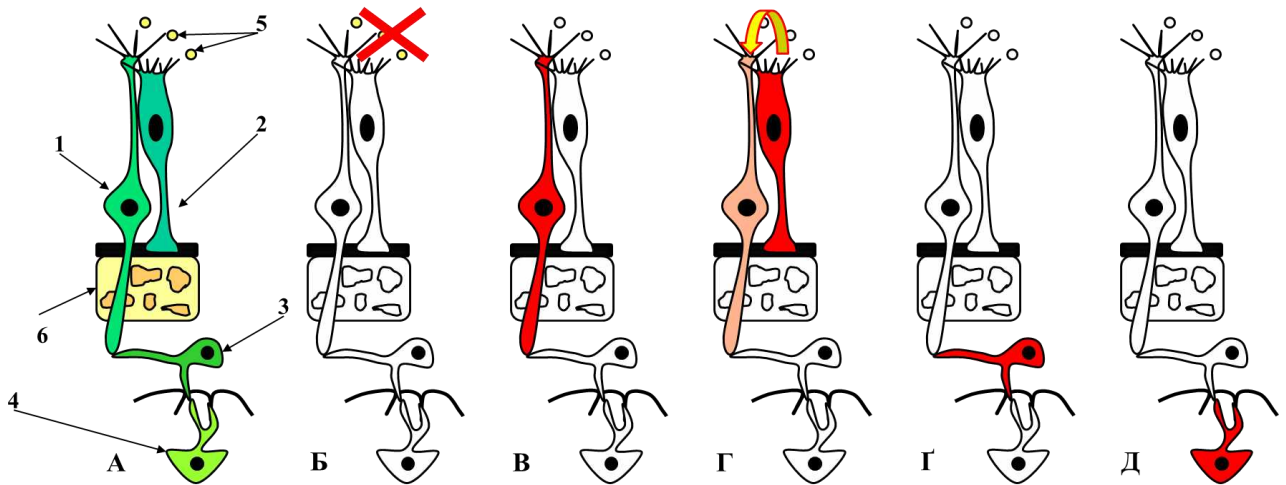


Рис. 1.6. Механізми розвитку ольфакторних розладів (А – ланцюг передачі ольфакторного відчуття у нормі, Б – порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами, В – альтерація ольфакторних рецепторних клітин, Г – альтерація суспендулярних клітин та опосередковане ураження ольфакторних рецепторних клітин, І – альтерація нейронів ольфакторних цибулин, Д – альтерація нейронів ольфакторної кори головного мозку):

- 1 – ольфакторна рецепторна клітина ольфакторного епітелію;
- 2 – суспендулярна клітина ольфакторного епітелію;
- 3 – нейрон ольфакторної цибулини;
- 4 – нейрон ольфакторної кори;
- 5 – одоранти;
- 6 – решітчаста пластинка решітчастої кістки

*Порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами* відбувається, як правило, унаслідок назальної обструкції при гіперпродукції слизу, різкому підвищенні кровонаповнення та проникності стінок судин, вираженому набряку слизової оболонки носової порожнини, що є характерним для більшості гострих респіраторних інфекційних та алергічних хвороб. Оскільки дані патологічні стани є короткотривалими, описаним вище змінам властива транзиторність, тому цей механізм розвитку ольфакторної

дисфункції є основою тимчасових, оборотних змін з відновленням повноцінного ольфакторного сприйняття [73-76].

*Альтерація ольфакторних рецепторних клітин ольфакторного епітелію* спричинює порушення зв'язування одорантів з ними. Пошкодження або руйнування ольфакторних рецепторних клітин може бути наслідком прямої дії фізичних факторів на ольфакторну слизову оболонку носової порожнини (травматизація, термічне ураження), безпосереднього впливу біологічних (віруси, бактерії, гриби, найпростіші) та хімічних (агресивні кислотні та лужні сполуки) чинників, ішемічних та трофічних змін цієї ділянки при порушеннях мозкового кровообігу, артеріальній гіпертензії, облітеруючому атеросклерозі, цукровому діабеті, системних хворобах сполучної тканини з аутоімунізацією, пухлинах, хворобах нервової системи тощо. У цьому разі не виключено масивну загибель клітин даного типу з необоротністю патологічних змін або неповним відновленням клітинного складу ольфакторного епітелію [79-81].

Причини *альтерації суспендакулярних клітин ольфакторного епітелію* суттєво не відрізняються від описаних вище, притаманних для ураження ольфакторних рецепторних клітин. Оскільки суспендакулярні клітини забезпечують опору, трофіку ольфакторних рецепторних клітин та секрецію одорант-зв'язувальних протеїнів, пошкодження або повне руйнування цих клітин може призвести до опосередкованого ураження ольфакторних рецепторних клітин, що у свою чергу може бути оборотним або ні [79-81].

Найбільш поширеними причинами *альтерації нейронів ольфакторних цибулин та ольфакторної кори головного мозку* є гострі чи хронічні порушення мозкового кровообігу як за ішемічним, так і за геморагічним типом, пухлинні та запальні хвороби головного мозку та оболонок, патологічні процеси у кістках черепа, травми голови, не виключена також роль біологічних агентів (у тому числі й вірусів) у розвитку цього механізму виникнення ольфакторної дисфункції [82-84]. Оскільки процес відновлення нервових клітин є складним та тривалим, ольфакторні розлади у даному випадку є необоротними або

затяжними, а також характеризуються спотворенням ольфакторного сприйняття [85-88].

#### **1.4 Особливості ольфакторних розладів у хворих на COVID-19**

Виникнення ольфакторних розладів часто є найпершою, а інколи і єдиною ознакою інфікування вірусом SARS-CoV-2, що дозволяє вважати часткову чи повну втрату нюху, спотворення сприйняття запахів специфічними для COVID-19 симптомами. Також відомо, що поширеність даної дисфункції відрізняється між популяціями, що може бути спричинене відмінностями структури як спайкового протеїну різних штамів цього вірусу, так і білків клітин хворого, які забезпечують проникнення вірусу всередину організму, тому для розуміння особливостей розвитку ольфакторних розладів саме при COVID-19 важливо знати шлях вірусу SARS-CoV-2 серед елементів ольфакторної системи інфікованої ним людини [44].

У початкові місяці пандемії COVID-19 виникнення ольфакторної дисфункції не вважалось пов'язаним безпосередньо з інфікуванням вірусом SARS-CoV-2. У перших науково-медичних дослідженнях, проведених у Китаї, зазначалося, що даний симптом зустрічався лише у 5 % пацієнтів, проте у пізніших дослідженнях науковців з країн Європи, Близького Сходу та Північної Америки з цієї тематики було описано більшу поширеність даних розладів [89-96].

Наразі у різних країнах світу тривають дослідження, націлені на детальне вивчення особливостей інвазії вірусу SARS-CoV-2 вглиб організму інфікованої людини. Вже досягнений значний прогрес у з'ясуванні клітинних і молекулярних механізмів виникнення гіпосмії, аносмії та дизосмії, спричинених цим вірусом. Дані механізми пов'язані як з типами клітин ольфакторного епітелію слизової оболонки носової порожнини, так і з експресією цими клітинами специфічних білків, які сприяють проникненню вірусу у тканини та

його накопиченню в організмі [97-100]. Описаний у світових дослідженнях каскад клітинних реакцій та змін складових ольфакторного епітелію слизової оболонки носової порожнини пояснює короткотривалі ольфакторні розлади при COVID-19, однак досі недостатньо розкриті питання можливості проникнення вірусу SARS-CoV-2 у глибші відділи ольфакторної системи та розвитку тривалої та необоротної ольфакторної дисфункції [97-102].

Не дивлячись на те, що як і більшість респіраторних вірусних інфекцій, COVID-19 може призводити до назальної обструкції та ринореї, а це перешкоджає взаємодії одорантів з ольфакторними війками ольфакторних рецепторних клітин та спричинює кондуктивну гіпосмію або аносмію, встановлено що майже 60 % інфікованих вірусом SARS-CoV-2 з ольфакторними розладами не мають описаної вище загальної симптоматики, а також у них відсутній значний набряк слизової оболонки носової порожнини та навколоносових пазух на рентгенологічних зображеннях [103-108].

Існують судження про те, що вірус SARS-CoV-2 може проникати у ольфакторні рецепторні клітини ольфакторного епітелію з розвитком сенсоневральної гіпосмії чи аносмії. Проте транзиторність ольфакторних розладів, яка не відповідає можливому часу регенерації нервових клітин, суперечить даним науковим поглядам, тобто функціональне відновлення ольфакторної системи інколи відбувається швидше за час, необхідний для заміщення ольфакторних рецепторних клітин, дозрівання війок і росту нових аксонів від ольфакторного епітелію через решітчасту пластинку для формування синапсів у ольфакторній цибуліні [109-119]. Також вже доведено, що ольфакторні рецепторні клітини не мають рецепторів до ангіотензин-перетворюючого ензиму-2 (ACE-2), які власне і забезпечують проникнення вірусу SARS-CoV-2 всередину клітини, а це означає що ольфакторні рецепторні клітини не є початковою і основною мішенню для вірусу. Сукупність цих фактів з великою імовірністю виключає пряме пошкодження ольфакторних рецепторних клітин, але вимагає ретельного вивчення морфологічних

особливостей даної ділянки у разі наявності тривалої ольфакторної дисфункції [120-125].

Цікавість викликає здатність вірусу SARS-CoV-2 проникати у нейрони ольфакторних цибулин та ольфакторної кори головного мозку, але раптова втрата нюху та його швидке подальше відновлення є вагомим аргументом проти цієї здатності. Також бракує досліджень щодо визначення можливості експресувати рецептори ACE-2 цими нервовими клітинами. Наукові дослідження, які є доступними для ознайомлення сьогодні, не показують те, що нейрони ольфакторних цибулин або центральної нервової системи можуть гостро накопичувати вірус, принаймні упродовж перших двох тижнів з моменту зараження. Відповідно, даний сценарій виключає розвиток швидкої та тимчасової ольфакторної дисфункції, яка є більш частою і характерною при COVID-19 [118, 126-132]. Також діагностика змін тканини головного мозку за допомогою магнітно-резонансної томографії не показало ознак запалення, яке спричинив би вірус [133-135].

Однак вже підтвердженою є взаємодія вірусу SARS-CoV-2 з суспендулярними клітинами ольфакторного епітелію, оскільки ці клітини мають рецептори до ангіотензин-перетворюючого ензиму-2 (ACE2) і трансмембранної серинової протеази-2 (TMPRSS2), які дають можливість вірусу проникнути вглиб клітини [120, 124]. Важливим фактом є те, що руйнування суспендулярних клітин не завжди призводить до загибелі ольфакторних рецепторних клітин, але спричинює тимчасову їх дисфункцію через пошкодження ольфакторних війок навіть при збереженні аксонів цих клітин [97, 100, 125]. Загибель і регенерація суспендулярних клітин відбувається набагато швидше за загибель і регенерацію ольфакторних рецепторних клітин, тому що регенерація останніх потребує часу для дозрівання нових дендритів, відтворення нових аксонів та їх проникнення через решітчасту пластинку решітчастої кістки до ольфакторної цибулини. Таким чином, швидке оновлення суспендулярних клітин корелює зі швидким відновленням ольфакторної функції, яке клінічно

спостерігається в більшості випадків [136-138]. Однак чи є альтерація лише сустантакулярних клітин ольфакторного епітелію достатньою для того, щоб спричинити ольфакторні розлади такої тривалості та інтенсивності, як при COVID-19?

### **1.5 Імуноморфологічні особливості клітин периферичної ланки ольфакторної системи людини**

Ольфакторні рецепторні клітини ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини у нормі експресують рецептори до ольфакторного маркерного протеїну (OMP), який є специфічним для них. Цей протеїн добре розчиняється в рідкому середовищі та виявляється у цитоплазмі зрілих клітин, дуже рідко – у ядрах, куди може потрапити шляхом пасивної дифузії. OMP модулює передачу ольфакторних сигналів через аксони до ольфакторних цибулин і регулює ольфакторне відчуття [139-142]. Оскільки ольфакторні рецепторні клітини є модифікованими нейронами, їх особливістю є здатність експресувати рецептори до нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1), характерні для клітин нервової тканини [143]. Такі ж рецептори містять нейрони ольфакторних цибулин [144-145]. Отже TuJ-1 є структурним протеїном, що експресується у нейронах периферичної та центральної нервової системи. Він забезпечує стабільність мікротрубочок у тілах нейронів та в аксонах, а також підтримує реалізацію аксонального транспорту [144-145].

Зрілі сустантакулярні клітини ольфакторного епітелію у нормі експресують рецептори до ангіотензин-перетворюючого ензиму (ACE-2). Особливістю нейронів ольфакторних цибулин також є експресія рецепторів до ангіотензин-перетворюючого ензиму (ACE-2) [138, 148-150].

Рецептори TMPRSS2 та ACE-2 відіграють провідну роль у проникненні вірусу SARS-CoV-2 у клітини ольфакторної системи, а відповідно і у виникненні ольфакторних розладів при COVID-19, оскільки даний вірус проникає у клітини

шляхом взаємодії з клітинними протеїнами: спайковий глікопротеїн на поверхні вірусу спочатку розщеплюється набором клітинних протеаз, до складу якого входить фермент TMPRSS2, а далі перетворюється на дві субодиниці, S1 і S2. Субодиниця S1 зв'язується з рецептором ACE-2, а субодиниця S2 прикріплюється до клітинної мембрани. Протеїн TMPRSS2 також сприяє проникненню вірусу в клітину шляхом розщеплення частини білка рецептора ACE-2 (рис. 1.7) [151-155].

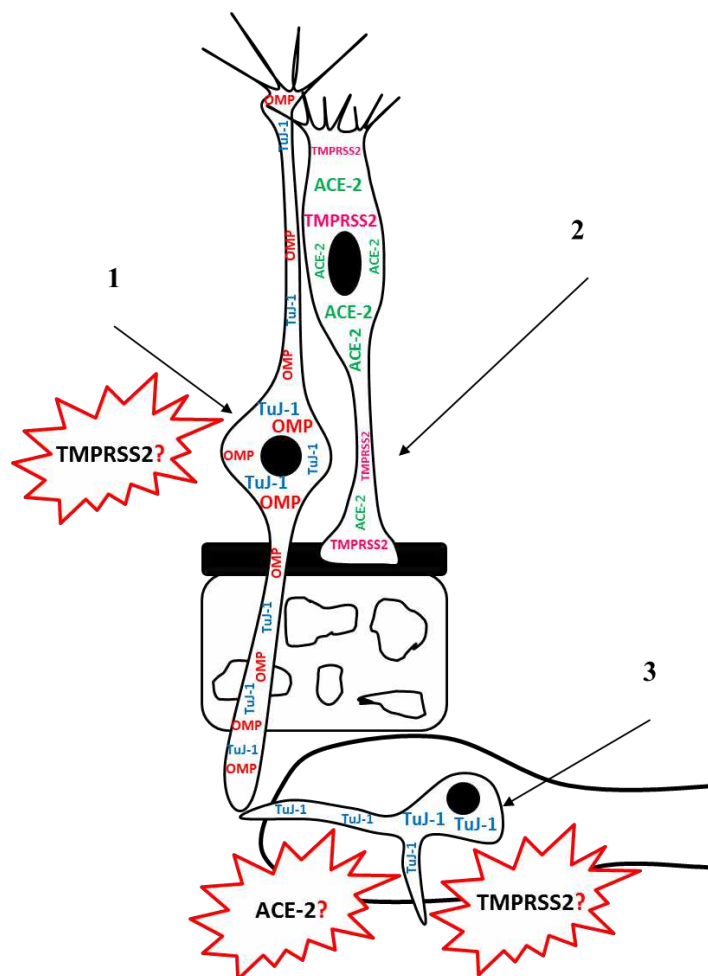


Рис. 1.7. Імуноморфологічні особливості клітин периферичної ланки ольфакторної системи:

- 1 – ольфакторна рецепторна клітина ольфакторного епітелію;
- 2 – сусентакулярна клітина ольфакторного епітелію;
- 3 – нейрон ольфакторної цибулини

Не дивлячись на популярність теми хвороби COVID-19 та специфічності її симптомів серед сучасних світових досліджень, досі бракує тих, що мають

відповідь на питання, чи характерні рецептори ACE2 для нейронів ольфакторних цибулин, а рецептори TMPRSS2 – для ольфакторних рецепторних клітин ольфакторного епітелію та нейронів ольфакторних цибулин.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Дизайн дослідження

Дослідження у рамках даної дисертаційної роботи було проведено упродовж 2020-2024 рр. на кафедрі патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету (м. Дніпро, Україна). Взяття матеріалу відбувалося з 2020 по 2021 рік у відділеннях загальної та інфекційної патології КП «Дніпропетровське обласне патолого-анатомічне бюро Дніпропетровської обласної ради» (м. Дніпро, Україна), патологоанатомічному відділенні КНП «Обласна клінічна лікарня Івано-Франківської обласної ради» (м. Івано-Франківськ, Україна), патологоанатомічному відділенні КП «Криворізька міська клінічна лікарня №8» Криворізької міської ради (м. Кривий Ріг, Україна) та патологоанатомічному відділенні КНП «Центральна міська клінічна лікарня» Дружківської міської ради (м. Дружківка, Україна). Морфологічні етапи дослідження проводилися на базі Міжкафедральної морфологічної лабораторії Дніпровського державного медичного університету (м. Дніпро, Україна).

Дослідження проводилось із дотриманням усіх етичних стандартів, визначених в Гельсінській декларації про етичні засади медичних досліджень з участю людей та Загальній декларації ЮНЕСКО [156] про біоетику і права людини з узгодженням з комісією з питань біомедичної етики Дніпровського державного медичного університету.

Критерії включення померлих у дослідження:

- встановлений діагноз «Коронавірусна хвороба (COVID-19)», підтверджений лабораторно (якісне виявлення РНК вірусу SARS-CoV-2 методом ПЛР);
- наявність ольфакторних розладів у період розвитку хвороби;
- вік померлого - від 18 років;

- час від констатації біологічної смерті до проведення розтину – менше 24 годин;
- відсутність ознак посмертного аутолізу.

Критерії виключення померлих з дослідження:

- припущення діагнозу «Коронавірусна хвороба (COVID-19)» без лабораторного виявлення РНК вірусу SARS-CoV-2 (відсутність результатів ПЛР-дослідження);
- відсутність даних про наявність ольфакторних розладів у період розвитку хвороби;
- вік померлого – до 18 років;
- наявність заяви родичів про відмову від розтину;
- час від констатації біологічної смерті до проведення розтину – більше 24 годин;
- наявність ознак посмертного аутолізу;
- наявне руйнування периферичних ланок ольфакторної системи (некроз, крововилив, пухлина тощо).

Дисертаційне дослідження визначалося поставленою метою та конкретними задачами роботи і складалося з наступних чотирьох основних етапів:

I. організаційного з опрацюванням світових наукових публікацій за заданою темою, плануванням дослідження та оволодінням обраними для виконання роботи методиками;

II. підготовчого з формуванням трьох груп досліджуваних (група №1 – померлі у гострому періоді COVID-19 з підгрупами відповідно до тривалості даного періоду за тижнями (підгрупа А – перший тиждень гострого періоду, підгрупа Б – другий тиждень, підгрупа В – третій тиждень, підгрупа Г – четвертий тиждень), група №2 – померлі у ранньому постгострому періоді COVID-19, група контролю – померлі від патологічних процесів та станів, не

пов'язаних з COVID-19, без випадків інфікування вірусом SARS-CoV-2 в анамнезі та без ольфакторних розладів), а також взяттям матеріалу;

III. безпосереднього проведення дослідження за допомогою клінічного, морфометричного, гістологічного та імуногістохімічного методів;

IV. аналітичного зі статистичною обробкою даних, узагальненням отриманих результатів, формулюванням висновків, освітленням наукових здобутків у статтях, тезах, доповідях та написанням рукопису дисертаційної роботи (рис. 2.1).

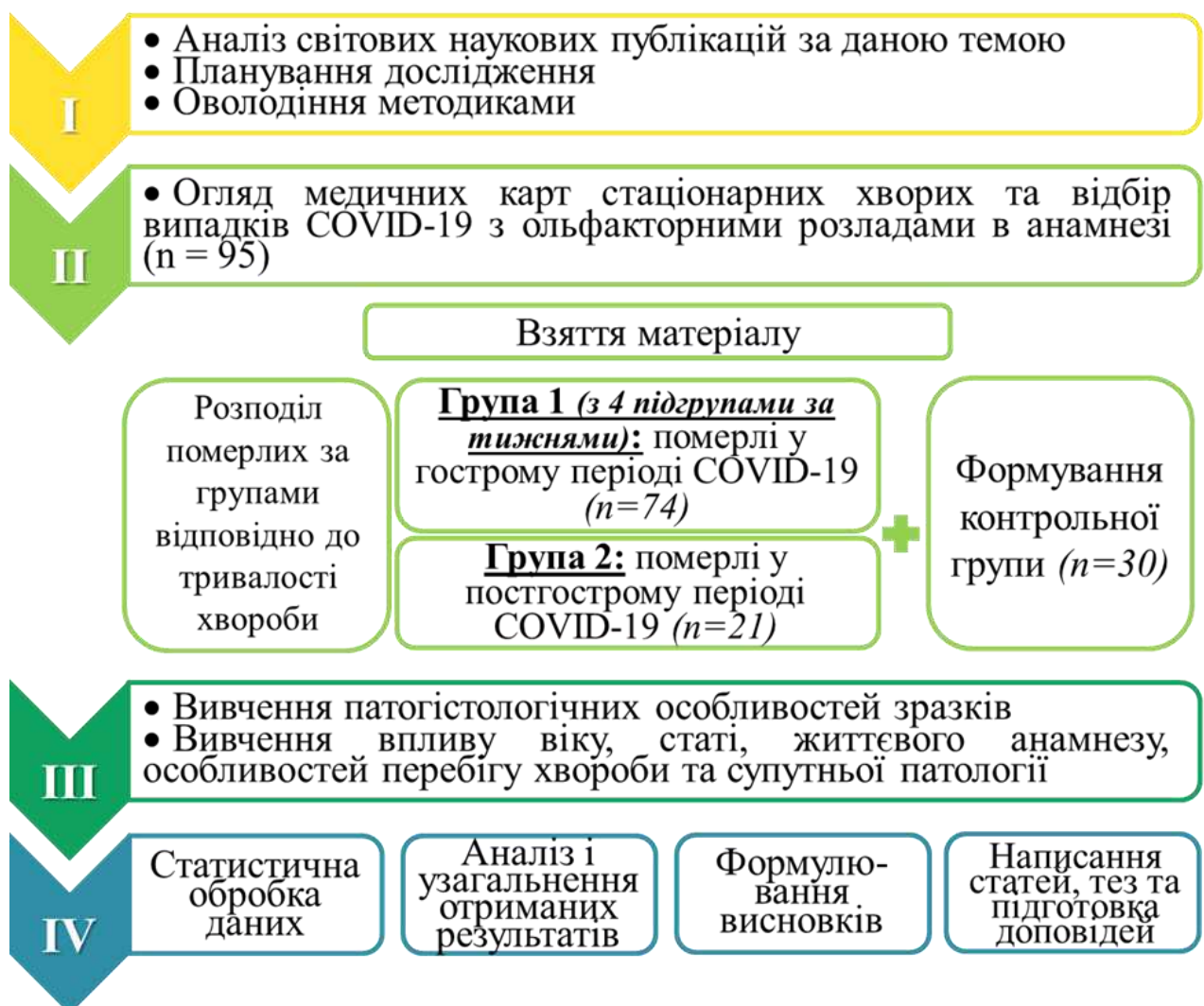


Рисунок 2.1. Дизайн дисертаційного дослідження

## 2.2 Обґрунтування обсягу вибірки

З метою визначення репрезентативності вибіркової сукупності було проведено розрахунок необхідної кількості спостережень за формулою У. Кохрена для відносних величин [157]:

$$n = \frac{N * t^2 * p * q}{N * \Delta^2 + t^2 * p * q}, \text{ де}$$

$n$  – необхідна кількість спостережень;

$N$  – розмір генеральної сукупності;

$\Delta$  – максимальна помилка спостереження;

$t$  – довірчий коефіцієнт, гарантуючий, що помилка, яка допускається, не буде більше  $\Delta$  для ймовірності безпомилкового прогнозу ( $p = 0,95$  при  $t = 1,96$ );

$p$  – відносний показник, що вивчається;

$q$  – альтернативна величина, зворотна до  $p$ .

За даними оперативної інформації про поширення та профілактику коронавірусної хвороби 2019 Міністерства охорони здоров'я України від 07 листопада 2021 року загальна кількість хворих на коронавірусну хворобу 2019 в Україні за весь час від початку пандемії склала 3 075 433 особи [158]. Відповідно до інформації, отриманої у ході світових мета-аналізів, поширеність аносмії при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2 варіює від 15% до 83% [115, 159-167], тому розрахункова середня частота для української популяції становить 49% (1 353 191 особа) – розмір генеральної сукупності ( $N$ ).

У сучасних дослідженнях описано, що у більшості випадків ольфакторні розлади є наслідком впливу вірусу SARS-CoV-2 безпосередньо на структурні елементи ольфакторної системи [159-160, 165], але за деякими літературними даними [161, 163, 165-167] такі розлади можуть бути обумовлені запальними змінами слизової оболонки носової порожнини, а частота виявлення гіпосмії або аносмії у сполученні з назальною обструкцією та ринореєю у хворих на коронавірусну хворобу 2019 варіювала від 40% до 48%, тому нами було

обчислено середню величину – 44%. Це значення було використано для розрахунку необхідного мінімального розміру вибірки.

Використовуючи значення змінних ( $p = 44\%$ ;  $q = 100\% - 44\% = 56\%$ ,  $t = 1,96$  (при довірчій імовірності  $p = 0,95$ ),  $\Delta = 10\%$ ), був проведений розрахунок необхідного мінімального розміру вибірки:

$$n = \frac{1\,353\,191 * 1,96^2 * 44 * 56}{1\,353\,191 * 10^2 + 1,96^2 * 44 * 56} = 94,6 \approx 95 \text{ (осіб)}$$

Отже, мінімальний обсяг вибірки повинен складати 95 осіб.

### 2.3 Загальна характеристика померлих, відібраних для дослідження, та сформованих груп

Досліджено тканини структур периферичної ланки ольфакторної системи (ольфакторний епітелій та ольфакторні цибулини) 102 померлих з аносмією чи гіпосмією в анамнезі у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19, які померли у 2020-2021 рр. та мали встановлений клінічний та / або патологоанатомічний діагноз «Коронавірусна хвороба (COVID-19)», підтверджений лабораторно (якісне виявлення РНК вірусу SARS-CoV-2 методом ПЛР), при чому на підготовчому етапі було виключено 7 померлих у зв'язку з наявністю супутньої патології, яка могла б бути причиною розвитку ольфакторних розладів, а решта померлих розділені за періодами COVID-19 – гострим та постгострим (рис. 2.2).

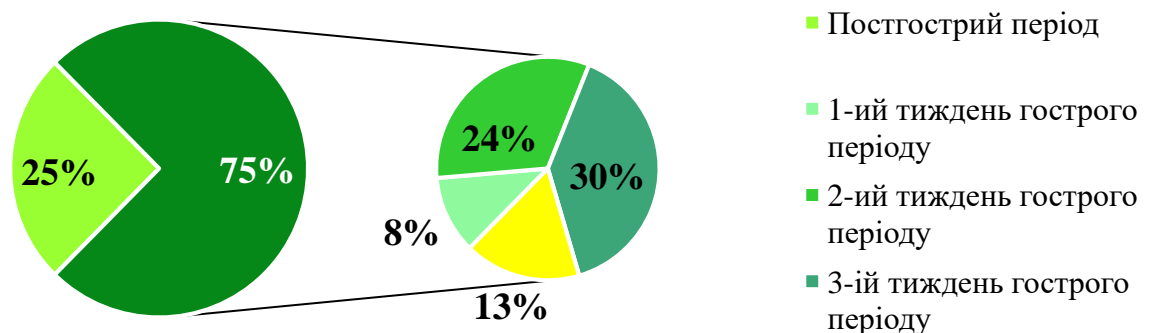


Рис. 2.2. Розподіл померлих з COVID-19 за періодами хвороби

Таким чином, з 95 померлих було сформовано дві основних групи та групу контролю: 1 група (померлі у гострому періоді COVID-19) – 71 померлий (середній вік – 68,7 (32; 91) років, жінок – 30 (42,25 %), чоловіків – 41 (57,75 %)); 2 група (померлі у ранньому постгострому періоді COVID-19) – 24 померлих (середній вік – 64,54 (37; 84) років, жінок – 13 (54,17 %), чоловіків – 11 (45,83 %)); група контролю – 30 померлих (середній вік – 66,8 (42; 84) років, жінок – 13 (43,33 %), чоловіків – 17 (56,67 %)) (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

**Демографічні та анамнестичні показники померлих з груп дослідження**

<b>Характеристика</b>	<b>Група 1</b>	<b>Група 2</b>	<b>Група контролю</b>	<b>p</b>
Загальна кількість, n (%)	71 (74,74)	24 (25,26)	30	-
<b>Стать, n (%)</b>				
жінки	30 (42,25)	13 (54,17)	13 (43,33)	0,827
чоловіки	41 (57,75)	11 (45,83)	17 (56,67)	
<b>Вікова характеристика, Me (Q1; Q3)</b>				
Середній вік, роки	68,70 (32; 91)	64,54 (37; 84)	66,80 (42; 84)	0,781
<b>Характеристика перебігу захворювання</b>				
Середня тривалість, доби, M (SD)	15,61 (6,09)	38,64 (6,87)	-	-
Ольфакторні розлади	+	+	-	-

З метою встановлення залежності між наявністю або відсутністю патологічних змін у структурних елементах ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини та ольфакторних цибулин, їх характером та особливостями відповідно до тривалості хвороби (у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19), з урахуванням вікової категорії та

статі, усі групи та підгрупи померлих були співставлені за віком та статтю (рис. 2.3, рис. 2.4).

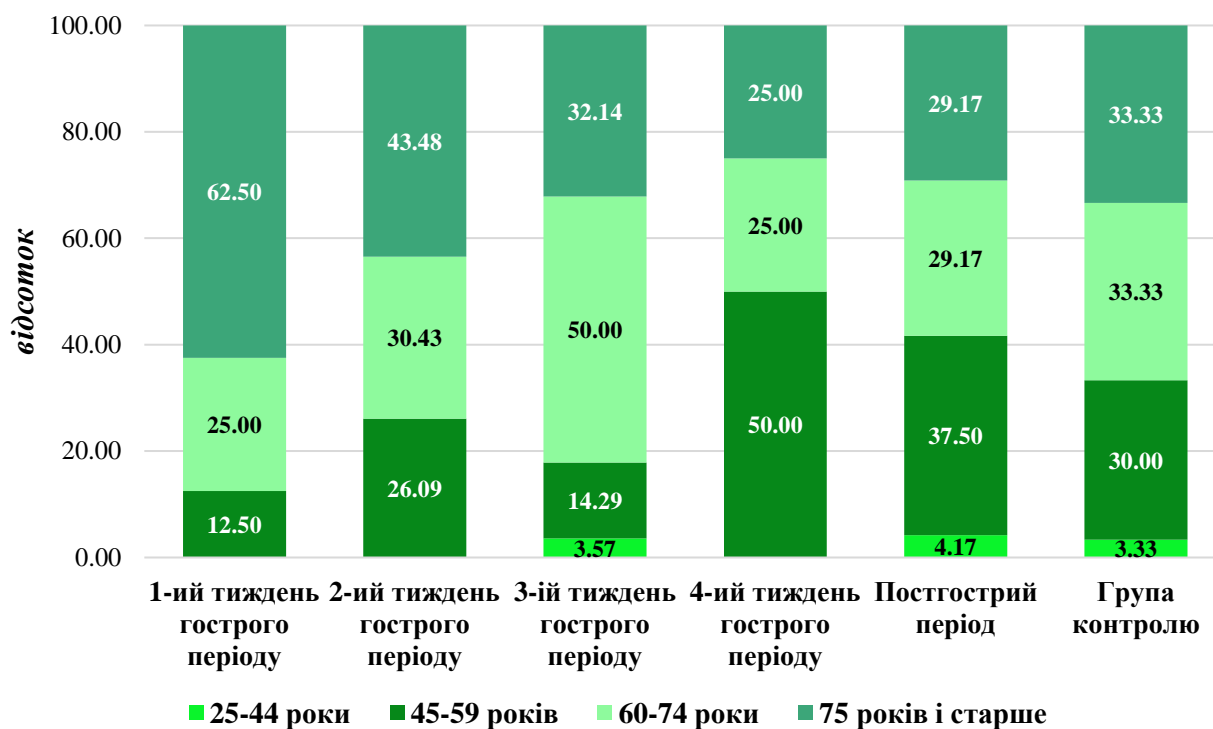


Рис. 2.3. Розподіл підгруп померлих з COVID-19 та групи контролю за віком

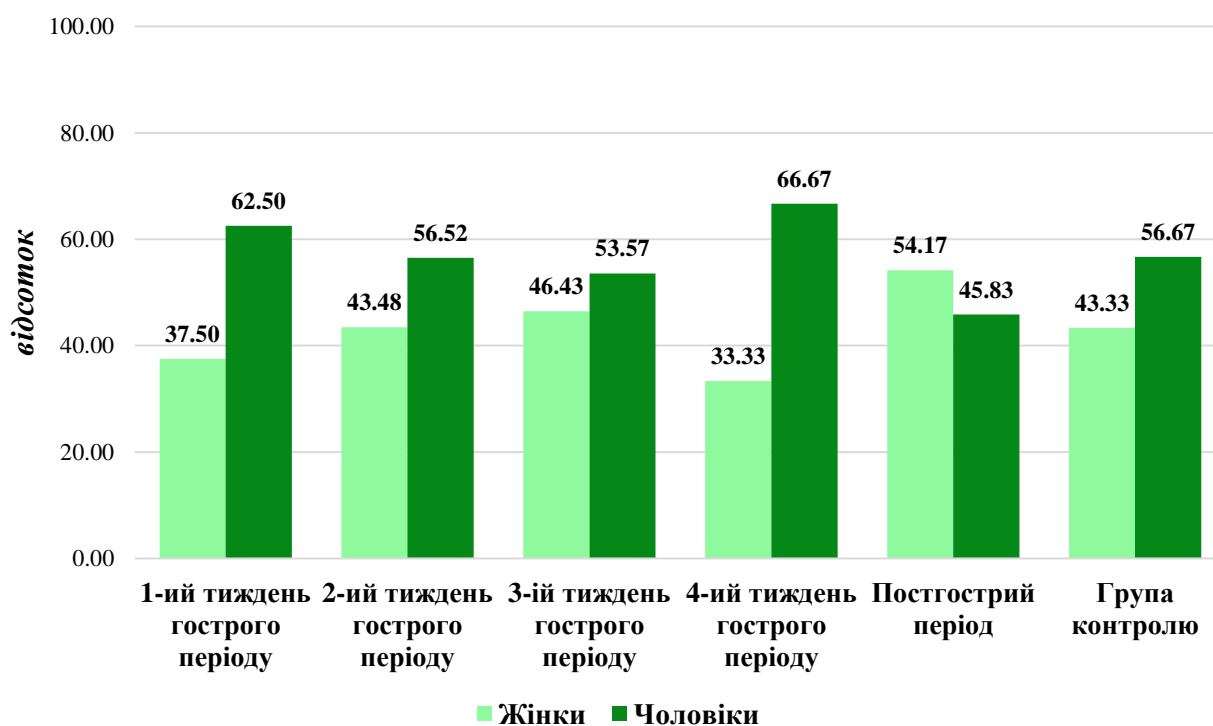


Рис. 2.4. Розподіл підгруп померлих з COVID-19 та групи контролю за статтю

Оскільки кількість померлих у гострому періоді COVID-19 суттєво відрізнялася від кількості померлих у ранньому постгострому періоді, а гістологічні зразки демонстрували варіативні мікроскопічні зміни, досліджувані групи 1 були розподілені на чотири підгрупи залежно від тривалості гострого періоду (підгрупа А – перший тиждень гострого періоду (8 померлих (11,27 %)), підгрупа Б – другий тиждень (23 померлих (32,39 %)), підгрупа В – третій тиждень (28 померлих (39,44 %)), підгрупа Г – четвертий тиждень (12 померлих (16,90 %))) з урахуванням віку та статі (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

**Демографічні та анамнестичні показники померлих у гострому періоді  
COVID-19 відповідно до підгрупи дослідження**

<b>Характеристика</b>	<b>Підгрупа А</b>	<b>Підгрупа Б</b>	<b>Підгрупа В</b>	<b>Підгрупа Г</b>	<b>р</b>
Загальна кількість, n (%)	8 (11,27)	23 (32,39)	28 (39,44)	12 (16,90)	-
<b>Стать, n (%)</b>					
жінки	3 (37,50)	10 (43,48)	13 (46,43)	4 (33,33)	0,785
чоловіки	5 (62,50)	13 (56,52)	15 (53,57)	8 (66,67)	
<b>Вікова характеристика, Me (Q1; Q3)</b>					
Середній вік, роки	74,63 (53; 84)	69,30 (52; 86)	68,21 (32; 91)	64,75 (49; 82)	0,581
<b>Характеристика перебігу захворювання</b>					
Середня тривалість, доби, M (SD)	6,13 (0,83)	11,39 (2,06)	17,75 (2,27)	25,00 (2,04)	-
Ольфакторні розлади	+	+	+	+	-

Для встановлення залежності між вираженістю патологічних змін у структурних елементах ольфакторного епітелію та ольфакторних цибулин та супутніми хворобами, які мали померлі, при дослідженні померлих з COVID-19

та померлих групи контролю було враховано характер супутньої патології (рис. 2.5).

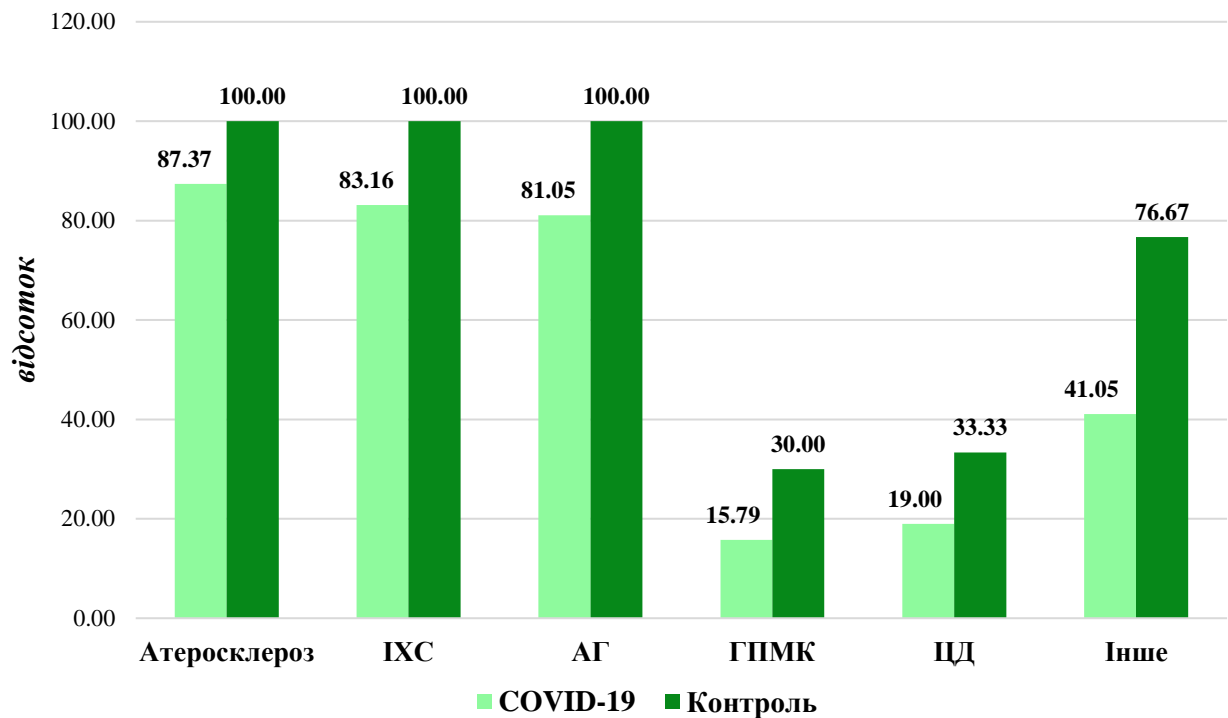


Рис. 2.5. Розподіл супутньої патології у померлих з COVID-19 та групи контролю

## 2.4 Методи дослідження

Згідно з поставленою метою та окресленими задачами дослідження було використано клінічні, морфометричні, гістологічні, імуногістохімічні методи та статистичний аналіз отриманих результатів.

*Клінічні методи.* Аналіз анамнестичних даних включав визначення періоду COVID-19 (з урахуванням даних ПЛР-дослідження), наявності чи відсутності ольфакторних розладів різного ступеня вираженості (гіпосмії або аносмії) під час розвитку хвороби, наявності супутньої патології та її характеру.

Біологічний матеріал для дослідження забирався під час аутопсії шляхом кутового розпилу черепа з доступом до його порожнини, відокремленням від лобових часток головного мозку та взяттям ольфакторних цибулин та

розкриттям верхніх відділів носової порожнини через комірки решітчастої кістки у ділянці півнячого гребня з наступним відшаруванням ольфакторної ділянки слизової оболонки (рис. 2.6).

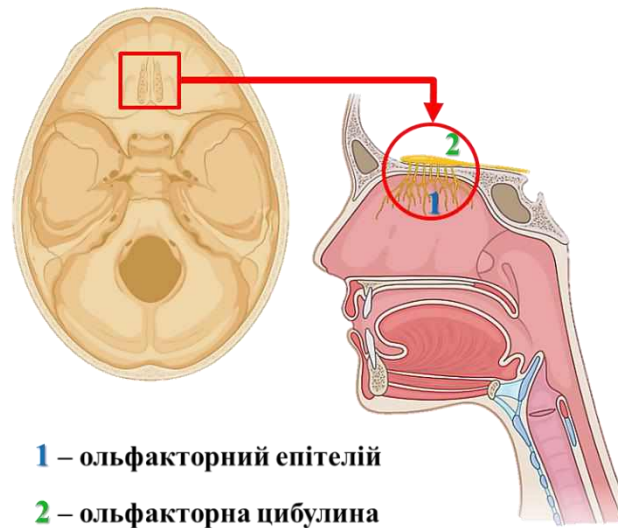


Рис. 2.6. Особливості доступу для взяття елементів периферичної ланки ольфакторної системи при розтині померлого

П р и м і т к а. Ілюстрація створена за допомогою графічних елементів безкоштовної версії програми BioRender

*Морфометричні методи.* Для морфометричних методів використовувалась камера мікроскопу Zeiss Primo Star – AxioCam ERC 5s з ліцензованим програмним забезпеченням ZEN 2 blue edition. Серед отриманих полів зору було відібрано найбільш інформативні та зафіксовано їх у форматі .jpg. Цифрові зображення було оброблено у програмі ImageJ з визначенням кількості клітин з експресією досліджуваних ПГХ-маркерів у 1 мм довжини епітеліального шару, висоти епітеліального шару у  $\mu\text{m}$  та показника експресії імуногістохімічних маркерів у нейронах ольфакторних цибулин у відсотках.

*Гістологічні методи.* Для виготовлення гістологічних препаратів для морфологічного дослідження з попередньо охолоджених парафінових блоків на мікротомі Microm HM-340 було зроблено зрізи товщиною 4  $\mu\text{m}$ , розташовано їх на предметних скельцях та висушено з метою збільшення адгезії зі скельцями.

Наступні етапи включали депарафінізацію зразків в ортоксилолі, регідратацію у батареї спиртів та забарвлення гематоксилином та еозином за стандартною методикою [168]. Мікроскопічне дослідження готових препаратів виконувалось за допомогою світлового мікроскопа Zeiss Primo Star з використанням об'єктивів  $\times 20$ ,  $\times 40$ ,  $\times 63$ ,  $\times 100$ .

*Імуногістохімічні методи.* Імуногістохімічне дослідження виконувалось згідно з протоколами компаній RnDsystems (США) та ThermoScientific (США) з антитілами до ольфакторного маркерного протеїну (OMP), ангіотензин-перетворюючого ензиму-2 (АСЕ-2), нейроспецифічного бета-ІІІ тубуліну (клон TuJ-1) та трансмембранної серинової протеази-2 (TMPRSS2). Парафінові зрізи ольфакторної слизової оболонки носової порожнини та ольфакторних цибулин, які мали товщину 4 мкм, було розташовано на спеціальних адгезивних предметних скельцях SuperFrost Plus. Після депарафінізації та регідратації даних зрізів було проведено епітопне повернення антигенів та пригнічення ендогенної пероксидази. Інкубацію зрізів з первинними антитілами у вологій камері при температурі 23 – 25 °С проводилось упродовж 30 хвилин. Утворений білковий ланцюг візуалізувався за допомогою хромогену DAB (3,3'-діамінобензидин). Для кожного маркера виконувалось контрольне дослідження з метою виключення хибно позитивного та хибно негативного результатів. У якості позитивного контролю паралельно забарвлювалися зрізи ольфакторної слизової оболонки носової порожнини та ольфакторних цибулин, у яких досліджуваний антиген був присутній у достатній мірі (матеріал групи контролю з виключеними ольфакторними розладами та інфікуванням вірусом SARS-CoV-2). Для негативного контролю на одному зі зрізів кожного зразка було виключено інкубацію з первинним антитілом. Диференційоване фарбування окремих елементів тканини само собою слугувало внутрішнім контролем (наприклад, негативна реакція сполучної тканини та судин при позитивній реакції нервових волокон). Оцінювання позитивних статусів за експресією маркерів проводилось за рекомендаціями провідних фахівців, освітлених у сучасних світових наукових джерелах (табл. 2.3) [169-170].

Таблиця 2.3

**Основні характеристики антитіл, які було використано у дослідженні**

<b>Антитіло</b>	<b>Розведення</b>	<b>Локалізація специфічної реакції</b>
<i>OMP</i>	1:100	Цитоплазма
<i>TuJ-1</i>	1:100	Цитоплазма
<i>ACE-2</i>	1:300	Цитоплазма+мембрана
<i>TMPRSS2</i>	1:50	Цитоплазма+мембрана

*Статистичний аналіз отриманих результатів.* Статистичну обробку матеріалів дослідження проводили за допомогою персонального комп'ютера з використанням програмного продукту STATISTICA 6.1 (StatSoft Inc., серійний №AGAR909E415822FA) та Microsoft Excel 365 (<https://www.microsoft.com/microsoft-365/free-office-online-for-the-web>).

Визначення репрезентативного обсягу групи контролю проводили за формулою У. Кохрена [171].

Перевірка нормального розподілу кількісних показників проводили з використанням критерію Шапіро-Уїлка. Основні статистичні характеристики включали: кількість спостережень (n), середню арифметичну (M), медіану (Me), стандартне відхилення (SD), верхні та нижні квантілі (25%; 75%), 95% довірчий інтервал (95% ДІ).

Визначення вірогідності відмінностей середніх величин при наявності нормального розподілу проводилося з урахуванням однорідності дисперсій (критерій Фішера) за критерієм Стьюдента для непов'язаних (t) та пов'язаних вибірок (T).

Для порівняння кількісних ознак у пов'язаних вибірках з ненормальним розподілом використовувався критерій Вілкоксона (W), у непов'язаних вибірках – критерій Манна-Уїтні (U). Для непов'язаних вибірок з якісними ознаками використовували критерій відповідності  $\chi^2$  (Хі-квадрат) Пірсона.

При множинних порівняннях використовувалися поправки Бонфероні (Bonferroni).

Для аналізу взаємозв'язків між ознаками використовували кореляційний аналіз з розрахунком коефіцієнтів рангової кореляції Спірмена ( $r_s$ ) для обчислення міри зв'язку між ознаками, заданими в якісному вигляді та для кількісних ознак з асиметричним розподілом або лінійної кореляції Пірсона ( $r$ ) для кількісних ознак з нормальним розподіленням.

Різницю між порівнюваними величинами вважали достовірною при  $p < 0,05$ , тенденцію змін вказували в діапазоні  $0,050 < p < 0,100$  [172].

Отже, описані у даному розділі матеріали та методи дослідження є послідовними етапами у вирішенні поставлених задач та дозволяють здійснити комплексний підхід до покращення діагностики морфологічних змін елементів периферичної ланки ольфакторної системи при COVID-19.

## РОЗДІЛ 3

### **МОРФОЛОГІЧНІ, МОРФОМЕТРИЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННИХ ЕЛЕМЕНТІВ ОЛЬФАКТОРНОГО ЕПІТЕЛІЮ ПРИ COVID-19**

За літературними даними ольфакторні розлади у хворих на COVID-19 можуть бути обумовлені пошкодженням різних компонентів периферичної та центральної ланок ольфакторної системи: ольфакторних рецепторних клітин або сустантакулярних клітин ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини, нейронів ольфакторних цибулин, нейронів ольфакторної кори. Відкритим залишається питання щодо ключової ролі тих чи інших структурних елементів даної сенсорної системи у розвитку гіпосмії, аносмії чи дизосмії, тривалості та оборотності цих симптомів, тому першим кроком у розкритті даного питання стало вивчення патогістологічних та імуноморфологічних особливостей клітин ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини [173-174].

#### **3.1 Гістологічні особливості ольфакторної ділянки слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини при COVID-19**

Мікроскопічне дослідження зрізів ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини при фарбуванні зразків гематоксиліном та еозином показало, що патологічні зміни у цьому відділі ольфакторної системи мають як загальні ознаки альтеративно-запального процесу, так і специфічні особливості, характерні для гострих вірусних інфекційних хвороб верхніх дихальних шляхів.

У більшості зразків ( $n = 56$ ), відібраних у померлих у гострому періоді COVID-19 виявлялися ознаки комплексної місцевої судинно-мезенхімальної реакції з розширенням дрібних судин слизової оболонки та підслизового шару (переважно артеріальних) та їх підвищенням кровонаповненням, у посткапілярах

та венулах – ознаки стазу, подекуди з тромбоутворенням, у просвітах судин – крайове стояння лейкоцитарних клітин, лейкодіapedез та еритродіapedез з накопиченням формених елементів крові у стромі навколо кровоносних судин і утворенням клітинних інфільтратів та вогнищевих периваскулярних крововиливів. Тож у стромальному компоненті слизової оболонки та підслизового шару визначалися різного об'єму та щільності скупчення мононуклеарних клітин (лімфоцитів, моноцитів, гістіоцитів) з домішкою плазмоцитів та сегментоядерних клітин (рис. 3.1).

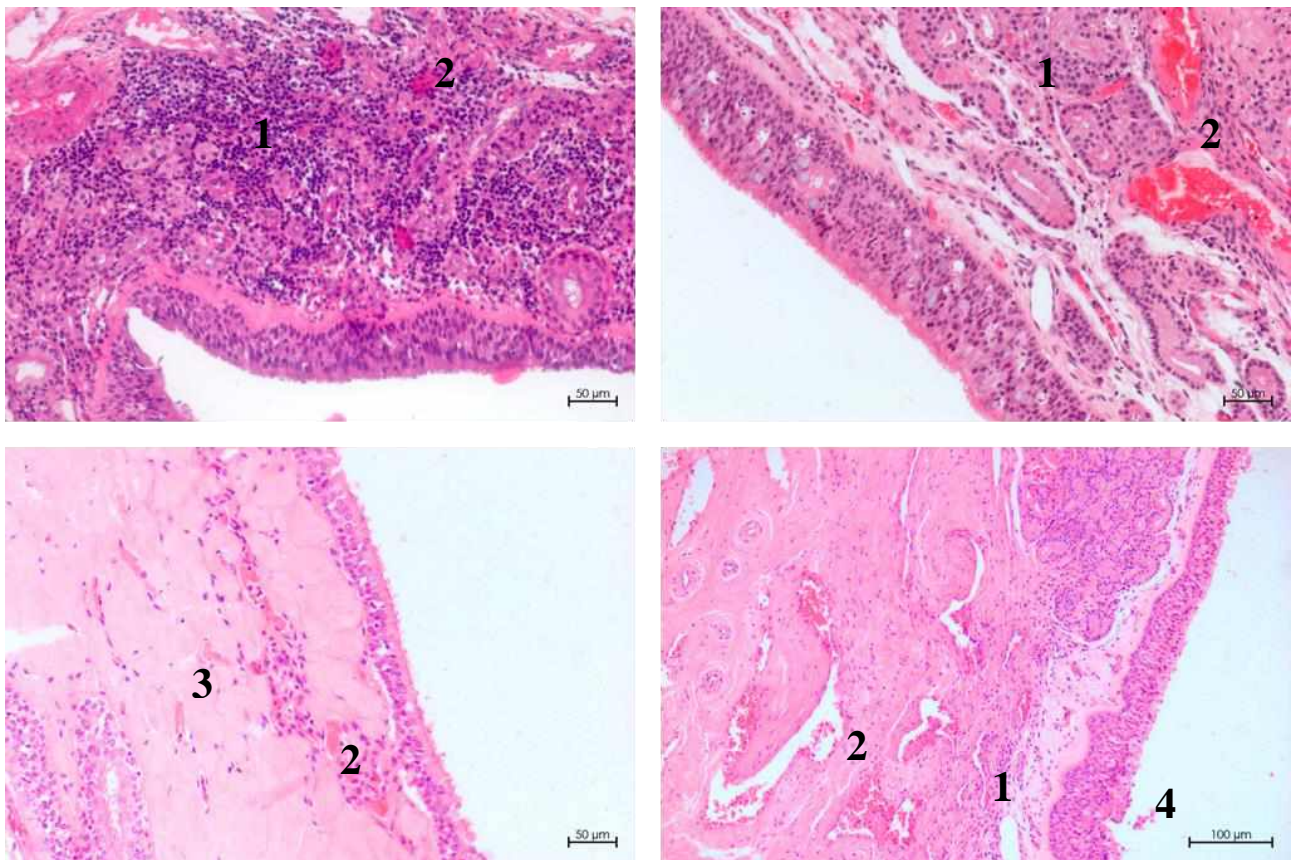


Рис. 3.1. Патогістологічні особливості стану структурних елементів ольфакторної ділянки слизової оболонки носової порожнини при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2, Г+Е, збільшення  $\times 200$  та  $\times 100$ :

- 1 – лімфоцитарно-моноцитарна інфільтрація слизової оболонки та підслизового шару;
- 2 – гіперемія судин слизової оболонки та підслизового шару;
- 3 – набряк стромального компоненту;
- 4 – вогнищева десквамація епітеліальних клітин

Варто відмітити, що підслизовий шар був потовщений за рахунок набряку з розширенням волокнистих елементів, а подекуди – їх гомогенізацією та злиттям у єдиний білково-полісахаридний комплекс. У клітинах епітеліального шару – явища білкової дистрофії, вогнищевої деструкції поодиноких епітеліальних клітин та їх десквамації.

Зі збільшенням тривалості COVID-19 яскравість гострого альтеративно-запального процесу згасала. Натомість у зразках ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини померлих у третій-четвертий тижні гострого періоду хвороби переважали ознаки проліферативної фази запалення: домінування у клітинних інфільтратах моноцитів, плазматичних клітин, гістіоцитів з наявністю поодиноких макрофагів, більший об'єм стромального волокнистого компоненту та міжклітинної речовини сполучної тканини, проліферація епітеліальних клітин з утворенням поліпоподібних розростань, зменшення вираженості набряку та зниження кровонаповнення судин з нормалізацією їх діаметру.

У більшості зразків ( $n = 31$ ) ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 морфологічні ознаки альтеративно-запального процесу не спостерігалися, проте у 12 випадках були наявні патологічні зміни, які свідчать про попередню реструктуризацію даної ділянки під впливом зовнішніх та внутрішніх чинників. Ці зміни детально описані у розділі 4 даної дисертаційної роботи.

### **3.2 Характеристика стану ольфакторних рецепторних клітин за допомогою дослідження експресії маркерів OMP та TuJ-1**

При проведенні імуногістохімічного дослідження науковий інтерес викликали результати порівняння антигенних властивостей ольфакторних рецепторних клітин ольфакторної слизової оболонки носової порожнини померлих з різною тривалістю COVID-19 (померлих у різні тижні гострого

періоду та у ранньому постгострому періоді хвороби) з відповідними зразками померлих групи контролю з відсутніми ольфакторними розладами та без інфікування вірусом SARS-CoV-2. На даному етапі дослідження виконувалося за допомогою антитіл до ольфакторного маркерного протеїну (OMP) та нейроспецифічного бета-III тубуліну (TuJ-1), які є специфічними саме для цього типу епітеліальних клітин, тому їх застосування є необхідним для оцінки стану даного компонента ольфакторного епітелію та подальшого більш коректного використання морфометричного методу у роботі.

Для оцінки морфологічної картини, отриманої унаслідок ІГХ-реакції, підраховували середню кількість ольфакторних рецепторних клітин, які мали позитивну реакцію з антитілами до ольфакторного маркерного протеїну (OMP-позитивних), тобто мали коричневий колір після взаємодії з DAB, у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з лабораторно підтвердженим діагнозом «COVID-19» у гострому та ранньому постгострому періодах хвороби (Рис. 3.2, Рис. 3.3) та групі контролю.

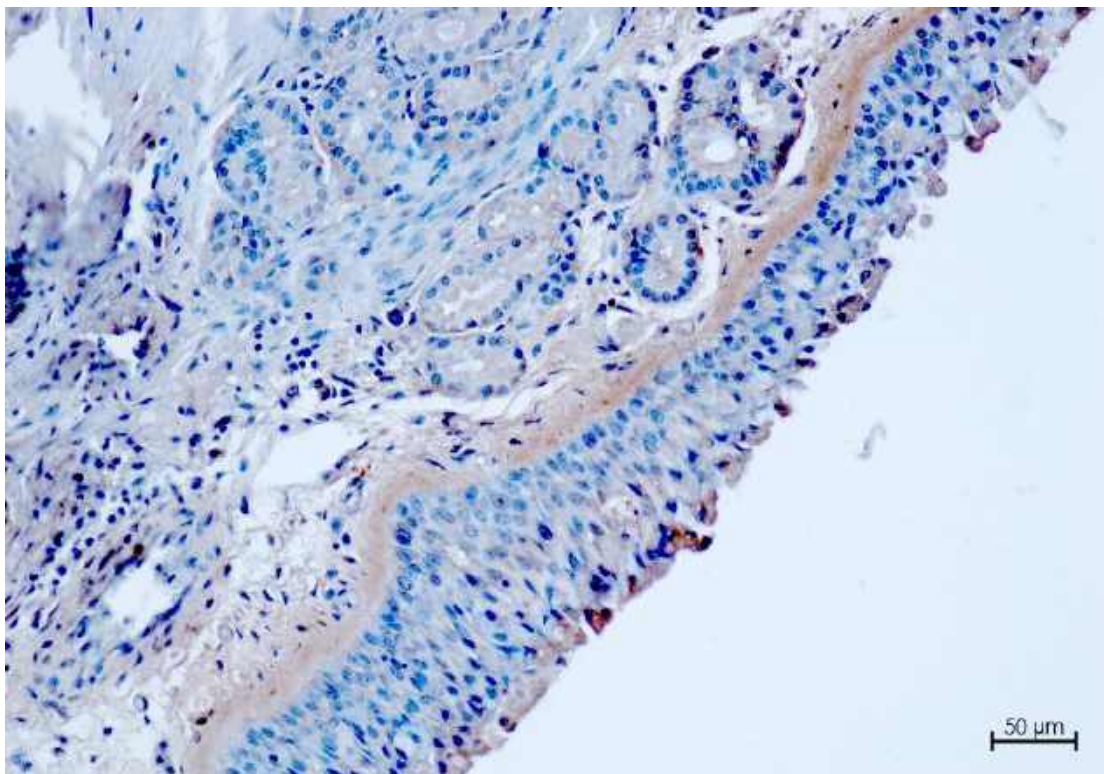


Рис. 3.2. Зріз ольфакторної слизової оболонки померлого з COVID-19 з позитивною реакцією ольфакторних рецепторних клітин з антитілами до OMP (перший тиждень гострого періоду), збільшення  $\times 200$

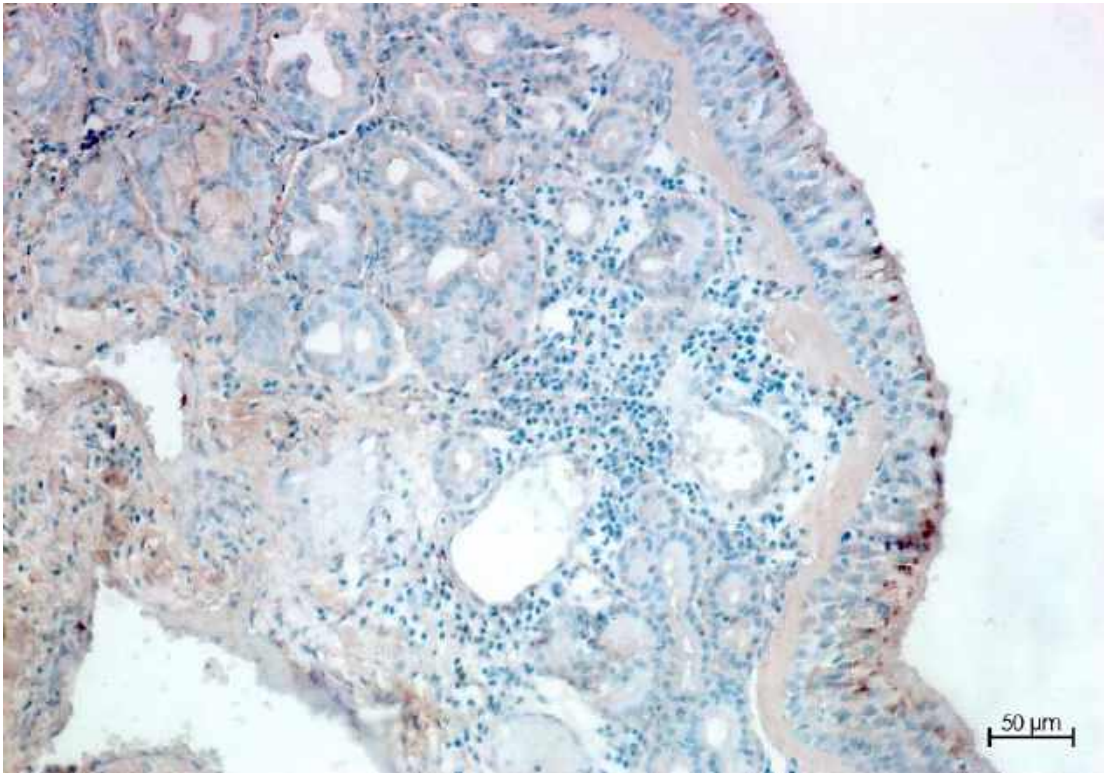


Рис. 3.3. Зріз ольфакторної слизової оболонки померлого з COVID-19 з позитивною реакцією ольфакторних рецепторних клітин з антитілами до ОМР (третій тиждень гострого періоду), збільшення  $\times 200$

У результаті проведеного ІГХ-дослідження середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини суттєво відрізнялася у групах та підгрупах досліджуваних ( $p > 0,100$ ) і поступово збільшувалася відповідно до періоду (табл. 3.1): у перший тиждень гострого періоду даний показник дорівнював 10,69 (7,00; 16,00) клітинам, у другий тиждень гострого періоду – 20,04 (8,50; 33,50) клітинам, у третій тиждень гострого періоду – 34,68 (24,00; 43,00) клітинам, у четвертий тиждень гострого періоду – 53,83 (40,50; 64,50) клітинам, у ранній постгострий період – 68,77 (61,00; 76,50) клітинам, а у групі контролю – 71,37 (60,50; 82,00) клітини. Варто відмітити, що ОМР-позитивні клітини у різних зразках ольфакторної слизової оболонки померлих у гострому періоді COVID-19 локалізувалися як хаотично, дифузно у зрізі ольфакторного епітелію, так і групами вогнищево в окремих випадках, а у матеріалі, взятому у померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19, дані клітини знаходились більш рівномірно та впорядковано в епітеліальному шарі, а отримана морфологічна

картина була подібною до такої при дослідженні зрізів ольфакторного епітелію групи контролю.

Таблиця 3.1

**Середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію залежно від тривалості COVID-19 та у групі контролю**

	Гострий період COVID-19				Пост-гострий період COVID-19	Група контролю	p
	1-ий тиждень	2-ий тиждень	3-ій тиждень	4-ий тиждень			
Середня кількість ОМР-позитивних клітин, Ме (Q1; Q3)	10,69 (7,00; 16,00)	20,04 (8,50; 33,50)	34,68 (24,00; 43,00)	53,83 (40,50; 64,50)	68,77 (61,00; 76,50)	71,37 (60,50; 82,00)	0,158

Також середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 чисельно наближалася, а подекуди – дорівнювала середній кількості цих клітин у матеріалі групи контролю (Рис. 3.4) ( $p < 0,05$ ), окрім випадків з наявними ознаками реструктуризації епітеліального шару ольфакторної слизової оболонки (переважно атрофії та метаплазії одношарового циліндричного ольфакторного епітелію у багат шаровий плоский), імовірно, унаслідок попереднього тривалого впливу зовнішніх (тютюнопаління, пил, біологічні агенти) та внутрішніх (трофічні розлади та хронічне запалення) патогенних чинників (такі зміни детально описані у розділі 4 даної дисертаційної роботи).

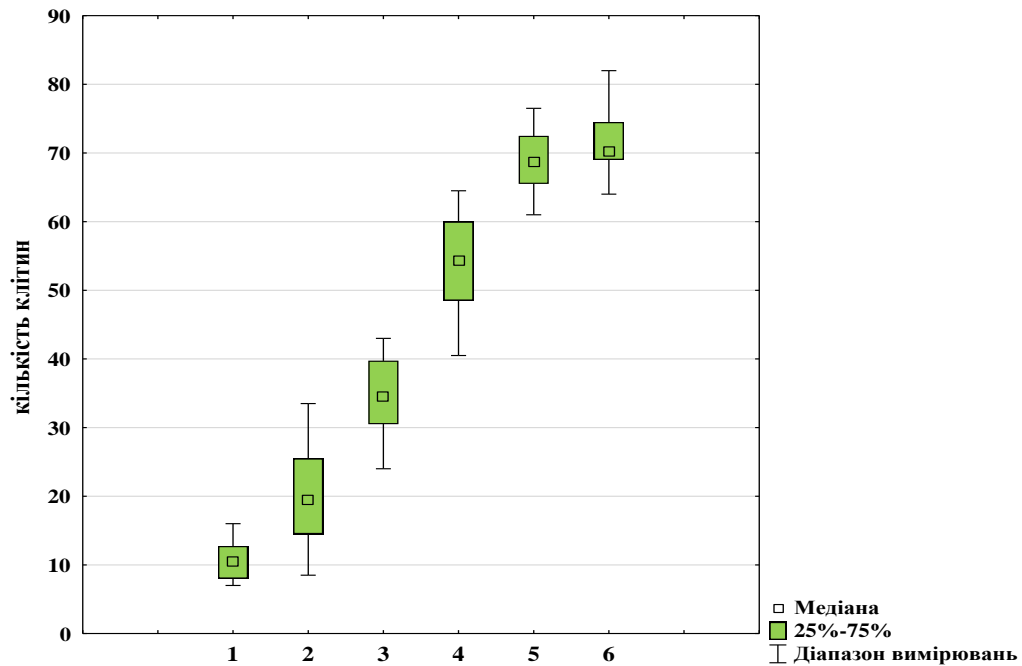


Рис. 3.4. Середня кількість OMP-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 залежно від тривалості хвороби та досліджуваних групи контролю:

- 1 – перший тиждень гострого періоду;
- 2 – другий тиждень гострого періоду;
- 3 – третій тиждень гострого періоду;
- 4 – четвертий тиждень гострого періоду;
- 5 – ранній постгострий період;
- 6 – група контролю

Середня кількість ольфакторних рецепторних клітин, які мали позитивну реакцію з антитілами до нейроспецифічного бета-III тубуліну (TuJ-1-позитивних) у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з лабораторно підтвердженим діагнозом «COVID-19» у гострому та ранньому постгострому періодах хвороби та групі контролю також відрізнялася і поступово збільшувалася відповідно до періоду ( $p > 0,100$ ): перший тиждень гострого періоду – 10,56 (7,50; 17,00) клітин, другий тиждень гострого періоду – 19,54 (9,00; 33,00) клітин, третій тиждень – 34,96 (23,00; 44,50) клітин, четвертий

тиждень – 53,88 (41,50; 63,50) клітин, ранній постгострий період – 68,10 (59,50; 74,50) клітин, група контролю – 71,27 (58,50; 81,50) клітин (Рис. 3.5, Рис. 3.6).

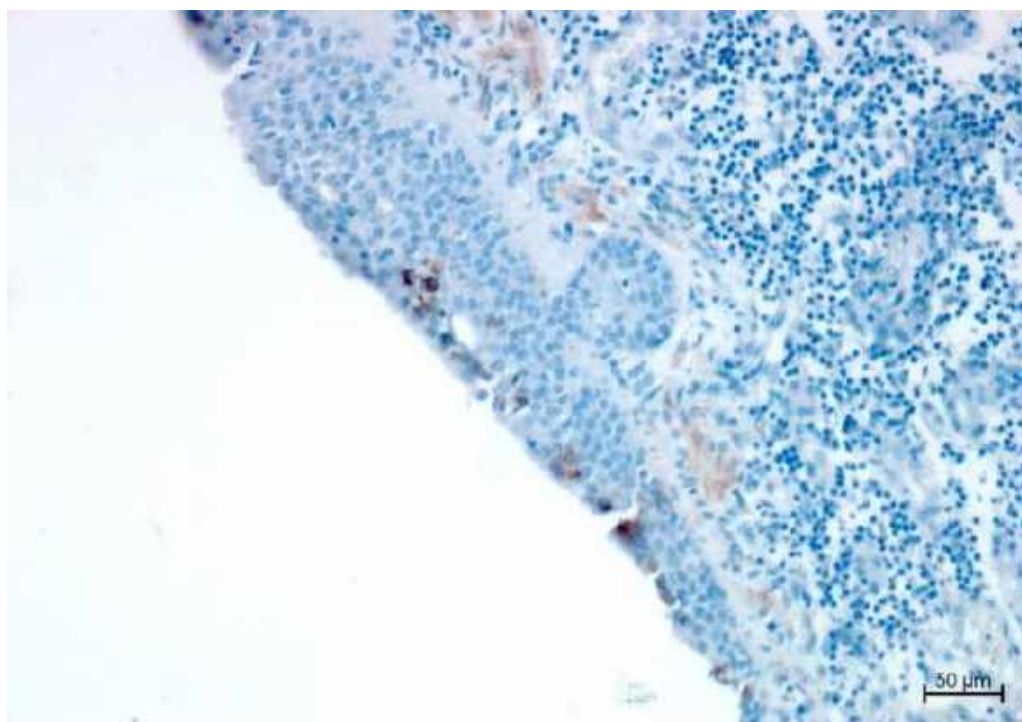


Рис. 3.5. Зріз ольфакторної слизової оболонки померлого з COVID-19 з позитивною реакцією ольфакторних рецепторних клітин з антитілами до TuJ-1 (перший тиждень гострого періоду), збільшення  $\times 200$

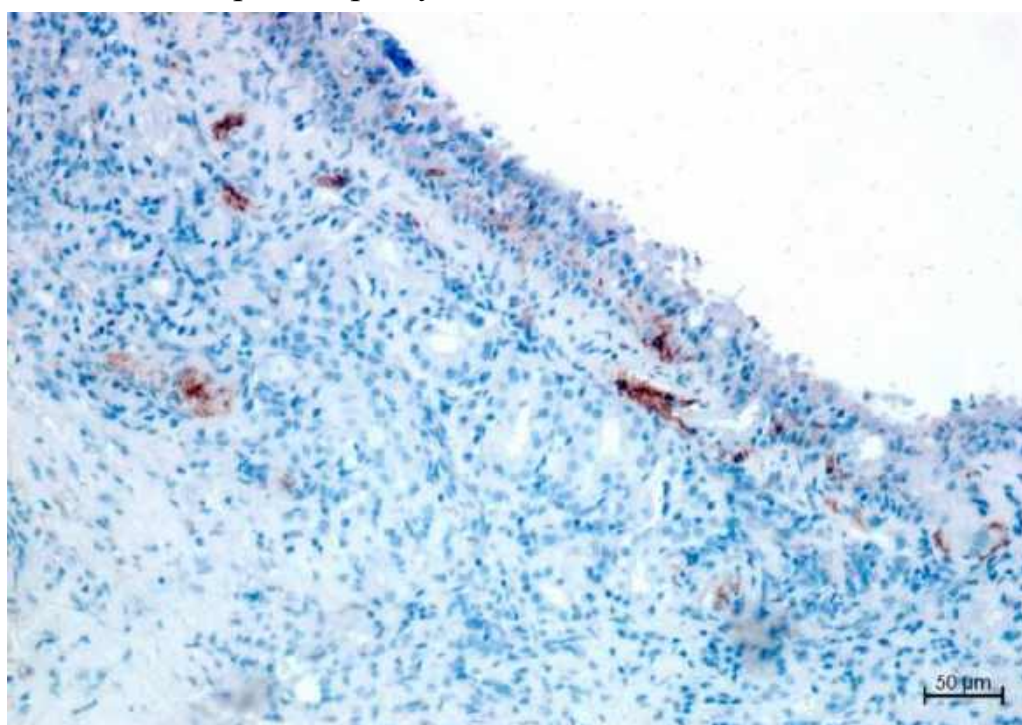


Рис. 3.6. Зріз ольфакторної слизової оболонки померлого з COVID-19 з позитивною реакцією ольфакторних рецепторних клітин з антитілами до TuJ-1 (другий тиждень гострого періоду), збільшення  $\times 200$

Отримані при дослідженні кількісні показники були співставлені та порівняні між собою з урахуванням тривалості COVID-19 (у тому числі кожного окремого тижня гострого періоду), а також з показниками померлих групи контролю (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Середня кількість TuJ-1-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію залежно від тривалості COVID-19 та у групі контролю**

	Гострий період COVID-19				Пост-гострий період COVID-19	Група контролю	p
	1-ий тиждень	2-ий тиждень	3-ій тиждень	4-ий тиждень			
Середня кількість TuJ-1-позитивних клітин, Me (Q1; Q3)	10,56 (7,50; 17,00)	19,54 (9,00; 33,00)	34,96 (23,00; 44,50)	53,88 (41,50; 63,50)	68,10 (59,50; 74,50)	71,27 (58,50; 81,50)	0,158

При порівнянні отриманих у ході морфометричного та ІГХ-дослідження показників встановлено, що середня кількість ольфакторних рецепторних клітин, які мали позитивну реакцію з антитілами до нейроспецифічного бета-III тубуліну (TuJ-1-позитивних) у 1 мм ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини померлих з лабораторно підтвердженим діагнозом «COVID-19» у ранньому постгострому періоді хвороби також чисельно наближалася до середнього показника таких клітин ідентичної ділянки, отриманого при вивченні особливостей матеріалу померлих з групи контролю ( $p < 0,05$ ), тобто без випадків інфікування вірусом SARS-CoV-2 в анамнезі та без

ольфакторних розладів того чи іншого ступеня вираженості при житті досліджуваних (Рис. 3.7).

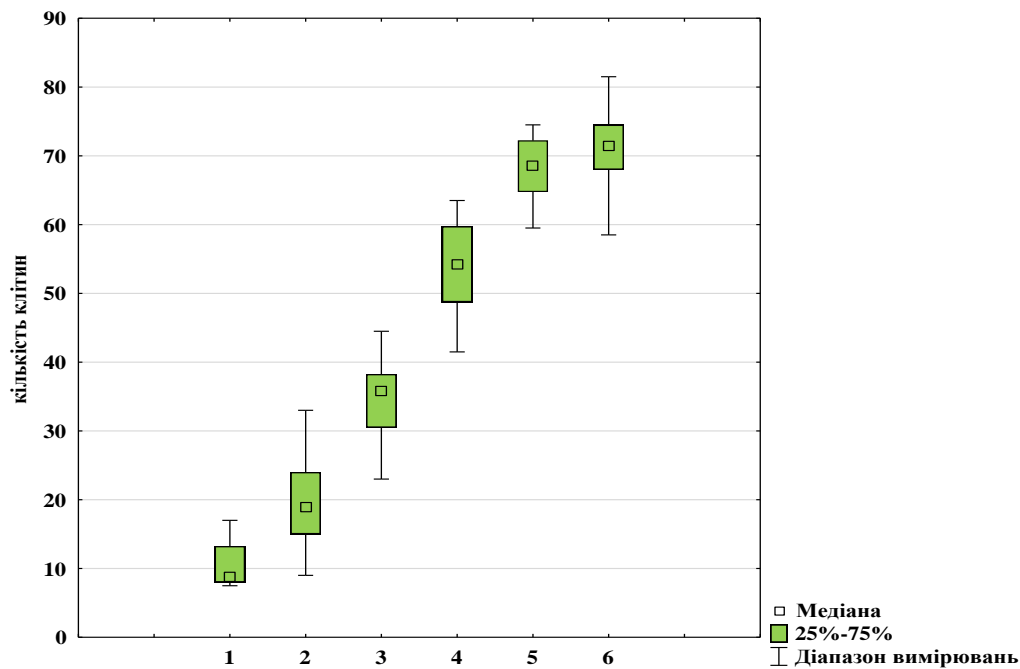


Рис. 3.7. Середня кількість TuJ-1-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 залежно від тривалості хвороби та досліджуваних групи контролю:

- 1 – перший тиждень гострого періоду;
- 2 – другий тиждень гострого періоду;
- 3 – третій тиждень гострого періоду;
- 4 – четвертий тиждень гострого періоду;
- 5 – ранній постгострий період;
- 6 – група контролю

При порівнянні оцінених вище показників у послідовних зрізах тканин встановлено, що середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини корелює з середньою кількістю TuJ-1-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію цієї ж локалізації у відповідних групах досліджуваних як у різні тижні гострого періоду, у ранньому постгострому періоді COVID-19, так і у групі контролю ( $p < 0,05$ ), що дає змогу використовувати маркер TuJ-1 одночасно з маркером ОМР для контролю коректності та забезпечення більш точного

підрахунку кількості функціонуючих ольфакторних рецепторних клітин у досліджуваному матеріалі (Рис. 3.8).

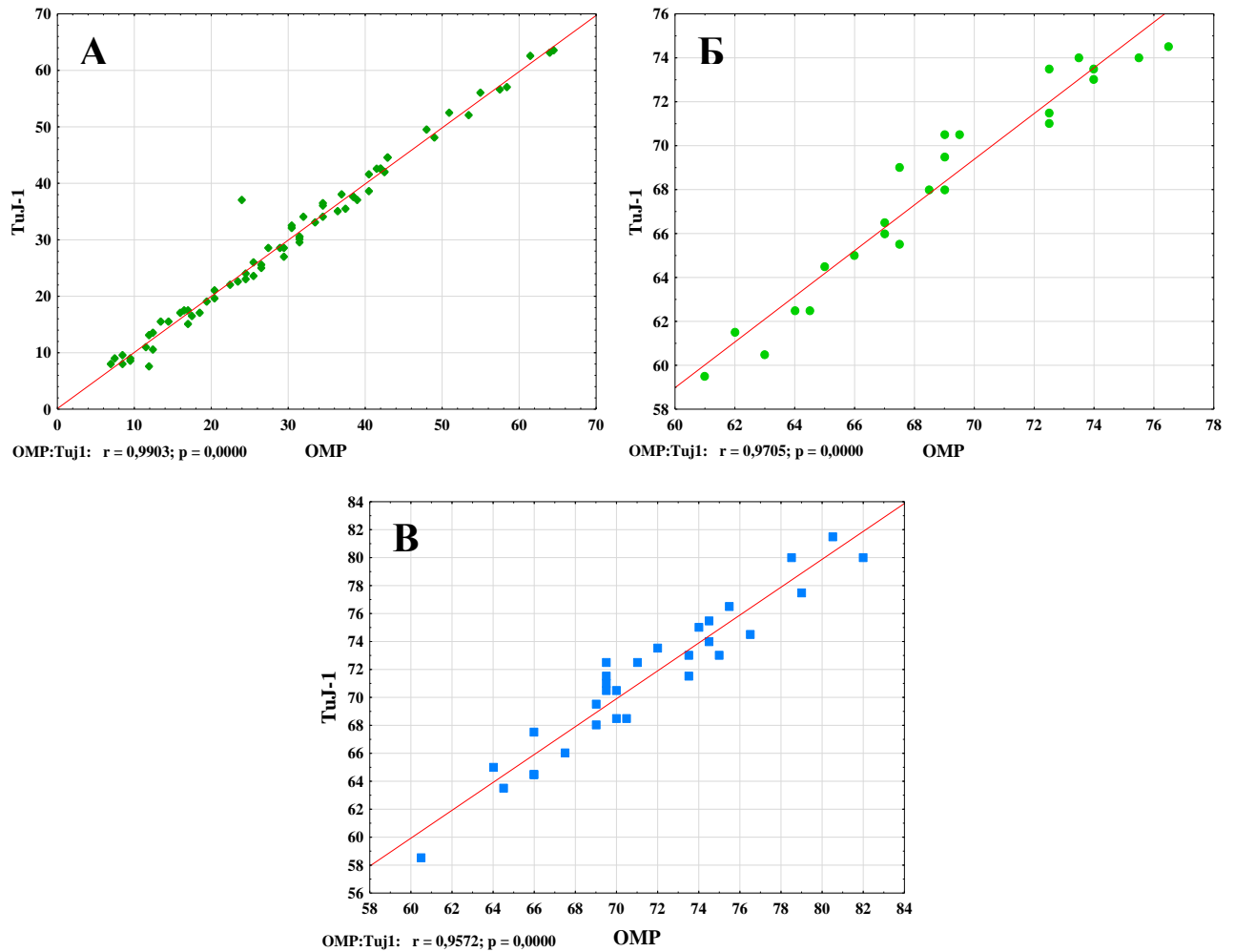


Рис. 3.8. Залежність середньої кількості OMP-позитивних клітин від середньої кількості TuJ-1-позитивних клітин ольфакторного епітелію:

- А – гострий період COVID-19;
- Б – ранній постгострий період COVID-19;
- В – група контролю

Так як у дослідженні використовувався матеріал померлих різних вікових категорій (25-44 роки, 45-59 років, 60-74 роки та старше 75 років), важливим було співставити вік досліджуваного та середню кількість OMP-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини з урахуванням тривалості COVID-19 (гострого чи постгострого періоду) та порівнянням даних з результатами дослідження матеріалу з цієї ділянки померлих групи контролю. При оцінюванні даної

залежності з'ясовано, що середня кількість ОМР-позитивних клітин у померлих у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19 не корелює з віком ( $p > 0,05$ ), але у групі контролю дані параметри корелюють ( $p < 0,05$ ) (Рис. 3.9).

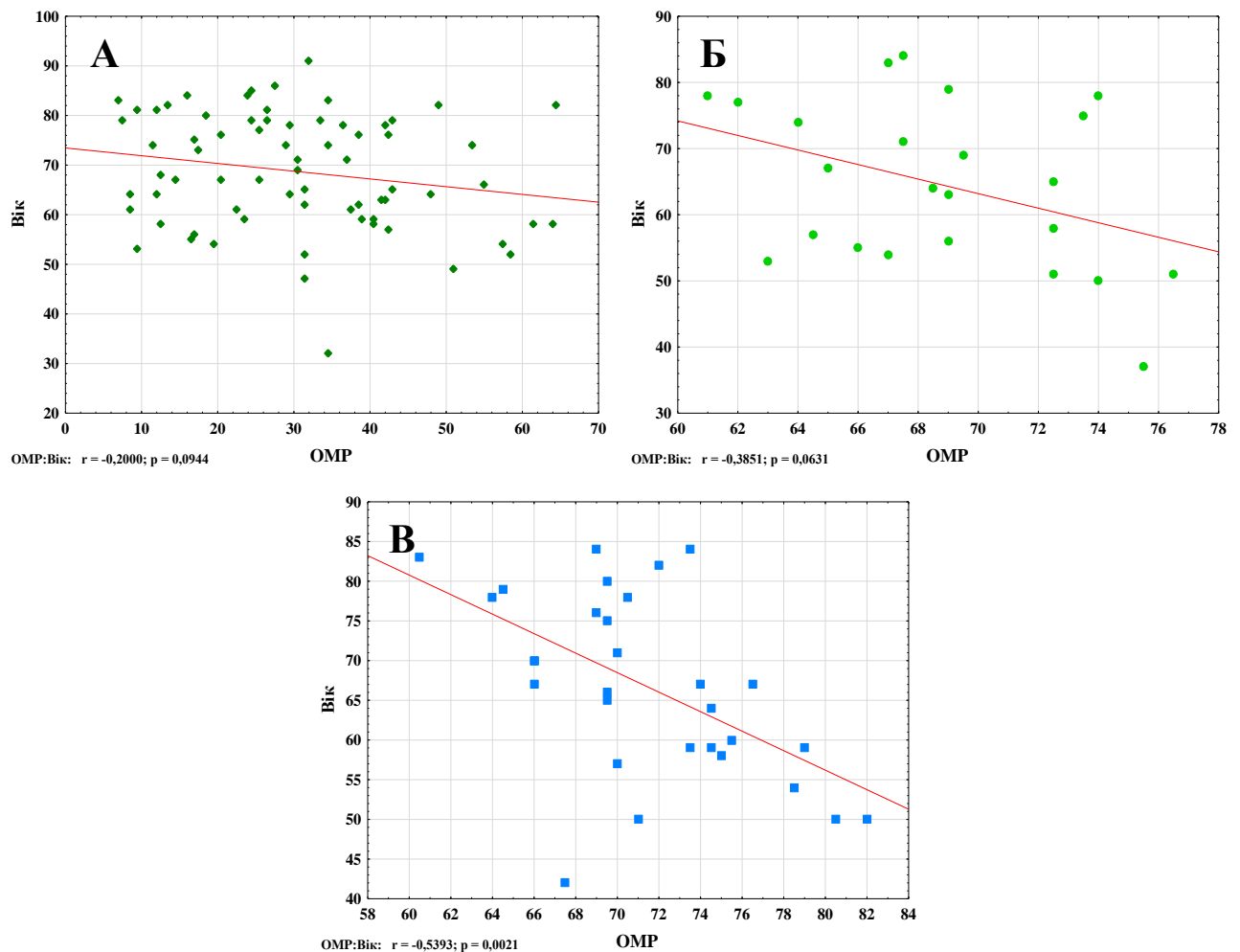


Рис. 3.9. Залежність середньої кількості ОМР-позитивних клітин ольфакторного епітелію від віку досліджуваного:

А – гострий період COVID-19;

Б – ранній постгострий період COVID-19;

В – група контролю

### 3.3 Характеристика стану суспендулярних клітин за допомогою дослідження експресії маркера ACE-2

Також в результаті проведеного ІГХ-дослідження вивчені антигенні властивості суспендулярних клітин ольфакторної слизової оболонки верхніх

відділів носової порожнини померлих у різні тижні гострого періоду COVID-19 (Рис. 3.10, Рис. 3.11).

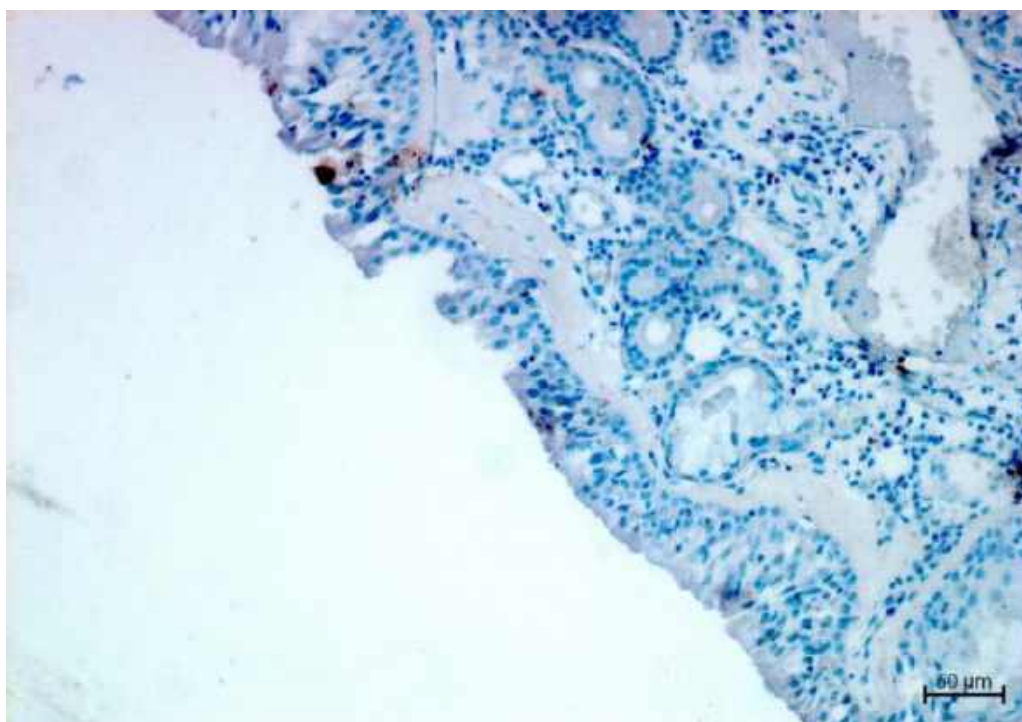


Рис. 3.10. Зріз ольфакторної слизової оболонки померлого у перший тиждень гострого періоду COVID-19 з позитивною реакцією сустантакулярних клітин з антитілами до ACE-2, збільшення  $\times 200$

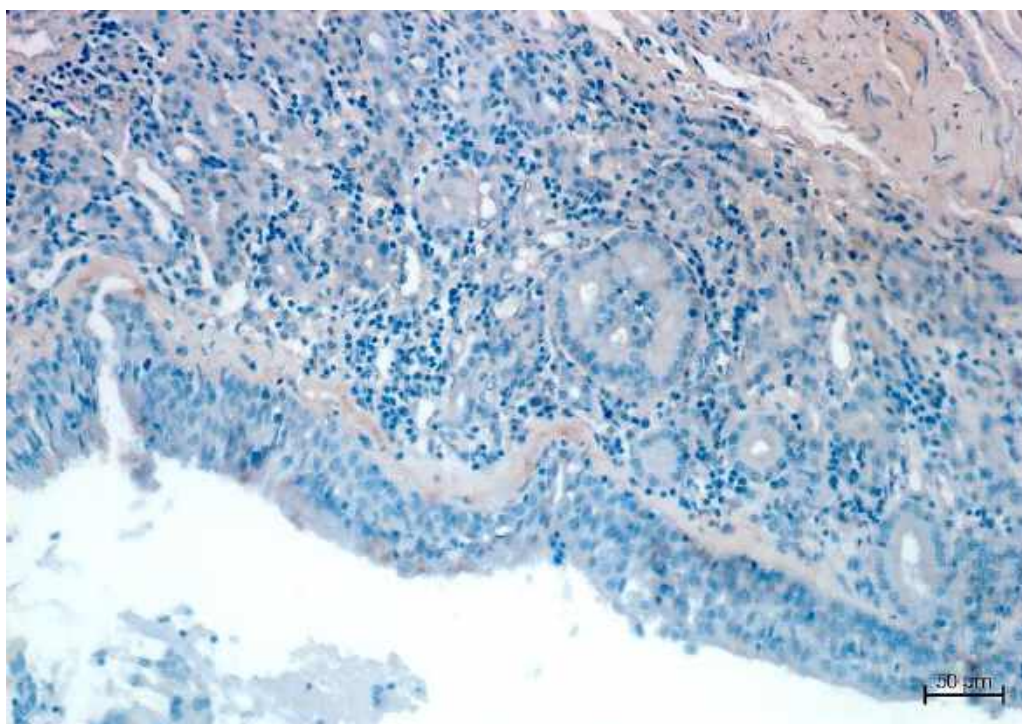


Рис. 3.11. Зріз ольфакторної слизової оболонки померлого у другий тиждень гострого періоду COVID-19 з позитивною реакцією сустантакулярних клітин з антитілами до ACE-2, збільшення  $\times 200$

Одночасно вивчені антигенні властивості суспендуальних клітин ольфакторної слизової оболонки померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19, а отримані кількісні показники порівняні з відповідними зразками померлих групи контролю без COVID-19 та ольфакторних розладів в анамнезі (Рис. 3.12).

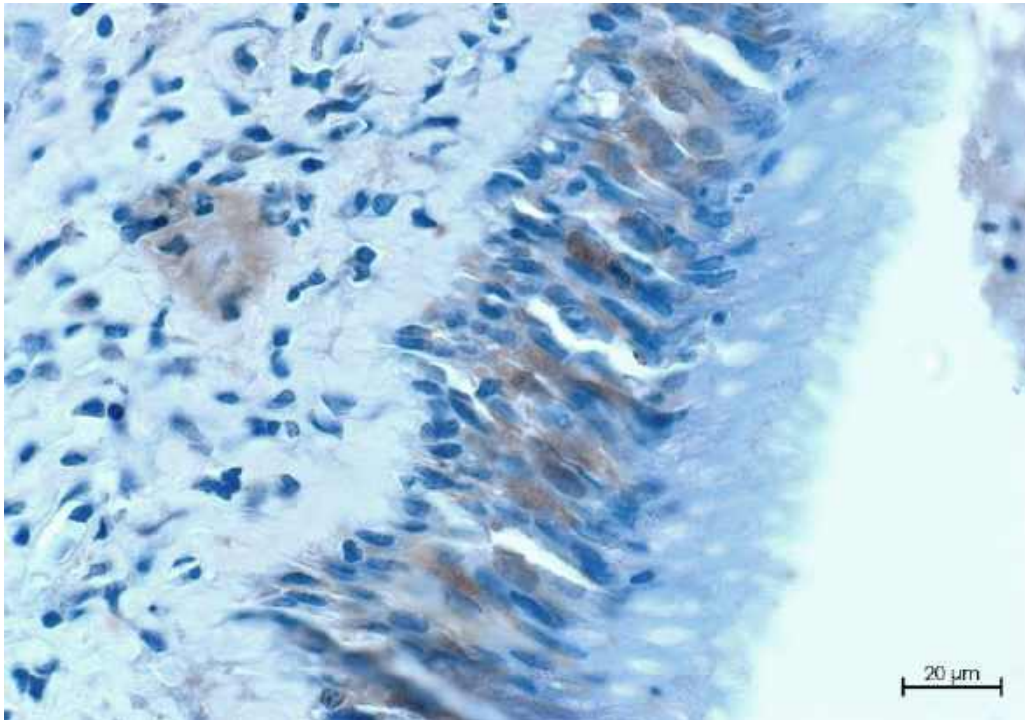


Рис. 3.12. Зріз ольфакторної слизової оболонки померлого у ранньому постгострому періоді COVID-19 з позитивною реакцією суспендуальних клітин з антитілами до АСЕ-2, збільшення  $\times 630$

У ході морфометричного та ІГХ-дослідження зрізів ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини також було підраховано середню кількість суспендуальних клітин з позитивною реакцією з антитілами до ангіотензин-перетворюючого ензиму-2 (АСЕ-2-позитивних клітин) у 1 мм епітеліального шару слизової оболонки померлих з різною тривалістю COVID-19.

Отримані показники у гострому та ранньому постгострому періодах та групі контролю суттєво відрізнялися і також поступово збільшувалися відповідно до збільшення тривалості COVID-19 ( $p > 0,100$ ) (табл. 3.3): у померлих у перший тиждень гострого періоду даної хвороби цей показник

дорівнював 11,63 (8,50; 17,50) клітинам, у другий тиждень – 19,89 (7,00; 30,50) клітинам, у третій тиждень – 34,20 (22,00; 44,50) клітинам, у четвертий тиждень – 52,79 (40,50; 62,00) клітинам, у ранній постгострий період хвороби – 67,44 (57,50; 76,00) клітинам, а у групі контролю досліджуваний показник дорівнював 71,13 (59,50; 83,50) клітині.

Таблиця 3.3

**Середня кількість ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію залежно від тривалості COVID-19 та у групі контролю**

	Гострий період COVID-19				Пост-гострий період COVID-19	Група контролю	p
	1-ий тиждень	2-ий тиждень	3-ій тиждень	4-ий тиждень			
Середня кількість ACE-2-позитивних клітин, Me (Q1; Q3)	11,63 (8,50; 17,50)	19,89 (7,00; 30,50)	34,20 (22,00; 44,50)	52,79 (40,50; 62,00)	67,44 (57,50; 76,00)	71,13 (59,50; 83,50)	0,158

Окрім того середня кількість ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 чисельно наближалася до цього показника у зрізах ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини померлих з групи контролю ( $p < 0,05$ ), проте, як і при дослідженні властивостей ольфакторних рецепторних клітин, були наявні випадки з ознаками розвитку компенсаторно-адаптивних змін клітин даного компоненту ольфакторної слизової оболонки, таких як атрофія та метаплазія, імовірно, у відповідь на тривалий вплив зовнішніх та

внутрішніх патогенних факторів. У цьому разі середня кількість ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 чисельно не корелювала з таким показником у матеріалі групи контролю ( $p > 0,05$ ) (Рис. 3.13).

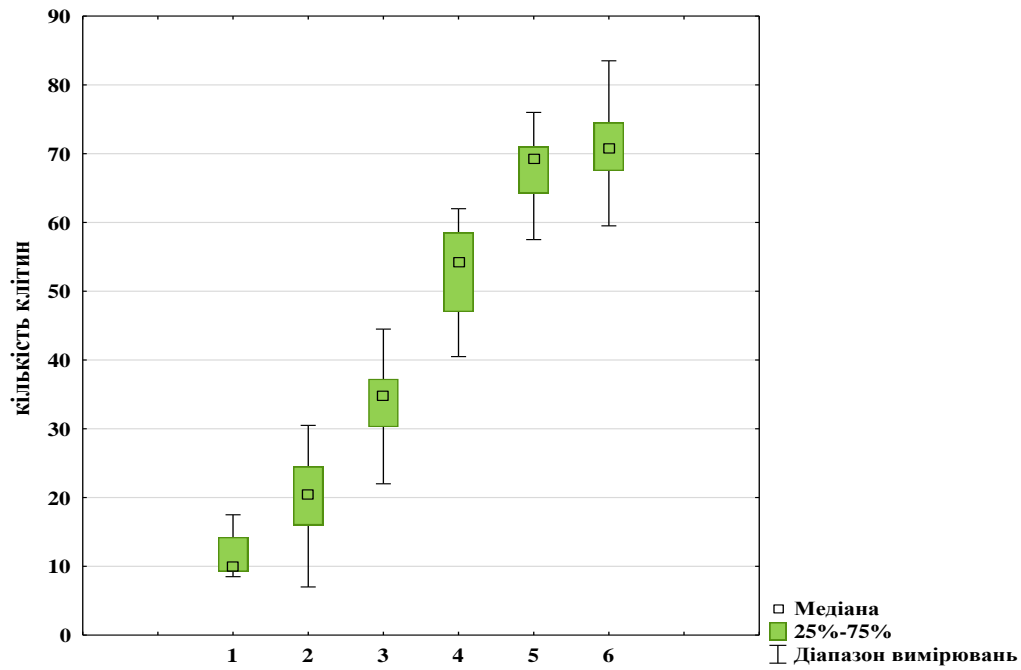


Рис. 3.13. Середня кількість ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 залежно від тривалості хвороби та досліджуваних групи контролю:

- 1 – перший тиждень гострого періоду;
- 2 – другий тиждень гострого періоду;
- 3 – третій тиждень гострого періоду;
- 4 – четвертий тиждень гострого періоду;
- 5 – ранній постгострий період;
- 6 – група контролю

З урахуванням того, що досліджуваний матеріал було отримано від померлих різних вікових категорій, було співставлено вік померлого та середню кількість ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини, при цьому було враховано, у який саме період COVID-19 настала смерть, гострий чи ранній постгострий. Отримані

дані було порівняно з результатами дослідження матеріалу з цієї ж ділянки померлих групи контролю без інфікування SARS-CoV-2 та ольфакторних розладів в анамнезі. При оцінюванні даної залежності встановлено, що середня кількість ACE-2-позитивних клітин у померлих у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19 не корелює з віком ( $p > 0,05$ ), але у більшості досліджуваних групи контролю дані параметри корелюють ( $p < 0,05$ ) (Рис. 3.14).

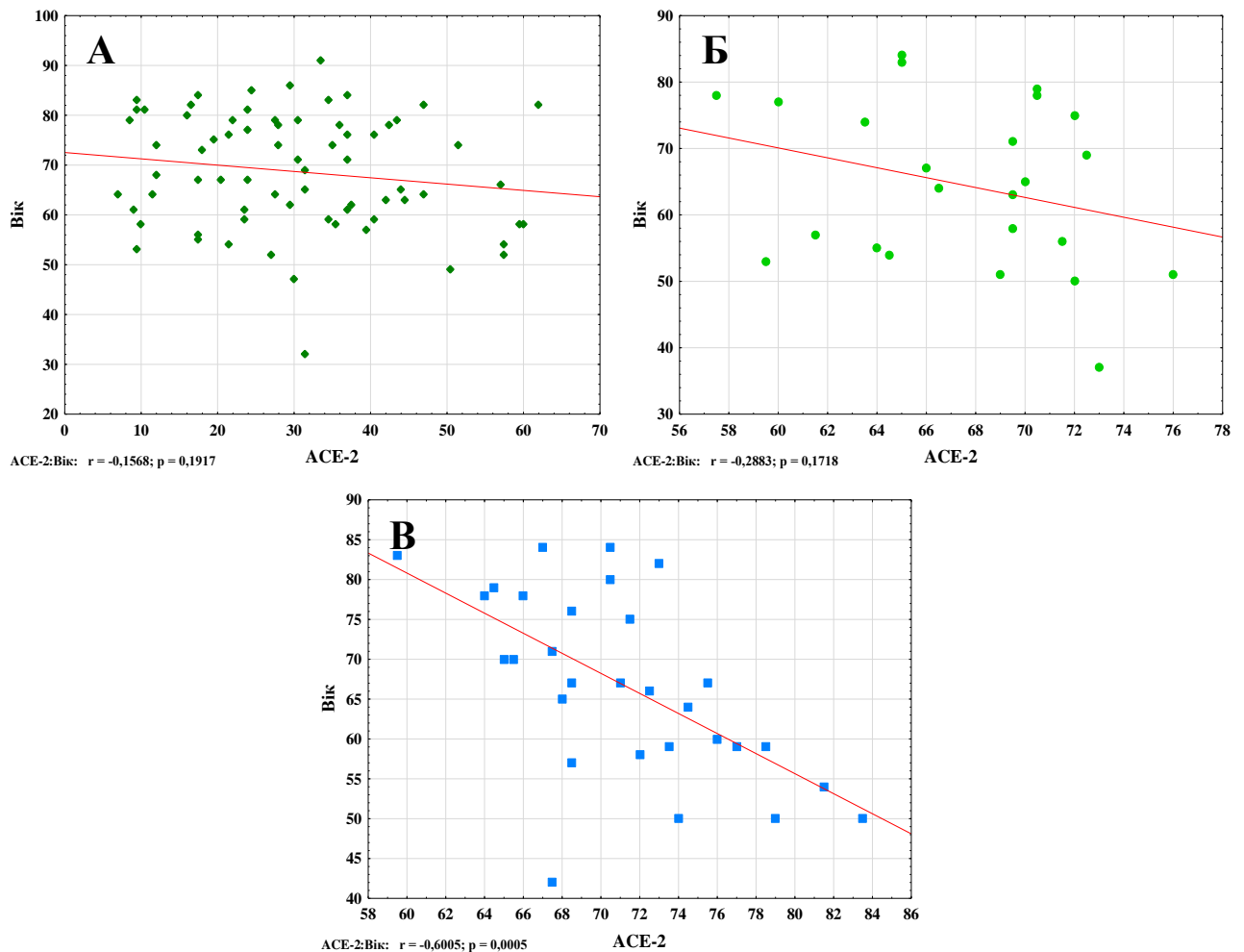


Рис. 3.14. Залежність середньої кількості ACE-2-позитивних клітин ольфакторного епітелію від віку досліджуваного:

А – гострий період COVID-19;

Б – ранній постгострий період COVID-19;

В – група контролю

### 3.4. Взаємозв'язок стану ольфакторних рецепторних клітин та суспензійних клітин ольфакторного епітелію при COVID-19

При оцінці результатів проведеного дослідження було підраховано середню кількість ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді COVID-19 не лише в окремі тижні даного періоду, а й сумарно – 30,16 (9,00; 62,00) клітин. Такі ж розрахунки проведені для встановлення середньої кількості OMP-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію сумарно за чотири тижні гострого періоду COVID-19 – 30,47 (7,00; 64,50) клітин. Отримані показники співставлені з показниками у ранньому постгострому періоді та у групі контролю (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

#### Середня кількість ACE-2-позитивних та OMP-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію залежно від періоду COVID-19 та у групі контролю

	Середня кількість ACE-2-позитивних клітин, Ме (Q1; Q3)	Середня кількість OMP-позитивних клітин, Ме (Q1; Q3)
Гострий період	30,16 (9,00; 62,00)	30,47 (7,00; 64,50)
Ранній постгострий період	67,44 (57,50; 76,00)	68,77 (61,00; 76,50)
Група контролю	71,13 (59,50; 83,50)	71,37 (60,50; 82,00)

Отже, підрахована середня кількість ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у гострому періоді хвороби (30,16 (9,00; 62,00) клітин) корелює з середньою кількістю OMP-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідної групи досліджуваних (30,47 (7,00; 64,50) клітин) ( $p < 0,05$ ), середня кількість ACE-2-позитивних клітин у 1 мм

ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 (67,44 (57,50; 76,00) клітин) корелює з середньою кількістю ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідної групи досліджуваних (68,77 (61,00; 76,50 клітин), а середня кількість АСЕ-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію досліджуваних групи контролю (71,13 (59,50; 83,50) клітин) корелює з середньою кількістю ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідної групи досліджуваних (71,37 (60,50; 82,00) клітин) (Рис. 3.15) ( $p < 0,05$ ).

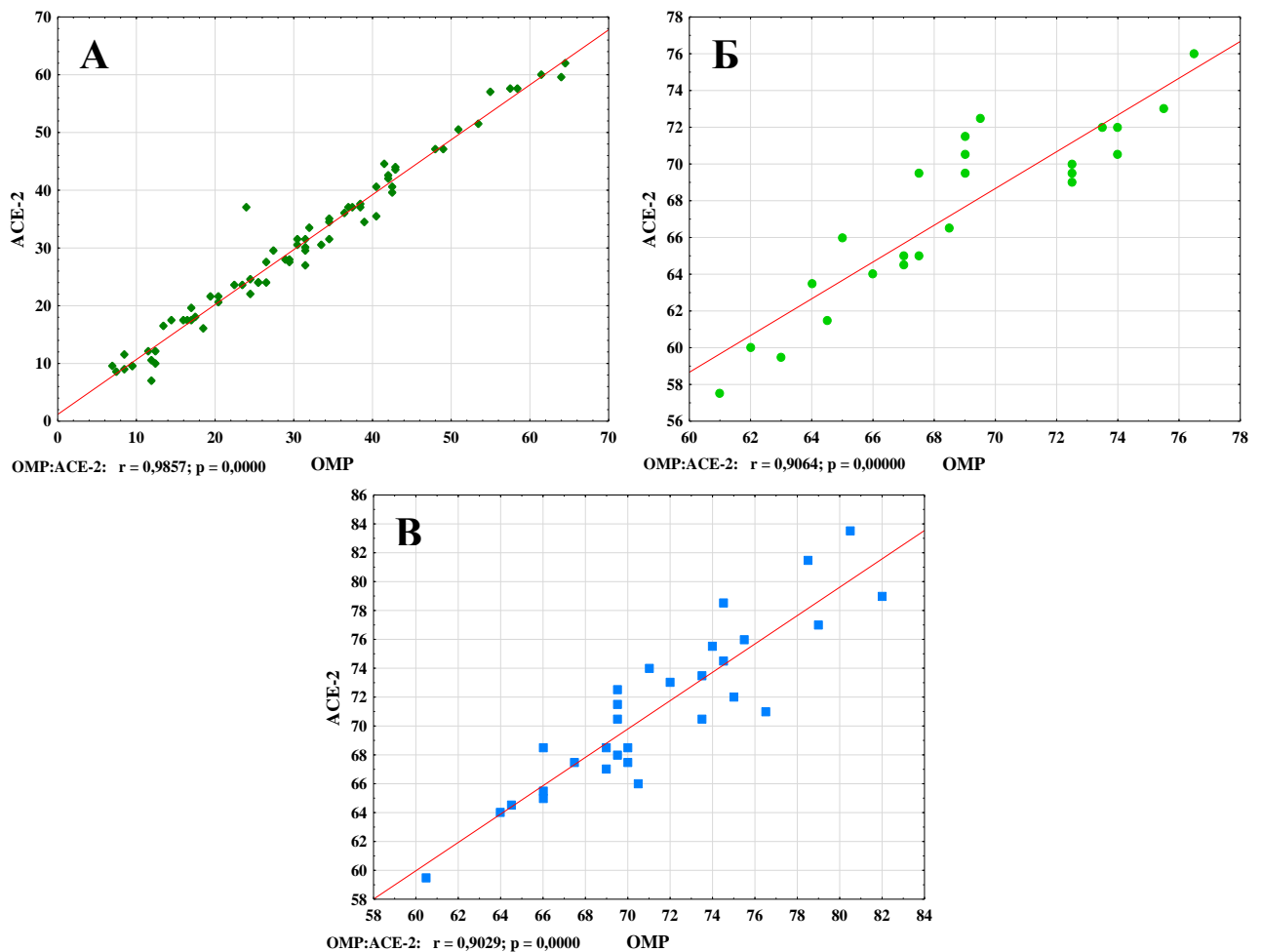


Рис. 3.15. Залежність середньої кількості АСЕ-2-позитивних клітин від середньої кількості ОМР-позитивних клітин ольфакторного епітелію:

А – гострий період COVID-19;

Б – ранній постгострий період COVID-19;

В – група контролю

### 3.5 Особливості експресії маркера TMPRSS2 в ольфакторних рецепторних клітинах та у суспендуальних клітинах

При виконанні ІГХ-дослідження також розглянуто специфічні антигенні властивості ольфакторних рецепторних клітин та суспендуальних клітин ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини, направлені на здатність цих клітин експресувати рецептори до трансмембранної сериної протеази-2 (TMPRSS2) у різні тижні гострого періоду та у ранньому постгострому періоді COVID-19, а отримані кількісні показники порівняні з показниками у відповідних зразках померлих групи контролю без COVID-19 та ольфакторних розладів в анамнезі (Рис. 3.16).

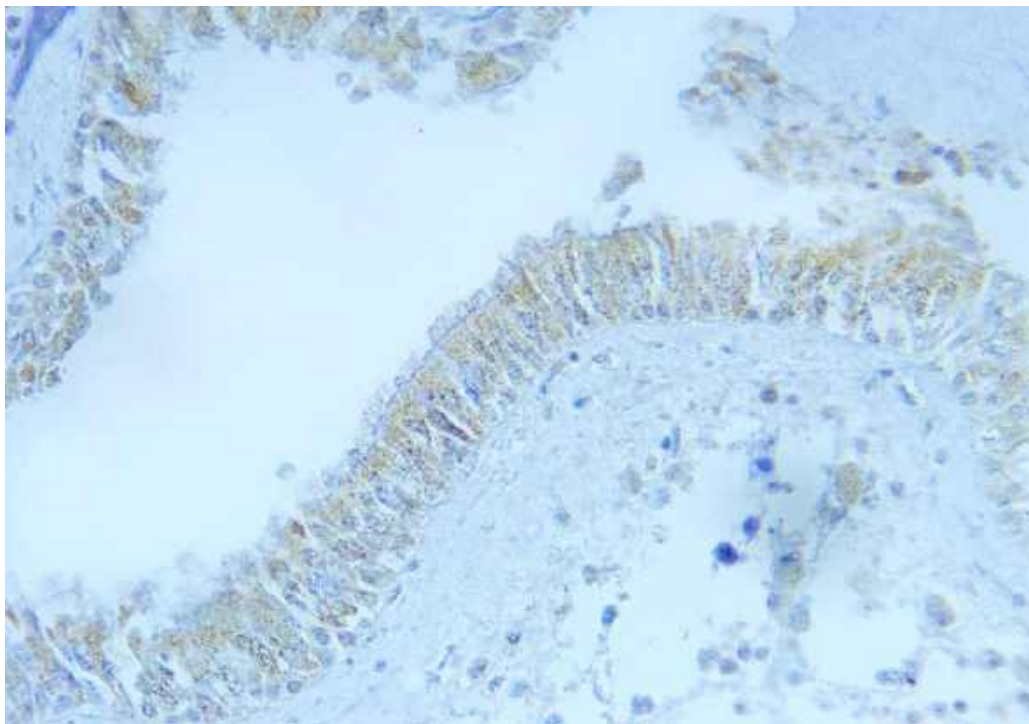


Рис. 3.16. Зріз ольфакторної слизової оболонки носової порожнини померлого у ранньому постгострому періоді COVID-19 з позитивною реакцією клітин ольфакторного епітелію з антитілами до TMPRSS2, збільшення  $\times 400$

У результаті виконаних морфометричного та ІГХ-дослідження встановлено, що середня кількість TMPRSS2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію зрізів слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини суттєво відрізнялася у групах та підгрупах досліджуваних ( $p > 0,100$ ). Даний показник у перший тиждень гострого періоду COVID-19 складав 20,63

(14,50; 29,00) клітин, у другий тиждень гострого періоду – 37,24 (17,50; 57,00) клітин, у третій тиждень гострого періоду – 54,41 (24,00; 91,50) клітин, у четвертий тиждень гострого періоду – 94,96 (67,50; 114,50) клітин, у ранньому постгострому періоді – 129,29 (108,00; 144,50) клітин, а у групі контролю – 137,57 (113,50; 157,50) клітин. Отримані результати співставлені між групами та підгрупами досліджуваних відповідно до тривалості COVID-19 та порівняні з результатами, отриманими при дослідженні матеріалу групи контролю (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

**Середня кількість TMPRSS2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію залежно від тривалості COVID-19 та у групі контролю**

	Гострий період COVID-19				Ранній постгострий період COVID-19	Група контролю	P
	1-ий тиждень	2-ий тиждень	3-ий тиждень	4-ий тиждень			
Середня кількість TMPRSS2-позитивних клітин, Me (Q1; Q3)	20,63 (14,50; 29,00)	37,24 (17,50; 57,00)	54,41 (24,00; 91,50)	94,96 (67,50; 114,50)	129,29 (108,00; 144,50)	137,57 (113,50; 157,50)	0,158

Варто зазначити, що середня кількість TMPRSS2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у різні тижні гострого періоду COVID-19 поступового збільшувалася відповідно до збільшення тривалості хвороби, а у ранньому постгострому періоді COVID-19 чисельно наближалася до цього

показника у зрізах ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини померлих з групи контролю ( $p < 0,05$ ).

При оцінці результатів проведеного дослідження для виконання подальших етапів роботи було підраховано середню кількість TMPRSS2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини померлих у гострому періоді COVID-19 не лише в окремі тижні даного періоду, а й загалом за чотири тижні – 52,92 (14,50; 114,50) клітин (Рис. 3.17).

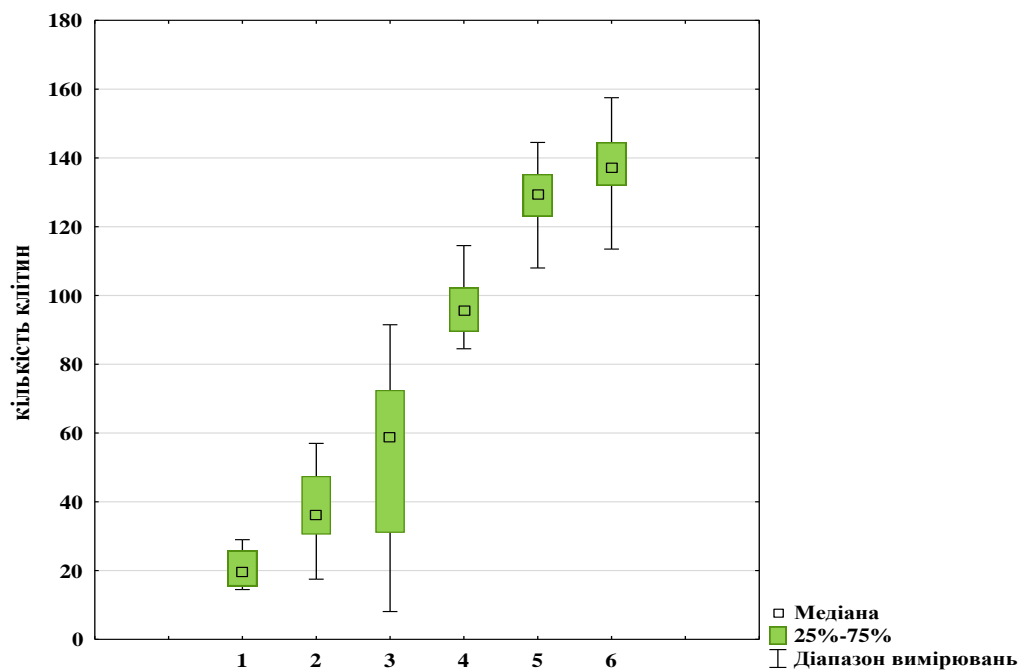


Рис. 3.17. Середня кількість TMPRSS2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 залежно від тривалості хвороби та досліджуваних групи контролю:

- 1 – перший тиждень гострого періоду;
- 2 – другий тиждень гострого періоду;
- 3 – третій тиждень гострого періоду;
- 4 – четвертий тиждень гострого періоду;
- 5 – ранній постгострий період;
- 6 – група контролю

Також підраховано сумарну середню кількість OMP-позитивних та ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх

відділів носової порожнини окремо у кожен тиждень гострого періоду COVID-19 та загалом за чотири тижні гострого періоду – 60,63 (16,00; 126,50) клітин, а також у ранньому постгострому періоді COVID-19 – 136,21 (118,50; 152,50) клітин та у групі контролю – 142,50 (120,00; 164,00) клітин. Отримані дані було співставлено між групами та підгрупами досліджуваних з COVID-19 та порівняно з результатами, отриманими при дослідженні матеріалу групи контролю (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Сумарна середня кількість OMP-позитивних та ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію залежно від тривалості COVID-19 та у групі контролю**

	Гострий період COVID-19				Пост-гострий період COVID-19	Група контролю	p
	1-ий тиждень	2-ий тиждень	3-ій тиждень	4-ий тиждень			
Сумарна середня кількість OMP- та ACE-2-позитивних клітин, Me (Q1; Q3)	20,63 (16,00; 33,50)	39,93 (19,00; 64,00)	68,88 (46,50; 87,00)	94,96 (81,00; 126,50)	136,21 (118,50; 152,50)	142,50 (120,00; 164,00)	0,158

Також результати попередніх етапів дослідження, а саме підрахунку середньої кількості TMPRSS2-позитивних клітин у зразках ольфакторного епітелію та сумарної середньої кількості OMP-позитивних і ACE-2-позитивних

клітин у зразках ольфакторної слизової оболонки носової порожнини у гострий та ранній постгострий періоди COVID-19 та у групі контролю співставлені між собою у відповідних групах за тривалістю хвороби та порівняні з показниками групи контролю (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

**Середня кількість TMPRSS2-позитивних та сумарна середня кількість ОМР-позитивних і АСЕ-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію залежно від періоду COVID-19 та у групі контролю**

	<b>Середня кількість TMPRSS2-позитивних клітин, Ме (Q1; Q3)</b>	<b>Середня кількість ОМР- та АСЕ-2-позитивних клітин, Ме (Q1; Q3)</b>
<i>Гострий період</i>	52,92 (14,50; 114,50)	60,63 (16,00; 126,50)
<i>Ранній постгострий період</i>	129,29 (108,00; 144,50)	136,21 (118,50; 152,50)
<i>Група контролю</i>	137,57 (113,50; 157,50)	142,50 (120,00; 164,00)

Аналіз результатів проведених етапів гістологічних, морфометричних та імуногістохімічних досліджень показав, що середня кількість TMPRSS2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини померлих з COVID-19 у гострому періоді (52,92 (14,50; 114,50) клітин), ранньому постгострому періоді (129,29 (108,00; 144,50) клітин) та групі контролю (137,57 (113,50; 157,50) клітин) корелює з сумарною середньою кількістю ОМР-позитивних та АСЕ-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію даної ділянки відповідних груп досліджуваних (померлі

у гострому періоді COVID-19 мали 60,63 (16,00; 126,50) клітин у 1 мм епітеліального шару, померлі у ранньому постгострому періоді – (136,21 (118,50; 152,50) клітин, померлі групи контролю – (142,50 (120,00; 164,00) клітин) ( $p < 0,05$ ), що підтверджує наявність рецепторів TMPRSS2 як у ольфакторних рецепторних клітинах, так і у sustentakuлярних клітинах (Рис. 3.18).

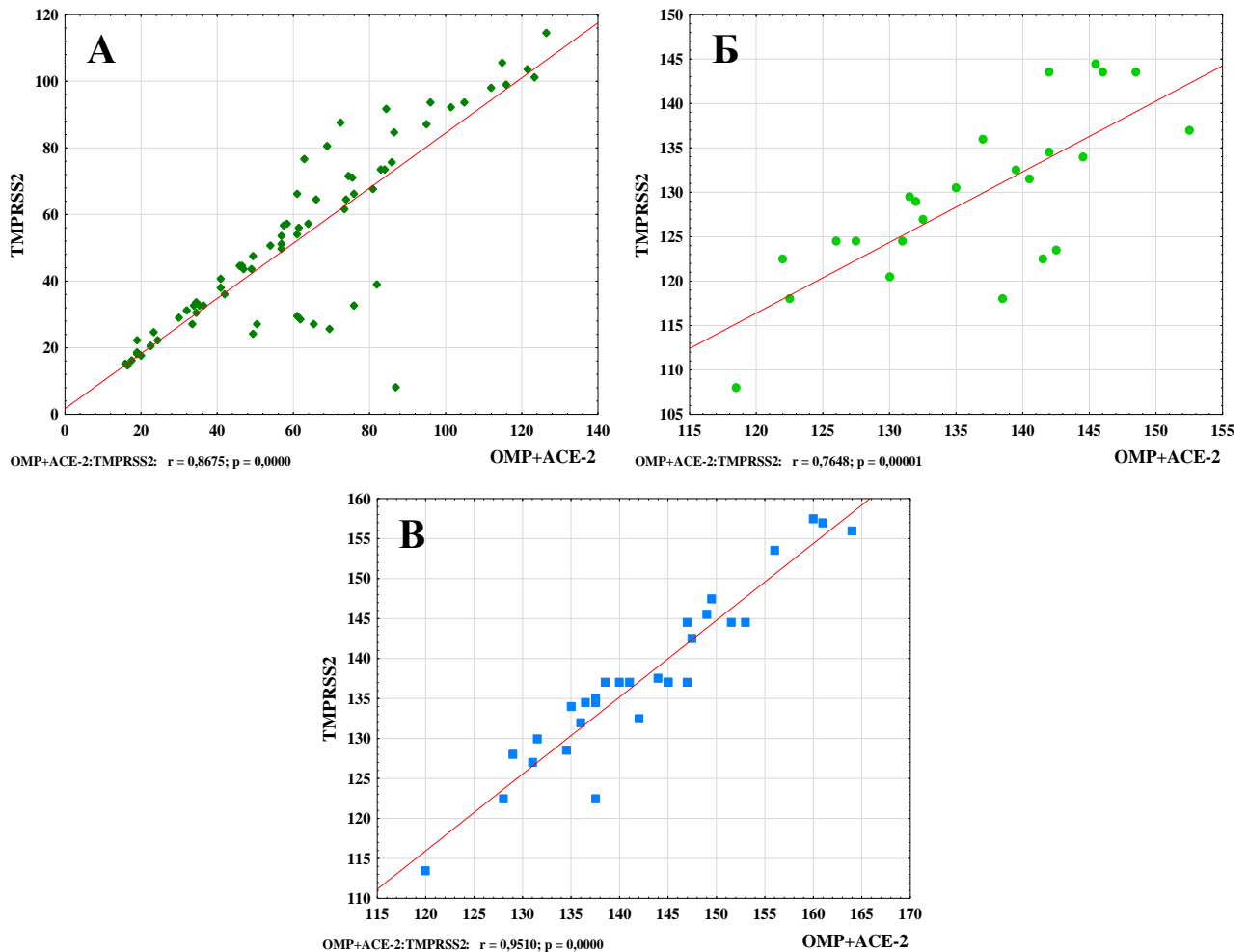


Рис. 3.18. Залежність середньої кількості TMPRSS2-позитивних клітин від сумарної середньої кількості OMP- та ACE-2-позитивних клітин ольфакторного епітелію:

А – гострий період COVID-19;

Б – ранній постгострий період COVID-19;

В – група контролю

### 3.6 Узагальнення результатів дослідження

Середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з лабораторно підтвердженим діагнозом «COVID-19» у гострому періоді хвороби (30,47 (7,00; 64,50) клітин), ранньому постгострому періоді (68,77 (61,00; 76,50) клітин) та групі контролю (71,37 (60,50; 82,00) клітин) корелює з середньою кількістю TuJ-1-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідних груп досліджуваних (гострий період COVID-19 – 30,42 (8,00; 63,50) клітин, ранній постгострий період – 68,10 (59,50; 74,50) клітин, група контролю - 71,27 (58,50; 81,50) клітин) ( $p < 0,05$ ), що дає змогу використовувати маркер TuJ-1 одночасно з маркером ОМР для контролю правильності підрахунку кількості вцілілих ольфакторних рецепторних клітин. Також середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у ранньому постгострому періоді чисельно наближається до такої групи контролю ( $p < 0,05$ ), що свідчить про поступове відновлення структури ольфакторного епітелію, а відповідно і повернення ольфакторного сприйняття.

Середня кількість ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у гострому періоді хвороби (30,16 (9,00; 62,00) клітин), ранньому постгострому періоді (67,44 (57,50; 76,00) клітин) та групі контролю (71,13 (59,50; 83,50) клітин) корелює з середньою кількістю ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідних груп досліджуваних (гострий період COVID-19 – 30,47 (7,00; 64,50) клітин, ранній постгострий період – (68,77 (61,00; 76,50) клітин, група контролю - (71,37 (60,50; 82,00) клітин) ( $p < 0,05$ ), що підтверджує опосередковане руйнування ольфакторних рецепторних клітин шляхом первинного ушкодження суштентакулярних клітин.

Середня кількість TMPRSS2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у ранньому постгострому періоді (129,29 (108,00; 144,50) клітин) та групі контролю (137,57 (113,50; 157,50) клітин) корелює з

сумарною середньою кількістю OMP- та ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідних груп досліджуваних (ранній постгострий період – (136,21 (118,50; 152,50) клітин, група контролю - (142,50 (120,00; 164,00) клітин) ( $p < 0,05$ ), що підтверджує наявність рецепторів TMPRSS2 як у ольфакторних рецепторних клітин, так і у суспендулярних клітин, а також їх сприяння інвазії вірусу SARS-CoV-2.

Середня кількість OMP- та ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у гострому та ранньому постгострому періодах хвороби не корелює з віком даних померлих ( $p > 0,05$ ), але у групі контролю дані параметри корелюють ( $p < 0,05$ ), що може свідчити про вплив сторонніх факторів на стан цього відділу ольфакторної системи і, як наслідок, існування додаткових механізмів розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2.

### **Матеріали розділу викладені в наступних виданнях:**

1. Шпонька ІС, Попович ВІ, Усова ОМ, Бондаренко ОО, Гаман ЮВ, Щурук ГЗ. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2. Патологія. 2021;18(3):278-285. DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369

2. Усова ОМ. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2. Морфологія. 2024;18(1):78-82. DOI: 10.26641/1997-9665.2024.1.78-82

3. Усова ОМ, Бондаренко ОО, Шпонька ІС, Попович ВІ. Гістологічні та імуногістохімічні особливості стану периферичних відділів ольфакторної системи за умов інфікування коронавірусом SARS-COV-2. Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку: матеріали Міжнародної науково-практичної онлайн-конференції (м. Київ, 22-23 квітня 2021 р.). Київ, 2021. С. 29.

4. Шпонька ІС, Усова ОМ, Бондаренко ОО. Гіпотези розвитку ольфакторної дисфункції при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2. Теорія та практика сучасної морфології: матеріали Шостої науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Дніпро, 09-11 листопада 2022 р.). Дніпро, 2022. С. 160-162.

5. Шпонька ІС, Усова ОМ. Роль рівнів ольфакторної системи у розвитку нюхових розладів при COVID-19: морфологічні та імуногістохімічні аспекти. Актуальні проблеми патологічної анатомії: спеціальний випуск Українського науково-медичного молодіжного журналу № 4 (143) з матеріалами науково-практичної конференції, присвяченої 30-річчю заснування Асоціації патологоанатомів України (м. Київ, 05-06 жовтня 2023 р.). Київ, 2023. С. 30-31.

6. Усова ОМ. Про доцільність вивчення ролі рецепторів до TMPRSS2 у розвитку ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019. Теорія та практика сучасної морфології: матеріали Сьомої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Дніпро, 01-03 листопада 2023 р.). Дніпро, 2023. С. 114-115.

7. Усова ОМ, Алексеєнко О.А., Мальцев І.О. Значення ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019. Новини і перспективи медичної науки: матеріали XXIV наукової конференції студентів та молодих учених (м. Дніпро, квітень 2024 р.). Дніпро, 2024. С. 105.

8. Usova OM. Assessment of the significance of TMPRSS2 and ACE-2 receptors for the olfactory disorders development in Coronavirus Disease 2019. Здобутки клінічної та експериментальної медицини: матеріали підсумкової LXVII науково-практичної конференції (м. Тернопіль, 13-14 червня 2024 р.). Тернопіль, 2024. С. 45-46.

## РОЗДІЛ 4

### **МОРФОЛОГІЧНІ, МОРФОМЕТРИЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИН ОЛЬФАКТОРНОГО ЕПІТЕЛІЮ З РЕСТРУКТУРИЗАЦІЄЮ ПРИ COVID-19**

Невід’ємним кроком на шляху вивчення морфологічних особливостей ольфакторного епітелію верхніх відділів слизової оболонки носової порожнини у померлих з COVID-19 та ольфакторними розладами в анамнезі є з’ясування ролі анамнестичних особливостей і попередніх змін даної ділянки у зв’язку із тим, що ольфакторні рецепторні клітини цієї ланки ольфакторної системи є видозміненими біполярними нейронами, які розташовані поверхнево, що значно підвищує їх вразливість при впливі будь-яких патогенів у порівнянні з більш глибоко розташованими нервовими клітинами, коли назвні виходять лише їх аферентні волокна, тож під дією патогенних факторів різного походження ольфакторні рецепторні клітини можуть бути прямо чи опосередковано зруйновані ще до інфікування вірусом SARS-CoV-2 з подальшим розвитком більш виражених і тривалих ольфакторних розладів вже при COVID-19 [175].

#### **4.1 Морфологічні та морфометричні особливості клітин ольфакторного епітелію з реструктуризацією при COVID-19**

При гістологічному дослідженні зрізів слизової оболонки ольфакторної ділянки верхній відділів носової порожнини у 40,00 % померлих у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19 були наявні ознаки структурної перебудови (Рис. 4.1), а саме ділянки атрофічних змін у вигляді стоншення епітеліального шару (визначалася висота епітеліального шару даних зразків, яку було порівняно з таким показником у ольфакторній слизовій оболонці без явищ реструктуризації), метаплазії циліндричного епітелію у багат шаровий плоский епітелій (у 18,95 % від загальної кількості померлих з COVID-19) та ділянок проліферації сполучної тканини, окрім того у даних зразках визначалися дифузні

клітинні інфільтрати у слизовій оболонці та підслизовому шарі з переважанням лімфоцитів, плазмоцитів, моноцитів та поодинокими макрофагальними клітинами (Рис. 4.2).

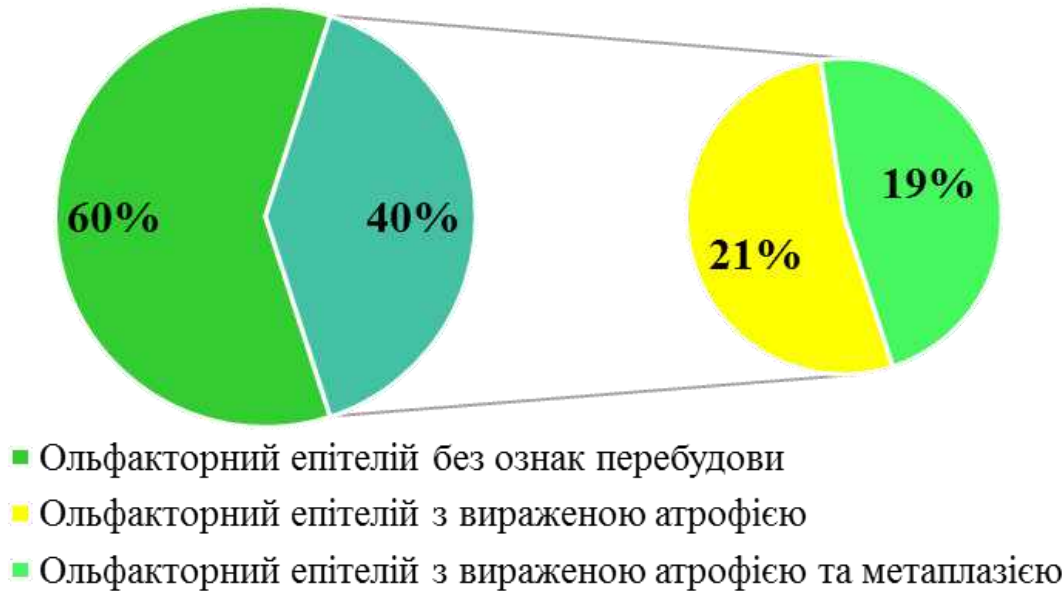


Рис. 4.1. Розподіл померлих з COVID-19 за наявності чи відсутності морфологічних ознак реструктуризації ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини

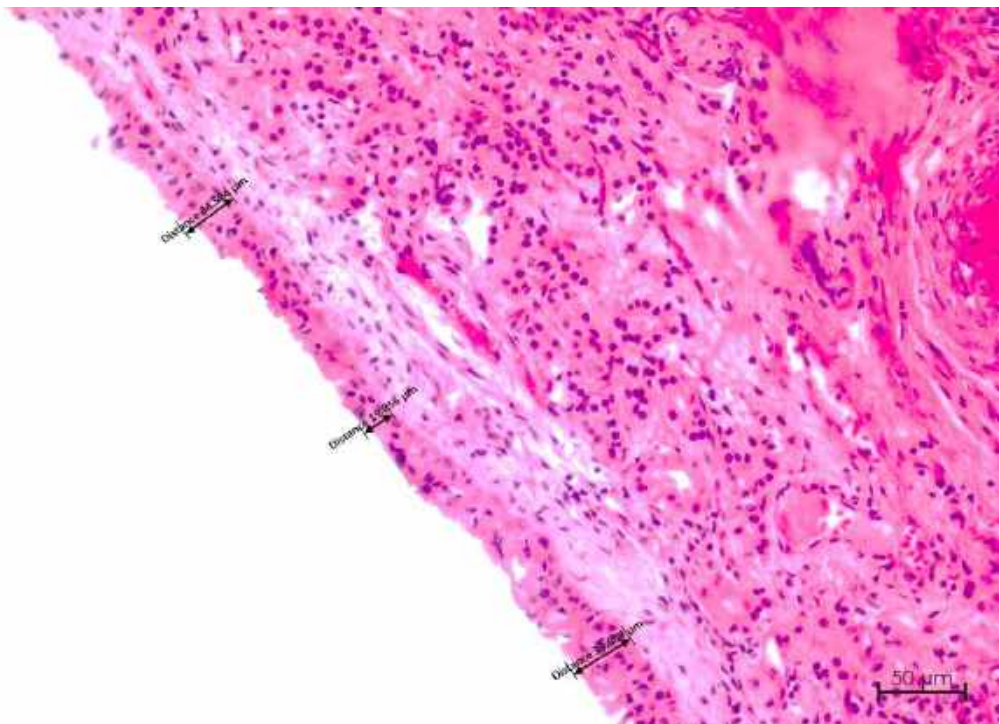


Рис. 4.2. Ділянка атрофії клітин ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини, Г+Е, збільшення  $\times 200$

На даному етапі дослідження за допомогою морфометричного методу було виміряно товщину шару клітин, що входять до складу ольфакторного епітелію та підраховано середнє значення для кожного випадку. Даний показник вимірювався у мкм. Результати, отримані при підрахунку середньої товщини епіталіального шару різних зрізів ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини померлих у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19 з ольфакторними розладами в анамнезі та ознаками структурних змін цієї ділянки (41,23 (19,86; 61,9) мкм) були співставлені з результатами підрахунку середньої товщини епітеліального шару зрізів ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини померлих у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19 з ольфакторними розладами в анамнезі, але без ознак попередньої трансформації ділянки, яку було досліджено (66,55 (54,17; 80,96) мкм) (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

**Середня товщина епіталіального шару зрізів ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини з ознаками попередньої реструктуризації та зрізів без цих ознак**

	<b>Зрізи з ознаками реструктуризації, Me (Q1; Q3)</b>	<b>Зрізи без ознак реструктуризації, Me (Q1; Q3)</b>
<i>Середня товщина епітеліального шару, мкм</i>	41,23 (19,86; 61,9)	66,55 (54,17; 80,96)

Середня товщина епітеліального шару ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини у зрізах з ознаками попередньої реструктуризації була меншою (за виключенням ділянок з метаплазією одноша-

рового ольфакторного епітелію у багатошаровий плоский епітелій) за середню товщину епітеліального шару у зрізах без ознак попередньої реструктуризації (Рис. 4.3).

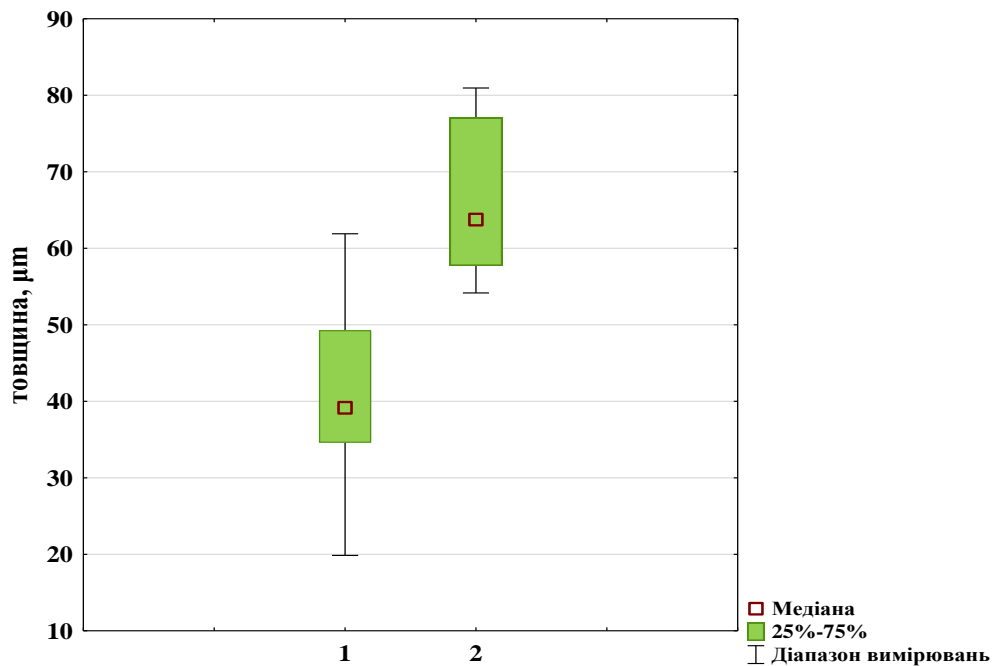


Рис. 4.3. Середня товщина (мкм) епітеліального шару ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини:

- 1 – зрізи з ознаками попередньої реструктуризації епітеліального шару;
- 2 – зрізи без ознак попередньої реструктуризації епітеліального шару

#### 4.2 Імуногістохімічні особливості клітин ольфакторного епітелію з реструктуризацією при COVID-19

При виконанні ІГХ-дослідження зрізів ольфакторної слизової оболонки з ознаками попередньої реструктуризації та трансформації та без них, які були отримані з верхніх відділів носової порожнини померлих у різні тижні гострого періоду та у ранньому постгострому періоді COVID-19, використано антитіла до OMP, TuJ-1 та ACE-2, ефективність застосування яких було підтверджено на етапах дисертаційної роботи, детально описаних у розділі 3. Маркери OMP та TuJ-1 є специфічними для ідентифікації ольфакторних рецепторних клітин, проте вони не мають експресуватися у клітинах багатошарового плоского

епітелію, який визначався у ділянках з метаплазією ольфакторного епітелію, у свою чергу маркер АСЕ-2 виявляється при дослідженні суштентакулярних клітин ольфакторного епітелію та є специфічним для них, проте для клітин багат шарового плоского епітелію ділянок метаплазії даний маркер не є характерним (Рис. 4.4).

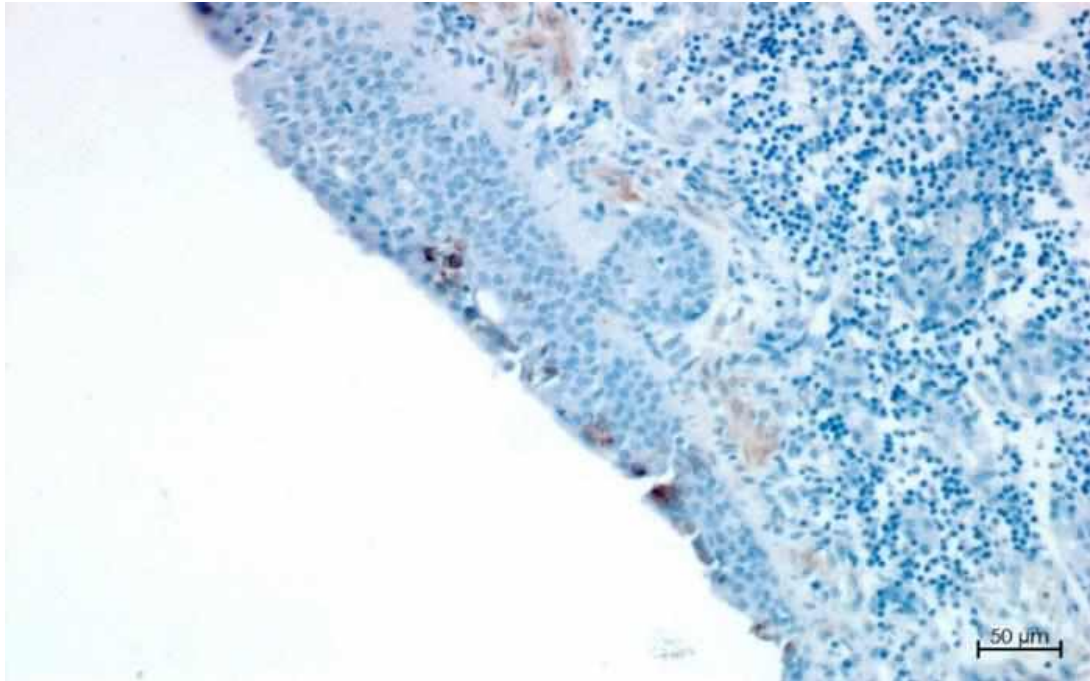


Рис. 4.4. Зріз ольфакторної слизової оболонки носової порожнини померлого з COVID-19 з позитивною реакцією клітин ольфакторного епітелію з антитілами до TuJ-1, збільшення  $\times 200$

Результати, отримані при підрахунку середньої кількості ОМР-позитивних, TuJ-1-позитивних та АСЕ-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини з наявними атрофічними, метапластичними змінами та ділянками склерозу у підслизовому шарі з редукцією судинного русла, відібрані у померлих у різні тижні гострого постгострого періодів COVID-19, були співставлені з відповідними показниками, отриманими при дослідженні зрізів ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини без будь-яких структурних змін, які також було отримано від померлих у різні тижні гострого та постгострого періодів COVID-19. Результати даного етапу дисертаційного

дослідження ретельно проаналізовані та відображені у таблиці для наочності (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

**Середня товщина епіталіального шару зрізів ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини з ознаками попередньої реструктуризації та зрізів без цих ознак**

	<b>Зрізи з ознаками реструктуризації</b>	<b>Зрізи без ознак реструктуризації</b>
<i>Середня кількість ОМР-позитивних клітин, Me (Q1; Q3)</i>	23,19 (7,00; 43,00)	35,90 (8,5; 64,5)
<i>Середня кількість TuJ-1-позитивних клітин, Me (Q1; Q3)</i>	23,27 (7,00; 43,50)	35,08 (7,50; 63,50)
<i>Середня кількість ACE-2-позитивних клітин, Me (Q1; Q3)</i>	23,10 (8,00; 44,50)	35,15 (9,00; 62,00)

Середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини померлих з COVID-19 та морфологічними ознаками попередньої реструктуризації у зрізах складала 23,19 (7,00; 43,00) клітин, TuJ-1-позитивних клітин – 23,27 (7,00; 43,50) клітин, ACE-2-позитивних – 23,10 (8,00; 44,50) клітин.

Середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини померлих з COVID-19 та відсутністю морфологічних ознак попередньої реструктуризації у

зрізах складала 35,90 (8,5; 64,5) клітин, TuJ-1-позитивних клітин – 35,08 (7,50; 63,50) клітин, ACE-2-позитивних – 35,15 (9,00; 62,00) клітин.

При комбінованій оцінці результатів морфометричного та ІГХ-дослідження встановлено, що середня кількість ОМР-позитивних та ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 корелює з товщиною епітеліального шару ( $p < 0,05$ ) (Рис. 4.5).

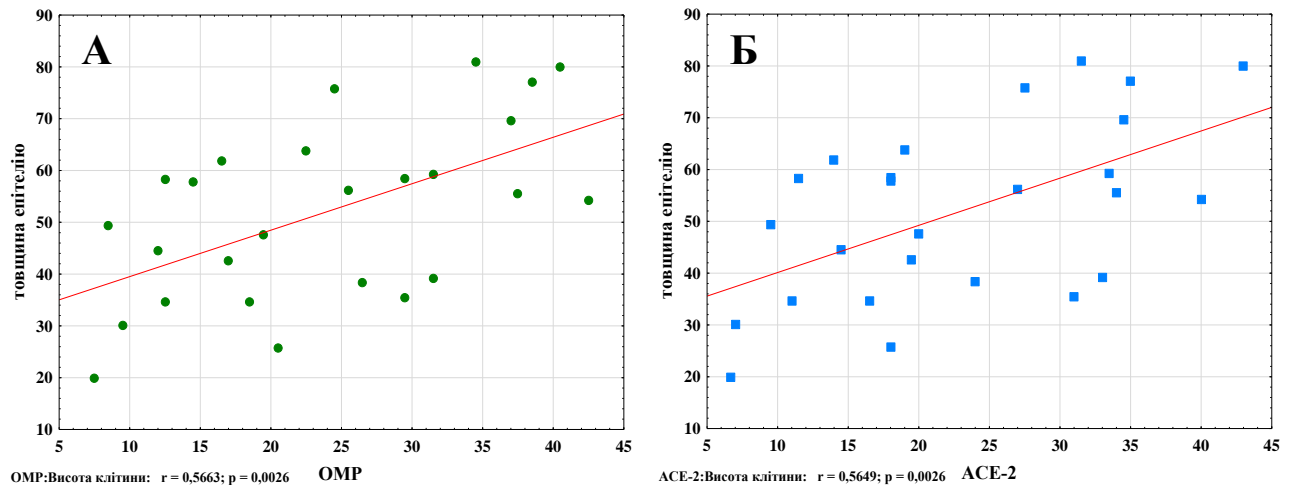


Рис. 4.5. Залежність середньої кількості ОМР-позитивних та ACE-2-позитивних клітин ольфакторного епітелію від товщини епітеліального шару ольфакторної слизової оболонки у померлих з COVID-19 (мкм):

А – ІГХ-дослідження з антитілами до ОМР;

Б – ІГХ-дослідження з антитілами до ACE-2

#### 4.3 Вплив супутньої патології на стан клітин ольфакторного епітелію досліджуваних з COVID-19

При аналізі анамнестичних даних померлих у гострий та ранній постгострий періоди COVID-19 встановлено, що 90,53 % досліджуваних мали супутню патологію, а 9,47 % померли безпосередньо від ускладнень COVID-19 та не мали інших хвороб в анамнезі. Супутня патологія серед померлих з COVID-19 розподілялася наступним чином: атеросклероз – 87,37 %, ішемічна хвороба серця – 83,16 %, артеріальна гіпертензія – 81,05 %, гострі порушення мозкового кровообігу за ішемічним чи геморагічним типом – 15,79 %, цукровий діабет (2

тип) – 21,05 %, інші хвороби – 41,05 %. Інші супутні хвороби включали хронічні хвороби легень з розвитком пневмосклерозу та легеневої гіпертензії (туберкульоз, бронхіальну астму, емфізему та хронічний бронхіт), хвороби нирок з виходом у нефросклероз та розвитком уремії (хронічний гломерулонефрит, хронічний пієлонефрит, хронічний тубуло-інтерстиційний нефрит), цироз печінки та хронічний панкреатит, також мали місце поодинокі випадки ВІЛ-інфекції із розвитком синдрому набутого імунodefіциту людини, пухлини (рак нирки, дифузна неходжкінська лімфома) та подагра. Тож 87,37 % від загальної кількості померлих з COVID-19 за життя мали такі хронічні хвороби, які супроводжувалися розвитком патологічних змін у стінках кровоносних судин, особливо артеріальних (утворення атеросклеротичних бляшок, фібриноїдне набухання з фібриноїдним некрозом та, як наслідок, розвитком гіалінозу та склерозу), та звуженням просвітів даних судин з розвитком хронічної ішемії тканин, які отримували кровопостачання з цих змінених судин, унаслідок недостатнього надходження артеріальної крові (Рис. 4.6).

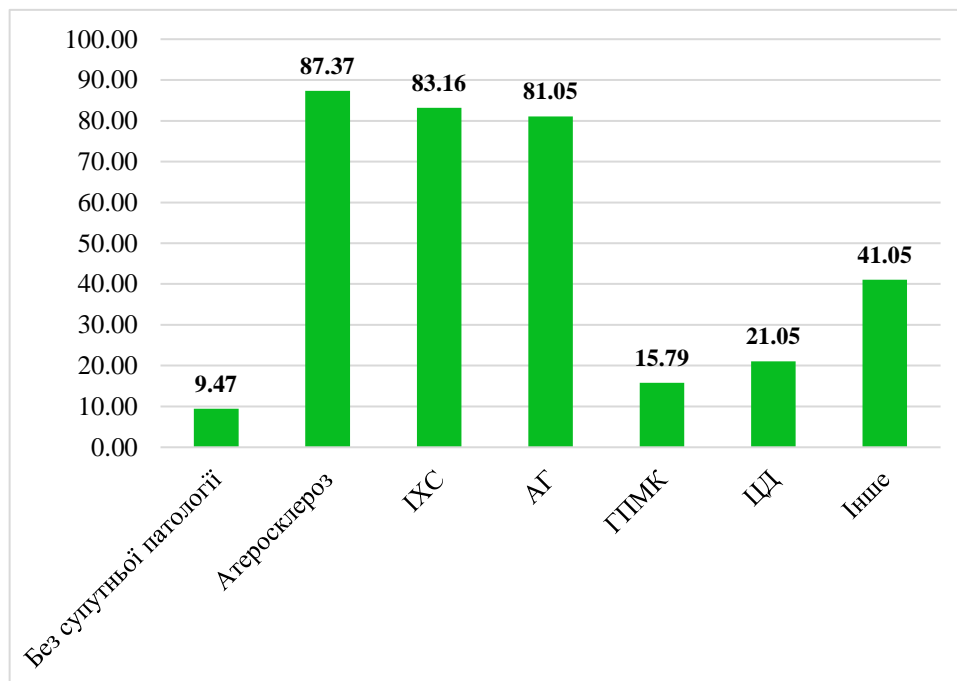


Рис. 4.6. Розподіл померлих з COVID-19 за періодами хвороби

У 49,40 % померлих у гострому та ранньому постгострому періодах COVID-19 при проведенні аутопсійного дослідження визначалися ознаки

тромбозу артеріальних та венозних судин різного калібру, у тому числі артерій та артеріол голови, з них 32,07 % мали значне звуження просвітів судин тромбами (звуження понад 75 % просвіту) або повну обструкцію просвіту.

Оскільки відсоток померлих з COVID-19 без жодної супутньої хвороби в анамнезі складав лише 9,47, для більш коректного порівняння середньої кількості ОМР-позитивних, TuJ-1-позитивних та АСЕ-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію серед метеріалу, отриманого від померлих з COVID-19 та супутніми хворобами, було відібрано рівноцінну за обсягом кількість зразків, які відповідали за віком досліджуваного та тривалістю COVID-19 зразкам померлих без супутньої патології.

У результаті проведеного морфометричного та ІГХ-дослідження серед померлих з COVID-19 без супутніх хвороб в анамнезі було 4 жінки (44,44 %) та 5 чоловіків (55,56 %), а середній вік досліджуваних складав 52,33 (47,00; 64,00) роки. 4 досліджуваних померли у гострому періоді COVID-19, а 5 досліджуваних – у ранньому постгострому. Відповідно серед померлих з COVID-19 з супутньою патологією було відібрано 4 жінки (44,44 %) та 5 чоловіків (55,56 %), середній вік яких складав 56,33 (50,00; 66,00) роки. 4 досліджуваних також померли у гострому періоді COVID-19, а 5 досліджуваних – у ранньому постгострому. Слід зазначити, що при створенні даної групи порівня було враховано тиждень гострого періоду COVID-19, у який помер досліджуваний, адже вже встановлено, що середня кількість ОМР-позитивних, TuJ-1-позитивних та АСЕ-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію віріює залежно від тижня гострого періоду хвороби.

Середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді COVID-19 без супутньої патології складала 36,75 (13,50; 61,50) клітин, TuJ-1-позитивних – 37,13 (15,50; 62,50) клітин, АСЕ-2-позитивних – 36,13 (16,50; 60,00) клітин. Середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді

COVID-19 з супутньою патологією – 19,38 (7,50; 32,00) клітин, TuJ-1-позитивних – 20,25 (9,00; 34,00) клітин, ACE-2-позитивних – 20,25 (8,50; 33,50) клітин.

Середня кількість OMP-, TuJ-1- та ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді COVID-19 з супутніми хворобами, суттєво відрізнялася від такого показника у померлих у гострому періоді COVID-19 без супутніх хвороб та була меншою ( $p > 0,100$ ) (Рис. 4.7).

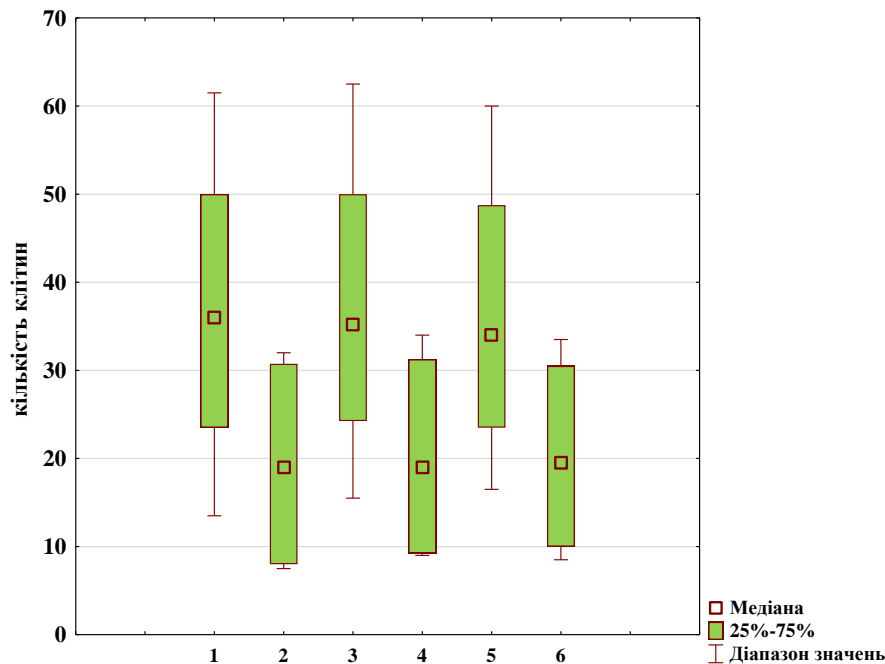


Рис. 4.7. Середня кількість клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді COVID-19 без супутньої патології та з супутньою патологією:

- 1 – OMP-позитивні клітини (померлі без супутньої патології);
- 2 – OMP-позитивні клітини (померлі з супутньою патологією);
- 3 – TuJ-1-позитивні клітини (померлі без супутньої патології);
- 4 – TuJ-1-позитивні клітини (померлі з супутньою патологією);
- 5 – ACE-2-позитивні клітини (померлі без супутньої патології);
- 6 – ACE-2-позитивні клітини (померлі з супутньою патологією)

Середня кількість OMP-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 без супутньої патології складала 71,80 (66,00; 76,50) клітин, TuJ-1-позитивних – 70,60 (65,00; 74,50) клітин, ACE-2-позитивних – 69,70 (64,00; 76,00) клітин. Середня кількість

ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 з супутньою патологією складала 62,90 (61,00; 64,50) клітин, TuJ-1-позитивних – 61,30 (59,50; 62,50) клітин, АСЕ-2-позитивних – 60,40 (57,50; 63,50) клітин.

Середня кількість ОМР-позитивних, TuJ-1-позитивних та АСЕ-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19, які мали супутні хвороби, суттєво відрізнялася від такого показника у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 без супутніх хвороб та була меншою ( $p > 0,100$ ) (Рис. 4.8).

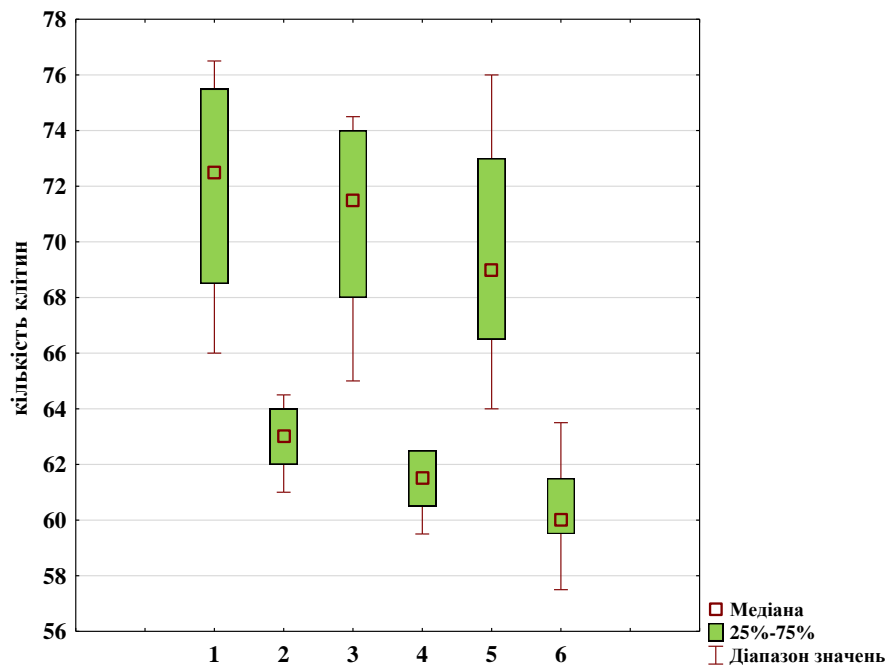


Рис. 4.8. Середня кількість клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 без супутньої патології та з супутньою патологією:

- 1 – ОМР-позитивні клітини (померлі без супутньої патології);
- 2 – ОМР-позитивні клітини (померлі з супутньою патологією);
- 3 – TuJ-1-позитивні клітини (померлі без супутньої патології);
- 4 – TuJ-1-позитивні клітини (померлі з супутньою патологією);
- 5 – АСЕ-2-позитивні клітини (померлі без супутньої патології);
- 6 – АСЕ-2-позитивні клітини (померлі з супутньою патологією)

#### 4.4 Узагальнення результатів дослідження

У 40,00 % померлих з COVID-19 при гістологічному дослідженні зрізів слизової оболонки ольфакторної ділянки носової порожнини наявні ознаки структурної перебудови, а саме ділянки атрофічних змін (середня товщина епітеліального шару в даній групі досліджуваних - 41,23 мкм, тоді як у інфікованих вірусом SARS-CoV-2 без ознак реструктуризації ольфакторного епітелію - 66,55 мкм), метаплазії циліндричного епітелію у багат шаровий плоский (у 18,95 % від загальної кількості померлих з COVID-19) та склерозування, при чому середня кількість ОМР- та АСЕ-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих цієї групи корелює з товщиною епітеліального шару ( $p < 0,05$ ), що свідчить про розвиток ольфакторних розладів більшої вираженості у хворих, слизова оболонка носової порожнини яких раніше підлягала впливу сторонніх чинників, які спричинили якісні та кількісні зміни її складу.

Середня кількість ОМР-позитивних (19,38 (7,50; 32,00)), TuJ-1-позитивних 20,25 (9,00; 34,00) та АСЕ-2-позитивних (20,25 (8,50; 33,50)) клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді COVID-19, які мали супутні хвороби, суттєво відрізнялася від такого показника у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді COVID-19 без супутніх хвороб (ОМР-позитивні – 36,75 (13,50; 61,50), TuJ-1-позитивні – (37,13 (15,50; 62,50), АСЕ-2-позитивні – 36,13 (16,50; 60,00)) та була меншою ( $p > 0,100$ ), а середня кількість ОМР-позитивних (62,90 (61,00; 64,50)), TuJ-1-позитивних (61,30 (59,50; 62,50)) та АСЕ-2-позитивних (60,40 (57,50; 63,50)) клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19, які мали супутні хвороби, суттєво відрізнялася від такого показника у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 без супутніх хвороб (ОМР-позитивні – 71,80 (66,00; 76,50), TuJ-1-позитивні – 70,60 (65,00; 74,50), АСЕ-2-позитивні – 69,70 (64,00; 76,00)) та була меншою ( $p$

> 0,100), що свідчить про вплив супутньої патології на стан складових ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини.

**Матеріали розділу викладені в наступних виданнях:**

1. Шпонька ІС, Усова ОМ. Вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу 2019: імуноморфологічна оцінка. Медичні перспективи. 2024;29(1):4-9. DOI: 10.26641/2307-0404.2024.1.300438

2. Шпонька ІС, Усова ОМ, Бондаренко ОО. Обтяжливі чинники у виникненні ольфакторних порушень у хворих на коронавірусну хворобу. Теорія та практика сучасної морфології: матеріали П'ятої науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Дніпро, 20-22 жовтня 2021 р.). Дніпро, 2021. С. 159-161.

## РОЗДІЛ 5

### МОРФОЛОГІЧНІ, МОРФОМЕТРИЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННИХ ЕЛЕМЕНТІВ ОЛЬФАКТОРНИХ ЦИБУЛИН ПРИ COVID-19

При з'ясуванні патогістологічних та імуноморфологічних аспектів виникнення ольфакторних розладів при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2 важливим є дослідження змін у ольфакторних цибулинах, оскільки за літературними даними порушення ольфакторного сприйняття у хворих на COVID-19 може бути обумовлене пошкодженням різних компонентів периферичної та центральної ланок ольфакторної системи. Хоча найбільш поширеними причинами альтерації ольфакторних нейронів є гострі чи хронічні порушення мозкового кровообігу, пухлинні та запальні хвороби головного мозку та оболонки, травми голови тощо, не виключена також роль біологічних агентів (у тому числі й вірусів) у розвитку даного механізму виникнення гіпосмії, аносмії чи дизосмії. Через те що процес відновлення нервових клітин є складним та тривалим, ольфакторні розлади у даному випадку є необоротними або затяжними, а також характеризуються спотворенням ольфакторного сприйняття. Таке дослідження може покращити розуміння виникнення та розвитку гіпосмії, дизосмії чи аносмії у якості патогномонічних симптомів і бути корисним та інформативним для прогнозування функціонального стану ольфакторної системи при COVID-19 та диференціальної діагностики гострих респіраторних інфекційних хвороб [173-174].

#### **5.1 Характеристика стану нейронів ольфакторних цибулин за допомогою дослідження експресії маркеру ACE-2**

У ході ІГХ-дослідження вивчено антигенні властивості нейронів ольфакторних цибулин померлих у різні періоди COVID-19, для чого визначали

середній відсоток ACE-2-позитивних клітин від загальної площі поля зору (Рис. 5.1, Рис. 5.2).

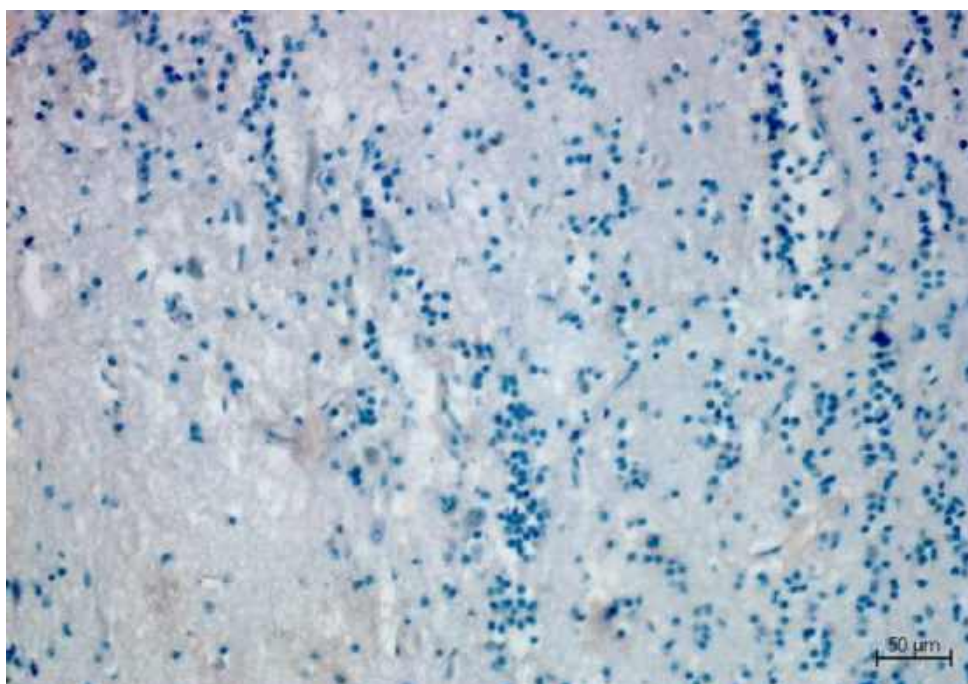


Рис. 5.1. Зріз ольфакторної цибулини померлого у гострому періоді COVID-19 з позитивною реакцією нейронів з антитілами до ACE-2, збільшення  $\times 200$

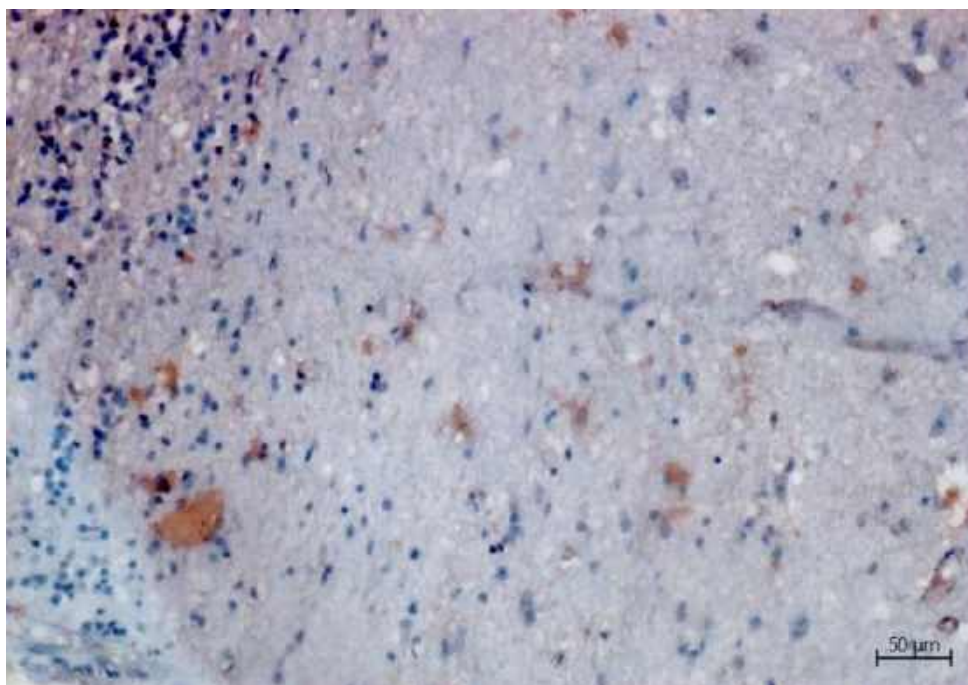


Рис. 5.2. Зріз ольфакторної цибулини померлого у ранньому постгострому періоді COVID-19 з позитивною реакцією нейронів з антитілами до ACE-2, збільшення  $\times 200$

Одержані кількісні показники порівняні з відповідними показниками зразків ольфакторних цибулин померлих групи контролю (Рис. 5.3).

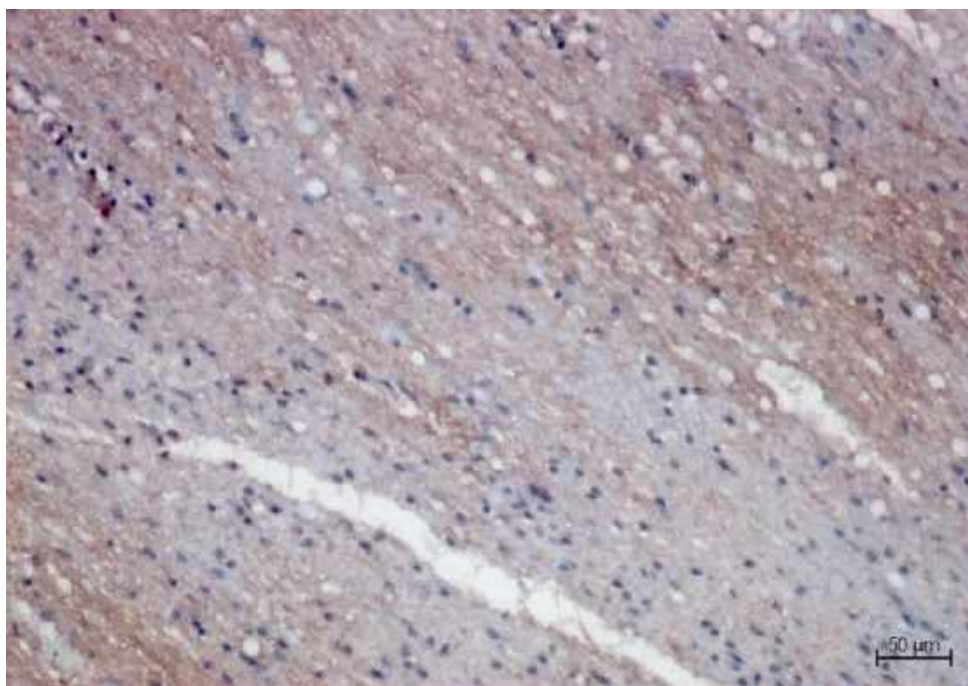


Рис. 5.3. Зріз ольфакторної цибулини померлого групи контролю з позитивною реакцією нейронів з антитілами до АСЕ-2, збільшення  $\times 200$

У ході морфометричного та ІГХ-дослідження встановлено, що експресія маркера АСЕ-2 у нейронах ольфакторних цибулин померлих у різні періоди COVID-19 та у групі контролю суттєво відрізнялася ( $p > 0,100$ ) та зростала відповідно до збільшення тривалості хвороби, а показники померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 чисельно наближались до показників групи контролю.

У результаті проведених досліджень ступінь експресії маркера АСЕ-2 у нейронах ольфакторних цибулин було конвертовано у кількісні показники, тобто у середній відсоток позитивних клітин від загальної площі поля зору. Отже у зразках ольфакторних цибулин померлих у гострому періоді COVID-19 середній відсоток АСЕ-2-позитивних клітин від загальної площі поля зору склав 7,30 (1,00; 14,00) %, у зрізах даного компоненту ольфакторної системи померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 даний показник дорівнював 16,50 (6,00; 31,00) %, а у групі контролю – 65,65 (52,00; 83,00) % (Рис. 5.4).

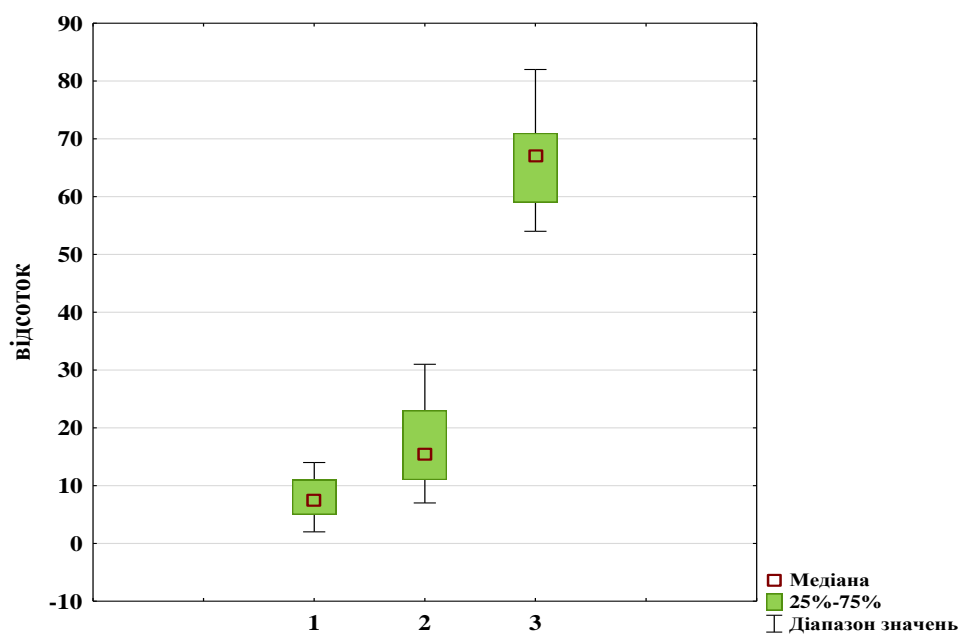


Рис. 5.4. Середній відсоток ACE-2-позитивних клітин:

1 – гострий період;

2 – ранній постгострий період;

3 – група контролю

При проведенні ІГХ-дослідження з метою контролю використовували маркер TuJ-1, який є специфічним для нервових клітин, тому реакція нейронів ольфакторних цибулин з даним маркером є позитивною (Рис. 5.5).

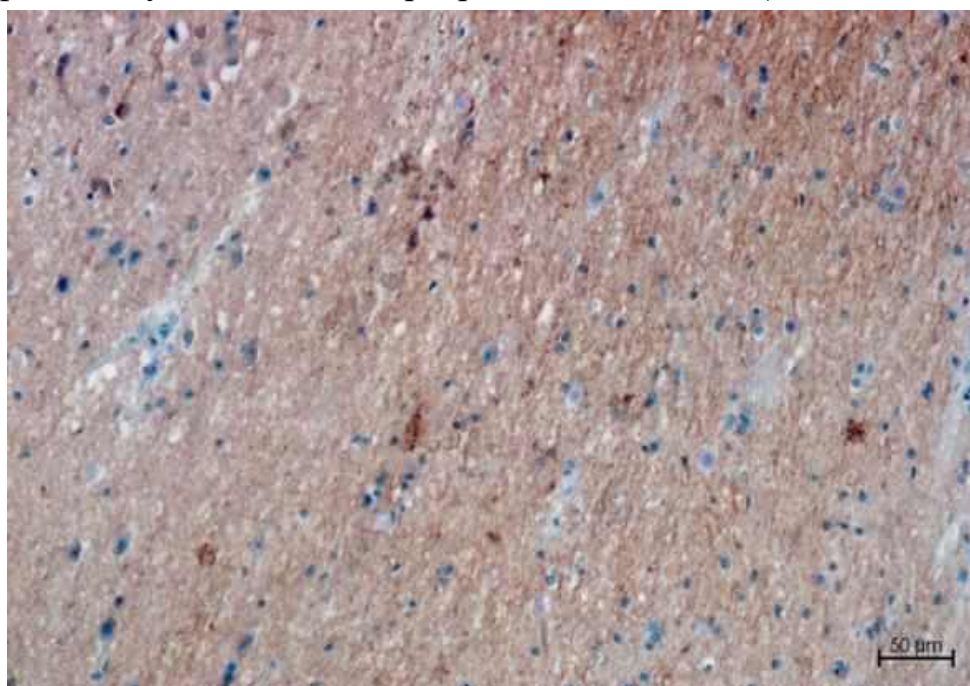


Рис. 5.5. Зріз ольфакторної цибулини померлого групи контролю з позитивною реакцією нейронів з антитілами до TuJ-1, збільшення  $\times 200$

## 5.2 Характеристика стану нейронів ольфакторних цибулин за допомогою дослідження експресії маркеру TMPRSS2

Проведені морфометричне та ІГХ-дослідження освітили антигенні властивості нейронів ольфакторних цибулин померлих у різні періоди COVID-19 щодо взаємодії з маркером TMPRSS2, для чого було підраховано середній відсоток TMPRSS2-позитивних клітин від загальної площі поля зору, а кількісні показники порівняні з відповідними показниками померлих групи контролю.

При дослідженні експресії маркеру TMPRSS2 у нейронах ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 у гострому періоді хвороби середній відсоток TMPRSS2-позитивних клітин від загальної площі поля зору склав 7,05 (1,00; 19,00) %, у ранньому постгострому періоді даний показник дорівнював 12,15 (3,00; 21,00) %, а у групі контролю – 44,20 (32,00; 61,00) %, тобто даний показник збільшувався зі збільшенням тривалості перебігу COVID-19 ( $p < 0,05$ ) (Рис. 5.6).

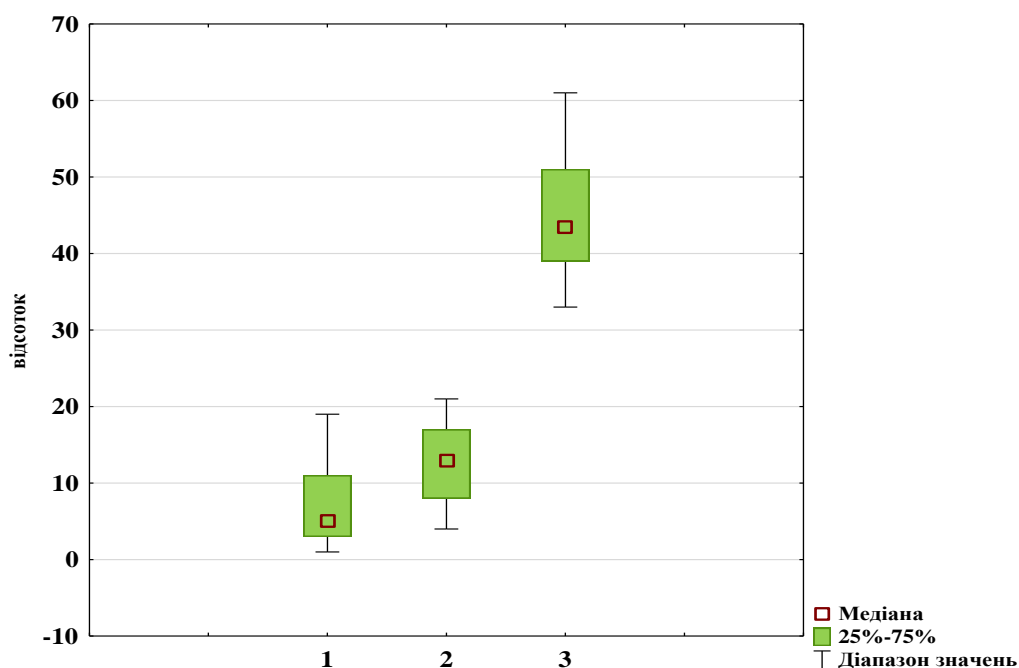


Рис. 5.6. Середній відсоток TMPRSS2-позитивних клітин ольфакторних цибулин:

- 1 – гострий період;
- 2 – ранній постгострий період;
- 3 – група контролю

### 5.3 Взаємозв'язок експресії маркерів ACE-2 та TMPRSS2 при COVID-19

За результатами ІГХ-дослідження експресії маркерів ACE-2 та TMPRSS2 у нейронах ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 у гострому періоді хвороби встановлено кореляцію середнього відсотка ACE-2-позитивних клітин з середнім відсотком TMPRSS2-позитивних клітин цієї ділянки у даному періоді, проте при дослідженні експресії маркеру ACE-2 у нейронах ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 у ранньому постгострому періоді (ACE-2-позитивні клітини у групі контролю наведені вище показники не корелюють ( $p > 0,05$ ) (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

**Середній відсоток ACE-2-позитивних та TMPRSS2-позитивних клітин ольфакторних цибулин залежно від періоду COVID-19 та у групі контролю**

	<b>Середній відсоток ACE-2-позитивних клітин, Me (Q1; Q3)</b>	<b>Середній відсоток TMPRSS2-позитивних клітин, Me (Q1; Q3)</b>
Гострий період	7,30 (1,00; 14,00)	7,05 (1,00; 19,00)
Ранній постгострий період	16,50 (6,00; 31,00)	12,15 (3,00; 21,00)
Група контролю	65,65 (52,00; 83,00)	44,20 (32,00; 61,00)

Однак слід зазначити, що середній відсоток ACE-2-позитивних та TMPRSS2-позитивних клітин ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 є

меншим за середній відсоток таких клітин у ольфакторних цибулинах групи контролю ( $p < 0,05$ ) (Рис. 5.7).

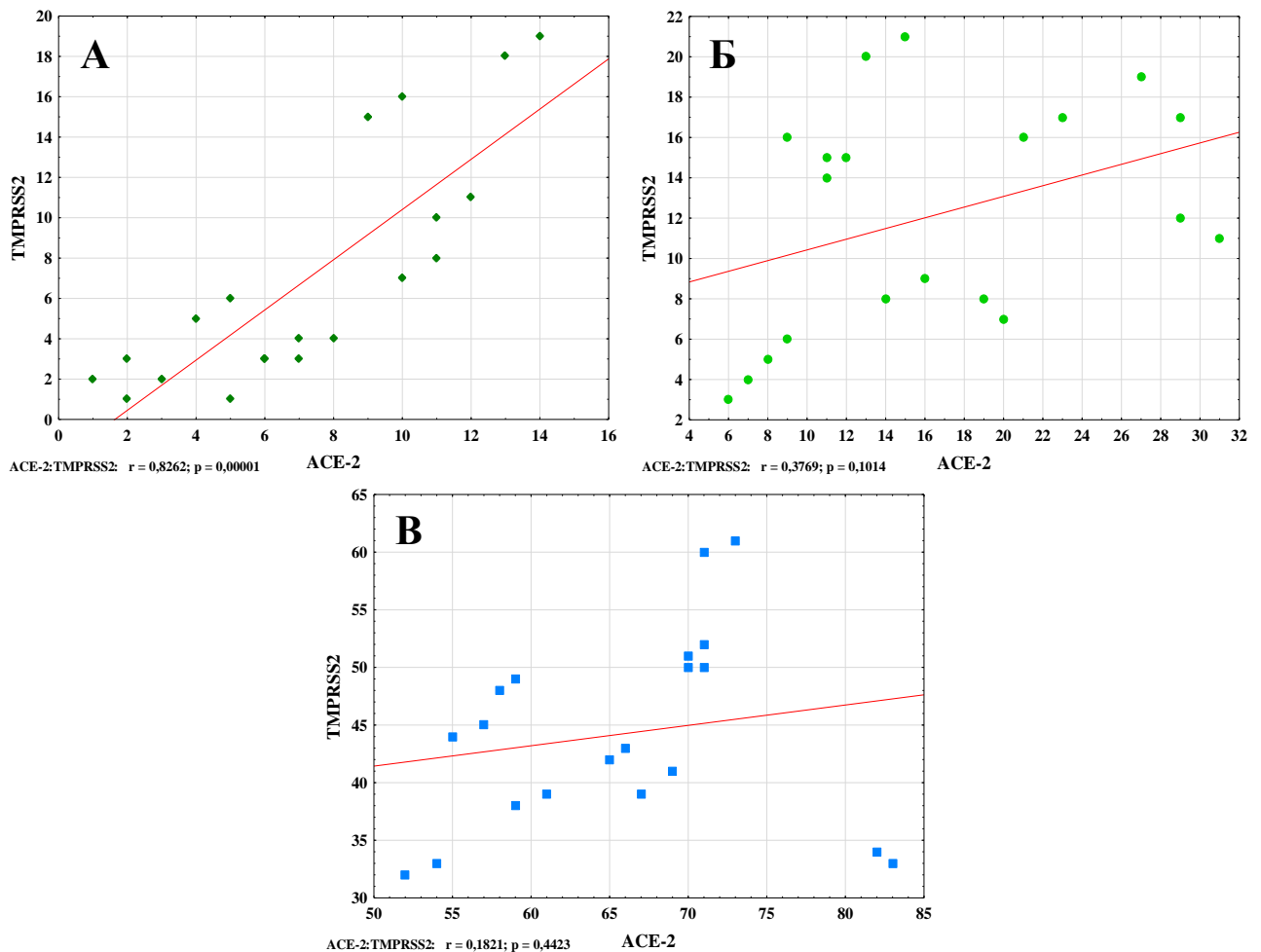


Рис. 5.7. Залежність середнього відсотка ACE-2-позитивних клітин ольфакторних цибулин від середнього відсотка TMPRSS2-позитивних клітин ольфакторних цибулин відповідно до тривалості хвороби та у групі контролю:

- А – гострий період COVID-19;
- Б – ранній постгострий період COVID-19;
- В – група контролю

#### 5.4 Узагальнення результатів дослідження

Отже, при дослідженні експресії маркера ACE-2 у нейронах ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 у гострому періоді хвороби

середній відсоток ACE-2-позитивних клітин від загальної площі поля зору склав 7,30 (1,00; 14,00) %, що корелює з середнім відсотком TMPRSS2-позитивних клітин цієї ділянки у даному періоді – 7,05 (1,00; 19,00) % ( $p < 0,05$ ). Однак при дослідженні експресії маркера ACE-2 у нейронах ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 у ранньому постгострому періоді (ACE-2-позитивні клітини – 16,50 (6,00; 31,00) %, TMPRSS2-позитивні клітини – 12,15 (3,00; 21,00) %) та у групі контролю (ACE-2-позитивні клітини – 65,65 (52,00; 83,00) %, TMPRSS2-позитивні клітини – 44,20 (32,00; 61,00) %) ці показники не корелюють ( $p > 0,05$ ), що може свідчити про нерівномірний розподіл даних клітин у різних ділянках ольфакторних цибулин. Проте середній відсоток ACE-2- та TMPRSS2-позитивних клітин ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 є меншим за середній відсоток таких клітин у ольфакторних цибулинах групи контролю ( $p < 0,05$ ), що підтверджує роль нейронів ольфакторних цибулин в одному з механізмів розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2 з більш тривалим часом їх існування.

#### **Матеріали розділу викладені в наступних виданнях:**

1. Шпонька ІС, Попович ВІ, Усова ОМ, Бондаренко ОО, Гаман ЮВ, Щурук ГЗ. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2. Патологія. 2021;18(3):278-285. DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369

2. Усова ОМ, Бондаренко ОО, Шпонька ІС, Попович ВІ. Гістологічні та імуногістохімічні особливості стану периферичних відділів ольфакторної системи за умов інфікування коронавірусом SARS-COV-2. Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку: матеріали Міжнародної науково-практичної онлайн-конференції (м. Київ, 22-23 квітня 2021 р.). Київ, 2021. С. 29.

3. Шпонька ІС, Усова ОМ, Бондаренко ОО. Гіпотези розвитку ольфакторної дисфункції при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2. Теорія та практика сучасної морфології: матеріали Шостої науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Дніпро, 09-11 листопада 2022 р.). Дніпро, 2022. С. 160-162.

4. Шпонька ІС, Усова ОМ. Роль рівнів ольфакторної системи у розвитку нюхових розладів при COVID-19: морфологічні та імуногістохімічні аспекти. Актуальні проблеми патологічної анатомії: спеціальний випуск Українського науково-медичного молодіжного журналу № 4 (143) з матеріалами науково-практичної конференції, присвяченої 30-річчю заснування Асоціації патологоанатомів України (м. Київ, 05-06 жовтня 2023 р.). Київ, 2023. С. 30-31.

5. Усова ОМ. Про доцільність вивчення ролі рецепторів до TMPRSS2 у розвитку ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019. Теорія та практика сучасної морфології: матеріали Сьомої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Дніпро, 01-03 листопада 2023 р.). Дніпро, 2023. С. 114-115.

## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У ході проведеного дисертаційного дослідження з'ясовано, що неможливо виключити порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами у якості однієї з можливих причин розвитку ольфакторних розладів, так як особливістю вхідних воріт вірусу SARS-CoV-2 є виражений набряк слизової оболонки носової порожнини, спричинений активним перебігом ексудативної фази запалення з різким підвищенням кровонаповнення та проникності стінок судин, а також гіперфункція слизових залоз і, як наслідок, гіперсекреція слизу та назальна обструкція (Рис. 6.1) [73-76, 173].

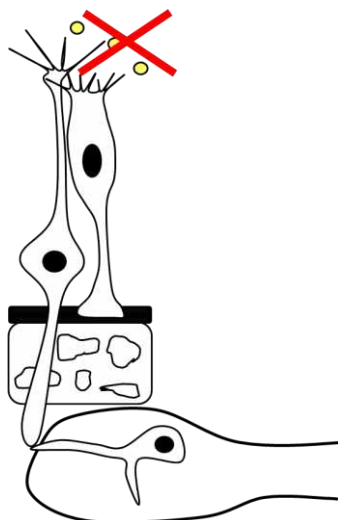


Рис. 6.1. Розвиток ольфакторних розладів шляхом порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами

Однак цей варіант може мати місце лише у випадку транзиторного зниження або втрати ольфакторного сприйняття тривалістю у декілька днів, оскільки описані вище патологічні зміни елементів слизової оболонки носової порожнини є швидкоплинними. У даному випадку не можна назвати наявні кондуктивні ольфакторні розлади специфічними саме для інфікування вірусом SARS-CoV-2 та розвитку COVID-19 [103-108].

У ході дослідження з'ясовано, що середня кількість ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у гострому періоді

хвороби (30,16 (9,00; 62,00)), ранньому постгострому періоді (67,44 (57,50; 76,00)) та групі контролю (71,13 (59,50; 83,50)) корелює з середньою кількістю ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідних груп досліджуваних (гострий період – 30,47 (7,00; 64,50), ранній постгострий період – 68,77 (61,00; 76,50), група контролю – 71,37 (60,50; 82,00)) ( $p < 0,05$ ), а середня кількість TMPRSS2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у ранньому постгострому періоді (129,29 (108,00; 144,50)) та групі контролю (137,57 (113,50; 157,50)) корелює з сумарною середньою кількістю ОМР- та ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідних груп досліджуваних (ранній постгострий період – 136,21 (118,50; 152,50), група контролю – 142,50 (120,00; 164,00)) ( $p < 0,05$ ). Результати, отримані у ході гістологічного, морфометричного та імуногістохімічного досліджень, свідчать про те, що одним зі шляхів розвитку ольфакторних розладів при COVID-19 є руйнування суспендулярних клітин ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини при взаємодії вірусу SARS-CoV-2 з рецепторами ACE-2 та TMPRSS2 і наступною опосередкованою загибеллю ольфакторних рецепторних клітин цієї ділянки унаслідок порушення трофіки та втрати ними опори [173-174] (Рис. 6.2).

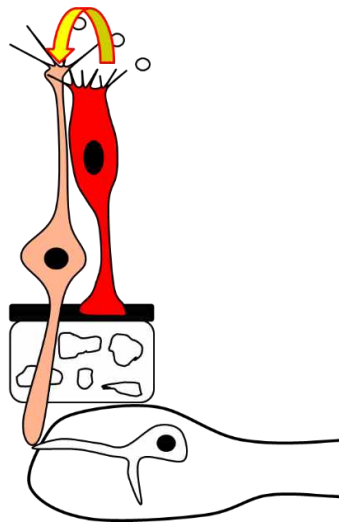


Рис. 6.2. Розвиток ольфакторних розладів шляхом альтерації суспендулярних клітин та вторинного пошкодження ольфакторних рецепторних клітин

У цьому разі ольфакторні розлади є не кондуктивними, а сенсоневральними, однак виходячи з того, що за результатами проведеного дослідження середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у ранньому постгострому періоді (68,77 (61,00; 76,50)) чисельно наближається до такої групи контролю (71,37 (60,50; 82,00)) ( $p < 0,05$ ), не можна відхилити факт оборотності патологічних змін клітин ольфакторного епітелію з відновленням ольфакторної функції упродовж 3-4 тижнів у випадку тимчасової дисфункції ольфакторних рецепторних клітин через ураження ольфакторних війок цих клітин або упродовж декількох місяців у випадку глибокого пошкодження чи руйнування ольфакторних рецепторних клітин, коли їх відновлення потребує більше часу для дозрівання нових дендритів, відтворення нових аксонів та їх проникнення через решітчасту пластинку решітчастої кістки для встановлення синапсів з нейронами ольфакторних цибулин. Однак можливість оновлення ольфакторних рецепторних клітин та терміни цього процесу залежать від площі ураження ольфакторної ділянки слизової оболонки носової порожнини [136-138]. Оскільки за результатами проведеного дослідження середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з лабораторно підтвердженим діагнозом «COVID-19» у гострому (30,47 (7,00; 64,50)) та ранньому постгострому (68,77 (61,00; 76,50)) періодах хвороби та групі контролю (71,37 (60,50; 82,00)) корелює з середньою кількістю TuJ-1-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідних груп досліджуваних (гострий період – 30,42 (8,00; 63,50), ранній постгострий період – 68,10 (59,50; 74,50), група контролю – 71,27 (58,50; 81,50)) ( $p < 0,05$ ), доцільно використовувати маркер TuJ-1 одночасно з маркером ОМР для контролю правильності підрахунку кількості вцілілих ольфакторних рецепторних клітин [173-174].

При дослідженні експресії маркеру ACE-2 у нейронах ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 у гострому періоді хвороби середній відсоток ACE-2-позитивних клітин від загальної площі поля зору (7,30 (1,00; 14,00) %) корелює з середнім відсотком TMPRSS2-позитивних клітин цієї ділянки у

даному періоді (7,05 (1,00; 19,00) %) ( $p < 0,05$ ), тоді як при дослідженні експресії маркерів ACE-2 та TMPRSS2 у нейронах ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 у ранньому постгострому періоді (ACE-2 – 16,50 (6,00; 31,00) %, TMPRSS2 – 12,15 (3,00; 21,00) %) та у групі контролю (ACE-2 – 65,65 (52,00; 83,00) %, TMPRSS2 – 44,20 (32,00; 61,00) %) ці показники не корелюють ( $p > 0,05$ ), що може свідчити про нерівномірний розподіл даних клітин у різних ділянках ольфакторних цибулин. Також середній відсоток ACE-2- та TMPRSS2-позитивних клітин ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 є меншим за середній відсоток таких клітин у ольфакторних цибулинах групи контролю ( $p < 0,05$ ), що підтверджує роль нейронів ольфакторних цибулин в одному з механізмів розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2. Отже, пошкодження або повне зруйнування нейронів ольфакторних цибулин може бути ще однією ланкою у патогенезі виникнення сенсоневральної ольфакторної дисфункції, але зі спотворенням ольфакторного сприйняття (дизосмією) та більшою тривалістю, оскільки процес відновлення нервових клітин є складним та тривалим (Рис. 6.3) [118, 126-132, 173].

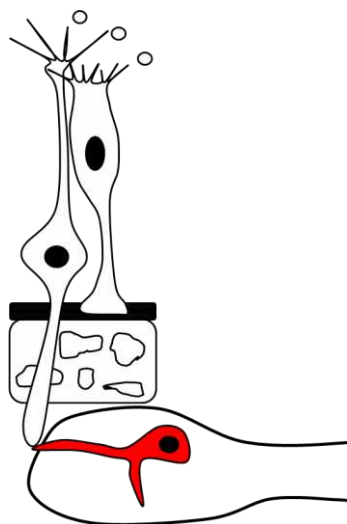


Рис. 6.3. Розвиток ольфакторних розладів шляхом альтерації нейронів ольфакторних цибулин

При виконанні даного дослідження та аналізі отриманих зразків слизової оболонки ольфакторної ділянки носової порожнини виявлені ознаки структурної перебудови, а саме ділянки атрофічних змін, метаплазії одношарового циліндричного епітелію у багат шаровий плоский та склерозування, при чому

середня кількість OMP- та ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих цієї групи корелює з товщиною епітеліального шару (товщина з реструктуризацією – 41,23 мкм, товщина без реструктуризації – 66,55 мкм) ( $p < 0,05$ ). Також середня кількість OMP-позитивних (19,38 (7,50; 32,00)), TuJ-1-позитивних (20,25 (9,00; 34,00)) та ACE-2-позитивних (20,25 (8,50; 33,50)) клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді COVID-19, які мали супутні хвороби, суттєво відрізнялася від такого показника у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді COVID-19 без супутніх хвороб (OMP-позитивні – 36,75 (13,50; 61,50), TuJ-1-позитивні – 37,13 (15,50; 62,50), ACE-2-позитивні – 36,13 (16,50; 60,00)) та була меншою ( $p > 0,100$ ), а середня кількість OMP-позитивних (62,90 (61,00; 64,50)), TuJ-1-позитивних (61,30 (59,50; 62,50)) та ACE-2-позитивних (60,40 (57,50; 63,50)) клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19, які мали супутні хвороби, суттєво відрізнялася від такого показника у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 без супутніх хвороб (OMP-позитивні – 71,80 (66,00; 76,50), TuJ-1-позитивні – 70,60 (65,00; 74,50), ACE-2-позитивні – 69,70 (64,00; 76,00)) та була меншою ( $p > 0,100$ ). Отримані кількісні та якісні характеристики структурних елементів ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини можуть залежати від віку хворого та залежать від пролонгованого впливу зовнішніх та внутрішніх факторів (супутньої патології) на стан цієї ділянки з розвитком дистрофічних, атрофічних, склеротичних та метапластичних змін. Дистрофія та атрофія ольфакторних рецепторних та суспендулярних клітин призводить до зниження їх функціональної спроможності (гіпосмії), а метаплазія клітин ольфакторного епітелію у клітини багат шарового плоского епітелію, які не здатні до взаємодії з одорантами, є причиною повної втрати ольфакторної функції (аносмії) у трансформованій ділянці слизової оболонки. Ольфакторні розлади, які розвиваються за цим механізмом, також є сенсоневральними,

оскільки втрачаються ольфакторні рецепторні клітини, які мали передати сигнал про одорант далі у наступні ланки ольфакторної системи (Рис. 6.4) [79-81, 175].

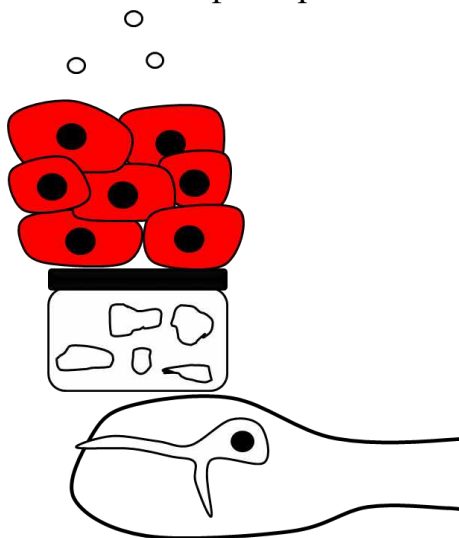


Рис. 6.4. Розвиток ольфакторних розладів шляхом заміщення ольфакторних рецепторних клітин клітинами багатошарового плоского епітелію

Також нами доведено, що наявність супутньої патології не є ключовою та специфічною для розвитку ольфакторних розладів, проте може підсилити їх вираженість та тривалість через реструктуризацію ольфакторної ділянки слизової оболонки носової порожнини [79-81].

Для покращення діагностики ольфакторних розладів при COVID-19, а також прогнозування їх вірогідної тривалості та оборотності необхідно досліджувати не тільки зрізи ольфакторної ділянки слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини, а й зрізи ольфакторних цибулин за допомогою застосування гістологічних, морфометричних та імуногістохімічних методів. При дослідженні варто враховувати характер матеріалу, який може бути отриманим при біопсії чи під час аутопсії. При дослідженні біопсійного матеріалу живих пацієнтів, яке є більш щадним, рекомендовано використовувати зразки слизової оболонки ольфакторної ділянки верхніх відділів носової порожнини, тоді як аутопсійне дослідження дозволяє працювати зі зрізками слизової оболонки ольфакторної ділянки носової порожнини у комплексі зі зрізками ольфакторних цибулин. Імуногістохімічне дослідження зрізів ольфакторної ділянки слизової оболонки носової порожнини вимагає

застосування послідовних зрізів тканин та антитіл до ольфакторного маркерного протеїну (OMP), нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) для ідентифікації та оцінки ольфакторних рецепторних клітин, антитіл до ангіотензин-перетворюючого ензиму (ACE-2) – суспендакулярних клітин. Для імуногістохімічного дослідження зрізів ольфакторних цибулин використовуються послідовні зрізи тканини цих анатомічних структур, а також антитіла до нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) та ангіотензин-перетворюючого ензиму (ACE-2). У якості допоміжного маркеру застосовуються антитіла до трансмембранної серинової протеази-2 (TMPRSS2) (Рис. 6.5).

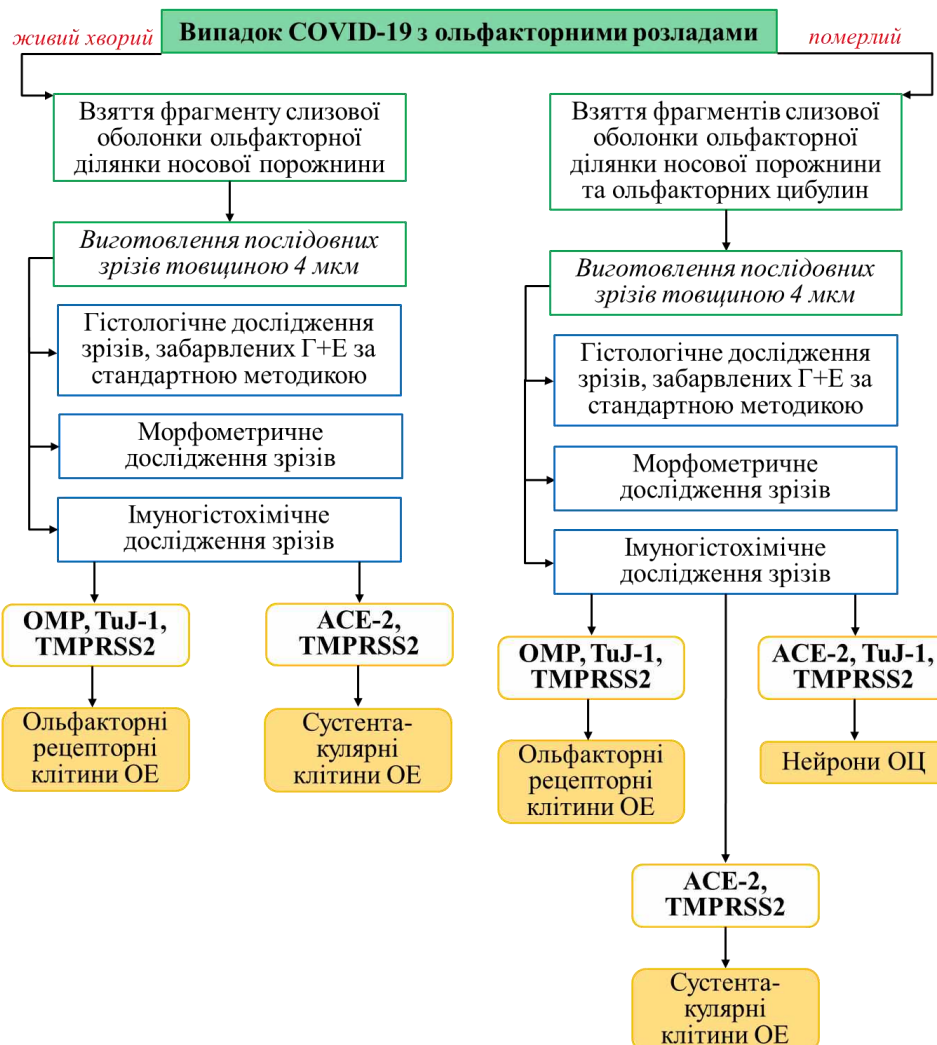


Рис. 6.5. Алгоритм імуногістохімічного дослідження патологічних змін клітин периферичної ланки ольфакторної системи хворого на COVID-19

Примітка. ОЕ – ольфакторний епітелій, ОЦ – ольфакторна цибулина

## ВИСНОВКИ

У даній дисертаційній роботі на основі результатів застосування клінічних, морфометричних, гістологічних, імуногістохімічних та статистичних методів досліджень було теоретично обґрунтовано та практично підтверджено вирішення актуального та важливого наукового завдання медицини сьогодення – поглиблення знань щодо характеру та особливостей розвитку ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі (COVID-19) у різні періоди даного патологічного процесу, а саме у гострому та ранньому постгострому, морфологічних змін у ольфакторній ділянці слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини та ольфакторних цибулинах; визначення ефективності й обґрунтування доцільності застосування специфічних імуногістохімічних маркерів ураження клітин ольфакторного епітелію та ольфакторних цибулин при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2 (OMP, TuJ-1, ACE-2, TMPRSS2); розкриття нових деталей у механізмах ушкодження периферичних відділів ольфакторної системи; прогнозування тривалості існування ольфакторних розладів та оборотності патологічних змін у складових периферичних відділів ольфакторної системи при COVID-19.

1. Ольфакторні розлади, асоційовані з інфікуванням вірусом SARS-CoV-2, можуть визначатися у будь-який період COVID-19 (за даними ретроспективного аналізу медичних карт стаціонарних хворих з лабораторно підтвердженим діагнозом за 2020-2021 роки), але є найбільш виразними у перші тижні даного патологічного процесу, а саме у гострий та ранній постгострий періоди хвороби.

2. Середня кількість OMP-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з лабораторно підтвердженим діагнозом «COVID-19» у гострому періоді хвороби (30,47 (7,00; 64,50) клітин), ранньому постгострому періоді (68,77 (61,00; 76,50) клітин) та групі контролю (71,37 (60,50; 82,00) клітин) корелює з середньою кількістю TuJ-1-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідних груп досліджуваних (гострий період

COVID-19 – 30,42 (8,00; 63,50) клітин, ранній постгострий період – 68,10 (59,50; 74,50) клітин, група контролю - 71,27 (58,50; 81,50) клітин) ( $p < 0,05$ ), що дає змогу використовувати маркер TuJ-1 одночасно з маркером ОМР для контролю правильності підрахунку кількості вцілілих ольфакторних рецепторних клітин. Також середня кількість ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у ранньому постгострому періоді чисельно наближається до такої групи контролю ( $p < 0,05$ ), що свідчить про поступове відновлення структури ольфакторного епітелію, а відповідно і повернення ольфакторного сприйняття.

3. Середня кількість ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у гострому періоді хвороби (30,16 (9,00; 62,00) клітин), ранньому постгострому періоді (67,44 (57,50; 76,00) клітин) та групі контролю (71,13 (59,50; 83,50) клітин) корелює з середньою кількістю ОМР-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідних груп досліджуваних (гострий період COVID-19 – 30,47 (7,00; 64,50) клітин, ранній постгострий період – (68,77 (61,00; 76,50) клітин, група контролю - (71,37 (60,50; 82,00) клітин) ( $p < 0,05$ ), що підтверджує опосередковане руйнування ольфакторних рецепторних клітин шляхом первинного ушкодження суспендакулярних клітин.

4. Середня кількість TMPRSS2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у ранньому постгострому періоді (129,29 (108,00; 144,50) клітин) та групі контролю (137,57 (113,50; 157,50) клітин) корелює з сумарною середньою кількістю ОМР- та ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію відповідних груп досліджуваних (ранній постгострий період – (136,21 (118,50; 152,50) клітин, група контролю - (142,50 (120,00; 164,00) клітин) ( $p < 0,05$ ), що підтверджує наявність рецепторів TMPRSS2 як у ольфакторних рецепторних клітин, так і у суспендакулярних клітин, а також їх сприяння інвазії вірусу SARS-CoV-2.

5. Середня кількість OMP- та ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих з COVID-19 у гострому та ранньому постгострому періодах хвороби не корелює з віком даних померлих ( $p > 0,05$ ), але у групі контролю дані параметри корелюють ( $p < 0,05$ ), що може свідчити про вплив сторонніх факторів на стан цього відділу ольфакторної системи і, як наслідок, існування додаткових механізмів розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2.

6. У 40,00 % померлих з COVID-19 при гістологічному дослідженні зрізів слизової оболонки ольфакторної ділянки носової порожнини наявні ознаки структурної перебудови, а саме ділянки атрофічних змін (середня товщина епітеліального шару в даній групі досліджуваних - 41,23 мкм, тоді як у інфікованих вірусом SARS-CoV-2 без ознак реструктуризації ольфакторного епітелію - 66,55 мкм), метаплазії циліндричного епітелію у багат шаровий плоский (у 18,95 % від загальної кількості померлих з COVID-19) та склерозування, при чому середня кількість OMP- та ACE-2-позитивних клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих цієї групи корелює з товщиною епітеліального шару ( $p < 0,05$ ), що свідчить про розвиток ольфакторних розладів більшої вираженості у хворих, слизова оболонка носової порожнини яких раніше підлягала впливу сторонніх чинників, які спричинили якісні та кількісні зміни її складу.

7. Середня кількість OMP-позитивних (19,38 (7,50; 32,00)), TuJ-1-позитивних 20,25 (9,00; 34,00) та ACE-2-позитивних (20,25 (8,50; 33,50)) клітин у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді COVID-19, які мали супутні хвороби, суттєво відрізнялася від такого показника у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у гострому періоді COVID-19 без супутніх хвороб (OMP-позитивні – 36,75 (13,50; 61,50), TuJ-1-позитивні – (37,13 (15,50; 62,50), ACE-2-позитивні – 36,13 (16,50; 60,00)) та була меншою ( $p > 0,100$ ), а середня кількість OMP-позитивних (62,90 (61,00; 64,50)), TuJ-1-позитивних (61,30 (59,50; 62,50)) та ACE-2-позитивних (60,40 (57,50; 63,50)) клітин у 1 мм

ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19, які мали супутні хвороби, суттєво відрізнялася від такого показника у 1 мм ольфакторного епітелію померлих у ранньому постгострому періоді COVID-19 без супутніх хвороб (OMP-позитивні – 71,80 (66,00; 76,50), TuJ-1-позитивні – 70,60 (65,00; 74,50), ACE-2-позитивні – 69,70 (64,00; 76,00)) та була меншою ( $p > 0,100$ ), що свідчить про вплив супутньої патології на стан складових ольфакторної слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини.

8. Середній відсоток ACE-2-позитивних клітин від загальної площі поля зору при дослідженні ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 у гострому періоді хвороби (7,30 (1,00; 14,00) %) корелює з середнім відсотком TMPRSS2-позитивних клітин цієї ділянки у даному періоді (7,05 (1,00; 19,00) %) ( $p < 0,05$ ), проте у ранньому постгострому періоді (ACE-2-позитивні – 16,50 (6,00; 31,00) %, TMPRSS2-позитивні – 12,15 (3,00; 21,00) %) та у групі контролю (ACE-2-позитивні – 65,65 (52,00; 83,00) %, TMPRSS2-позитивні – 44,20 (32,00; 61,00) %) ці показники не корелюють ( $p > 0,05$ ), що може свідчити про різний розподіл даних клітин у різних ділянках ольфакторних цибулин. Однак середній відсоток ACE-2- та TMPRSS2-позитивних клітин ольфакторних цибулин померлих з COVID-19 є меншим за середній відсоток таких клітин у ольфакторних цибулинах групи контролю ( $p < 0,05$ ), що підтверджує роль нейронів ольфакторних цибулин в одному з механізмів розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні вірусом SARS-CoV-2 з більш тривалим часом їх існування.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для встановлення механізму розвитку та тривалості існування ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу (COVID-19) рекомендовано досліджувати усі відділи ольфакторної системи (зокрема периферичні – ольфакторний епітелій та ольфакторні цибулини) з використанням імуногістохімічного методу та маркерів OMP, TuJ-1, ACE-2 та TMPRSS2 у послідовних зрізах.

2. Для контролю правильності підрахунку кількості вцілілих ольфакторних рецепторних клітин та їх диференціювання з суспендулярними клітинами при дослідженні гістологічних препаратів ольфакторної ділянки слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини рекомендовано використовувати імуногістохімічне дослідження з використанням маркерів OMP та TuJ-1 у послідовних зрізах.

3. Для прогнозування вірогідної тривалості існування ольфакторних розладів при COVID-19 у конкретного хворого необхідно враховувати стан периферичних відділів ольфакторної системи (наявність ознак попередньої реструктуризації тощо) та глибину інвазії вірусу SARS-CoV-2 (наявність ознак залучення нейронів ольфакторних цибулин у патологічний процес).

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) [Internet]. Medscape. 2024 [cited 2024 June 05]. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/2500114-overview>
2. WHO Director-General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020 [Internet]. World Health Organization. 2020 [cited 2024 June 06]. Available from: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>
3. Ma H, Shen L, Sun H, Xu Z, Hou L, Wu S, et al. COVID term: a bilingual terminology for COVID-19. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2021 Aug;21(1):231. DOI: 10.1186/s12911-021-01593-9
4. Bai C, Zhong Q, Gao GF. Overview of SARS-CoV-2 genome-encoded proteins. *Sci China Life Sci*. 2022 Feb;65(2):280-294. DOI: 10.1007/s11427-021-1964-4
5. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic [Internet]. World Health Organization. 2023 [cited 2024 June 06]. Available from: <https://www.who.int/europe/emergencies/situations/covid-19>
6. Sarker R, Roknuzzaman ASM, Nazmunnahar, Shahriar M, Hossain MJ, Islam MR. The WHO has declared the end of pandemic phase of COVID-19: Way to come back in the normal life. *Health Sci Rep*. 2023 Sep 5;6(9):e1544. DOI: 10.1002/hsr2.1544
7. COVID-19 epidemiological update – 17 May 2024. 2024 [cited 2024 June 06]. World Health Organization. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-epidemiological-update-edition-167>
8. Fernández-de-las-Peñas C, Palacios-Ceña D, Gómez-Mayordomo V, Cuadrado ML, Florencio LL. Defining Post-COVID Symptoms (Early post-acute

COVID, Long COVID, Persistent Post-COVID): An Integrative Classification. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021 Mar 18(5):2621. DOI: 10.3390/ijerph18052621

9. Mahase E. Covid-19: What do we know about "long covid"? *BMJ*. 2020 Jul 14:370:m2815. DOI: 10.1136/bmj.m2815

10. Yelin D, Margalit I, Yahav D, Runold M, Bruchfeld J. Long COVID-19- it's not over until? *Clin Microbiol Infect*. 2021 Apr 27(4):506-508. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.12.001

11. Parums DV. Editorial: Long COVID, or Post-COVID Syndrome, and the Global Impact on Health Care. *Med Sci Monit*. 2021 Jun 27(7):e933446. DOI: 10.12659/MSM.933446

12. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol*. 2021 Mar 19(3):141-154. DOI: 10.1038/s41579-020-00459-7

13. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020 Apr 7;323(13):1239-1242. DOI: 10.1001/jama.2020.2648

14. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):507-513. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7

15. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):497-506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5

16. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020 Apr 30;382(18):1708-1720. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032
17. Giacomelli A, Pezzati L, Conti F, Bernacchia D, Siano M, Oreni L, et al. Self-reported Olfactory and Taste Disorders in Patients with Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 Infection: A Cross-sectional Study. *Clin Infect Dis*. 2020 Jul 28;71(15):889-890. DOI: 10.1093/cid/ciaa330
18. Jang Y, Son HJ, Lee S, Lee EJ, Kim TH, Park SY. Olfactory and taste disorder: The first and only sign in a patient with SARS-CoV-2 pneumonia. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2020 Sep;41(9):1103. DOI: 10.1017/ice.2020.151
19. Costa KVT, Carnaúba ATL. Smell and taste disorders: warning signs for SARS-CoV-2 infection. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2020 Jul-Aug;86(4):393-394. DOI: 10.1016/j.bjorl.2020.05.003
20. Spinato G, Fabbris C, Polesel J, Cazzador D, Borsetto D, Hopkins C, et al. Alterations in Smell or Taste in Mildly Symptomatic Outpatients with SARS-CoV-2 Infection. *JAMA*. 2020 May 26;323(20):2089-2090. DOI: 10.1001/jama.2020.6771
21. Chen T, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ*. 2020 Mar 26;368:m1091. DOI: 10.1136/bmj.m1091
22. Shi S, Qin M, Shen B, Cai Y, Liu T, Yang F, et al. Association of Cardiac Injury with Mortality in Hospitalized Patients with COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol*. 2020 Jul 1;5(7):802-810. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.0950
23. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020 Mar 17;323(11):1061-1069. DOI: 10.1001/jama.2020.1585

24. Chen L, Liu S, Tian J, Pan H, Liu Y, Hu J, et al. Disease progression patterns and risk factors associated with mortality in deceased patients with COVID-19 in Hubei Province, China. *Immun Inflamm Dis*. 2020 Dec;8(4):584-594. DOI: 10.1002/iid3.343
25. Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Xia J, Liu H, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med*. 2020 May;8(5):475-481. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5
26. Lu RXZ, Zhao Y, Radisic M. The emerging role of heart-on-a-chip systems in delineating mechanisms of SARS-CoV-2-induced cardiac dysfunction. *Bioeng Transl Med*. 2023 Aug 8;9(3):e10581. DOI: 10.1002/btm2.10581
27. Ñamendys-Silva SA. Respiratory support for patients with COVID-19 infection. *Lancet Respir Med*. 2020 Apr;8(4):e18. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30110-7
28. Pizzolo F, Rigoni AM, De Marchi S, Friso S, Tinazzi E, Sartori G, et al. Deep vein thrombosis in SARS-CoV-2 pneumonia-affected patients within standard care units: Exploring a submerged portion of the iceberg. *Thromb Res*. 2020 Oct;194:216-219. DOI: 10.1016/j.thromres.2020.08.008
29. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1054-1062. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3
30. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020 Mar;579(7798):270-273. DOI: 10.1038/s41586-020-2012-7
31. Bordi L, Nicastrì E, Scorzolini L, Di Caro A, Capobianchi MR, Castilletti C, et al. Differential diagnosis of illness in patients under investigation for the novel

coronavirus (SARS-CoV-2), Italy, February 2020. *Euro Surveill.* 2020 Feb;25(8):2000170. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.8.2000170

32. Konrad R, Eberle U, Dangel A, Treis B, Berger A, Bengs K, et al. Rapid establishment of laboratory diagnostics for the novel coronavirus SARS-CoV-2 in Bavaria, Germany, February 2020. *Euro Surveill.* 2020 Mar;25(9):2000173. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.9.2000173

33. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med.* 2020 Mar 19;382(12):1177-1179. DOI: 10.1056/NEJMc2001737

34. Pan Y, Zhang D, Yang P, Poon LLM, Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect Dis.* 2020 Apr;20(4):411-412. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30113-4

35. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA.* 2020 May 12;323(18):1843-1844. DOI: 10.1001/jama.2020.3786

36. To KK, Tsang OT, Yip CC, Chan KH, Wu TC, Chan JM, et al. Consistent Detection of 2019 Novel Coronavirus in Saliva. *Clin Infect Dis.* 2020 Jul 28;71(15):841-843. DOI: 10.1093/cid/ciaa149

37. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F, et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis.* 2020 Jul 28;71(15):778-785. DOI: 10.1093/cid/ciaa310

38. To KK, Tsang OT, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2020 May;20(5):565-574. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1

39. Croy I, Negoias S, Novakova L, Landis BN, Hummel T. Learning about the functions of the olfactory system from people without a sense of smell. *PLoS One*. 2012;7(3):e33365. DOI: 10.1371/journal.pone.0033365
40. Stevenson RJ. An initial evaluation of the functions of human olfaction. *Chem Senses*. 2010 Jan;35(1):3-20. DOI: 10.1093/chemse/bjp083
41. Smith TD, Bhatnagar KP. Anatomy of the olfactory system. *Handb Clin Neurol*. 2019; 164:17-28. DOI: 10.1016/B978-0-444-63855-7.00002-2
42. Hadley K, Orlandi RR, Fong KJ. Basic anatomy and physiology of olfaction and taste. *Otolaryngol Clin North Am*. 2004 Dec;37(6):1115-26. DOI: 10.1016/j.otc.2004.06.009
43. Dikeçligil GN, Gottfried JA. What Does the Human Olfactory System Do, and How Does It Do It? *Annu Rev Psychol*. 2024 Jan 18;75:155-181. DOI: 10.1146/annurev-psych-042023-101155
44. Butowt R, von Bartheld CS. Anosmia in COVID-19: Underlying Mechanisms and Assessment of an Olfactory Route to Brain Infection. *Neuroscientist*. 2021 Dec;27(6):582-603. DOI: 10.1177/1073858420956905
45. Li W, Li M, Ou G. COVID-19, cilia, and smell. *FEBS J*. 2020 Sep;287(17):3672-3676. DOI: 10.1111/febs.15491
46. Strotmann J, Breer H. Internalization of odorant-binding proteins into the mouse olfactory epithelium. *Histochem Cell Biol*. 2011 Sep;136(3):357-69. DOI: 10.1007/s00418-011-0850-y
47. Kay LM. Olfactory system oscillations across phyla. *Curr Opin Neurobiol*. 2015 Apr;31:141-7. DOI: 10.1016/j.conb.2014.10.004
48. Doty RL. The olfactory system and its disorders. *Semin Neurol*. 2009 Feb;29(1):74-81. DOI: 10.1055/s-0028-1124025

49. Yousem DM, Oguz KK, Li C. Imaging of the olfactory system. *Semin Ultrasound CT MR*. 2001 Dec;22(6):456-72. DOI: 10.1016/s0887-2171(01)90001-0

50. Li Z, Wei M, Shen W, Kulaga H, Chen M, Lane AP. Sox2 regulates globose basal cell regeneration in the olfactory epithelium. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2022 Mar;12(3):286-292. DOI: 10.1002/alr.22890

51. Louie JD, Bromberg BH, Zunitch MJ, Schwob JE. Horizontal basal cells self-govern their neurogenic potential during injury-induced regeneration of the olfactory epithelium. *Development*. 2023 Jun 15;150(12):dev201552. DOI: 10.1242/dev.201552

52. Wu Q, Xu X, Miao X, Bao X, Li X, Xiang L, et al. YAP signaling in horizontal basal cells promotes the regeneration of olfactory epithelium after injury. *Stem Cell Reports*. 2022 Mar 8;17(3):664-677. DOI: 10.1016/j.stemcr.2022.01.007

53. Schwob JE, Jang W, Holbrook EH, Lin B, Herrick DB, Peterson JN, et al. Stem and progenitor cells of the mammalian olfactory epithelium: Taking poietic license. *J Comp Neurol*. 2017 Mar 1;525(4):1034-1054. DOI: 10.1002/cne.24105

54. Joiner AM, Green WW, McIntyre JC, Allen BL, Schwob JE, Martens JR. Primary Cilia on Horizontal Basal Cells Regulate Regeneration of the Olfactory Epithelium. *J Neurosci*. 2015 Oct 7;35(40):13761-72. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1708-15.2015

55. Ijichi C, Kondo K, Kobayashi M, Shirasawa A, Shimbo K, Nakata K, et al. Lipocalin 15 in the olfactory mucus is a biomarker for Bowman's gland activity. *Sci Rep*. 2022 Jun 24;12(1):9984. DOI: 10.1038/s41598-022-13464-y

56. Solbu TT, Holen T. Aquaporin pathways and mucin secretion of Bowman's glands might protect the olfactory mucosa. *Chem Senses*. 2012 Jan;37(1):35-46. DOI: 10.1093/chemse/bjr063

57. Imai T. Construction of functional neuronal circuitry in the olfactory bulb. *Semin Cell Dev Biol*. 2014 Nov;35:180-8. DOI: 10.1016/j.semcdb.2014.07.012

58. Scott JW, Wellis DP, Riggott MJ, Buonviso N. Functional organization of the main olfactory bulb. *Microsc Res Tech*. 1993 Feb 1;24(2):142-56. DOI: 10.1002/jemt.1070240206
59. Friedrich RW. Olfactory neuroscience: beyond the bulb. *Curr Biol*. 2011 Jun 7;21(11):R438-40. DOI: 10.1016/j.cub.2011.04.036
60. Green WW, Boyes K, McFadden C, Daghfous G, Auclair F, Zhang H, et al. Odorant organization in the olfactory bulb of the sea lamprey. *J Exp Biol*. 2017 Apr 1;220(Pt 7):1350-1359. DOI: 10.1242/jeb.150466
61. Khan AG, Parthasarathy K, Bhalla US. Odor representations in the mammalian olfactory bulb. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2010 Sep-Oct;2(5):603-611. DOI: 10.1002/wsbm.85
62. Mandairon N, Linster C. Odor perception and olfactory bulb plasticity in adult mammals. *J Neurophysiol*. 2009 May;101(5):2204-9. DOI: 10.1152/jn.00076.2009
63. Hoffman HJ, Ishii EK, MacTurk RH. Age-related changes in the prevalence of smell/taste problems among the United States adult population. Results of the 1994 disability supplement to the National Health Interview Survey (NHIS). *Ann N Y Acad Sci*. 1998 Nov 30;855:716-22. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb10650.x
64. Wysocki CJ, Gilbert AN. National Geographic Smell Survey. Effects of age are heterogenous. *Ann N Y Acad Sci*. 1989;561:12-28. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1989.tb20966.x
65. Murphy C, Schubert CR, Cruickshanks KJ, Klein BE, Klein R, Nondahl DM. Prevalence of olfactory impairment in older adults. *JAMA*. 2002 Nov 13;288(18):2307-12. DOI: 10.1001/jama.288.18.2307
66. Brämerson A, Johansson L, Ek L, Nordin S, Bende M. Prevalence of olfactory dysfunction: the skövde population-based study. *Laryngoscope*. 2004 Apr;114(4):733-7. DOI: 10.1097/00005537-200404000-00026

67. Landis BN, Konnerth CG, Hummel T. A study on the frequency of olfactory dysfunction. *Laryngoscope*. 2004 Oct;114(10):1764-9. DOI: 10.1097/00005537-200410000-00017

68. Schemper T, Voss S, Cain WS. Odor identification in young and elderly persons: sensory and cognitive limitations. *J Gerontol*. 1981 Jul;36(4):446-52. DOI: 10.1093/geronj/36.4.446

69. Doty RL, Shaman P, Applebaum SL, Giberson R, Siksorski L, Rosenberg L. Smell identification ability: changes with age. *Science*. 1984 Dec 21;226(4681):1441-3. DOI: 10.1126/science.6505700

70. Ship JA, Weiffenbach JM. Age, gender, medical treatment, and medication effects on smell identification. *J Gerontol*. 1993 Jan;48(1):M26-32. DOI: 10.1093/geronj/48.1.m26

71. Hummel T, Konnerth CG, Rosenheim K, Kobal G. Screening of olfactory function with a four-minute odor identification test: reliability, normative data, and investigations in patients with olfactory loss. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2001 Oct;110(10):976-81. DOI: 10.1177/000348940111001015

72. Vennemann MM, Hummel T, Berger K. The association between smoking and smell and taste impairment in the general population. *J Neurol*. 2008 Aug;255(8):1121-6. doi: 10.1007/s00415-008-0807-9

73. Chang K, Zaikos T, Kilner-Pontone N, Ho CY. Mechanisms of COVID-19-associated olfactory dysfunction. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2024 Apr;50(2):e12960. DOI: 10.1111/nan.12960

74. Kattar N, Do TM, Unis GD, Migneron MR, Thomas AJ, McCoul ED. Olfactory Training for Postviral Olfactory Dysfunction: Systematic Review and Meta-analysis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2021 Feb;164(2):244-254. DOI: 10.1177/0194599820943550

75. Migneault-Bouchard C, Hsieh JW, Hugentobler M, Frasnelli J, Landis BN. Chemosensory decrease in different forms of olfactory dysfunction. *J Neurol*. 2020 Jan;267(1):138-143. DOI: 10.1007/s00415-019-09564-x
76. Pinto JM. Olfaction. *Proc Am Thorac Soc*. 2011 Mar;8(1):46-52. DOI: 10.1513/pats.201005-035RN
77. Hummel T, Liu DT, Müller CA, Stuck BA, Welge-Lüssen A, Hähner A. Olfactory Dysfunction: Etiology, Diagnosis, and Treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 2023 Mar 13;120(9):146-154. DOI: 10.3238/arztebl.m2022.0411
78. Hummel T, Power Guerra N, Gunder N, Hähner A, Menzel S. Olfactory Function and Olfactory Disorders. *Laryngorhinootologie*. 2023 May;102(1):67-92. DOI: 10.1055/a-1957-3267
81. McGann JP. Poor human olfaction is a 19th-century myth. *Science*. 2017 May 12;356(6338):eaam7263. DOI: 10.1126/science.aam7263
82. Durante MA, Kurtenbach S, Sargi ZB, Harbour JW, Choi R, Kurtenbach S, et al. Single-cell analysis of olfactory neurogenesis and differentiation in adult humans. *Nat Neurosci*. 2020 Mar;23(3):323-326. DOI: 10.1038/s41593-020-0587-9
83. Schäfer L, Schriever VA, Croy I. Human olfactory dysfunction: causes and consequences. *Cell Tissue Res*. 2021 Jan;383(1):569-579. DOI: 10.1007/s00441-020-03381-9
84. Pinto JM. Olfaction. *Proc Am Thorac Soc*. 2011 Mar;8(1):46-52. DOI: 10.1513/pats.201005-035RN
85. Zhao Q, Jiang C, Zhao L, Dai X, Yi S. Unleashing Axonal Regeneration Capacities: Neuronal and Non-neuronal Changes After Injuries to Dorsal Root Ganglion Neuron Central and Peripheral Axonal Branches. *Mol Neurobiol*. 2024 Jan;61(1):423-433. DOI: 10.1007/s12035-023-03590-7

86. Gallo G. The bioenergetics of neuronal morphogenesis and regeneration: Frontiers beyond the mitochondrion. *Dev Neurobiol.* 2020 Jul;80(7-8):263-276. DOI: 10.1002/dneu.22776
87. Enamorado M, Kulalert W, Han SJ, Rao I, Delaleu J, Link VM, et al. Immunity to the microbiota promotes sensory neuron regeneration. *Cell.* 2023 Feb 2;186(3):607-620.e17. DOI: 10.1016/j.cell.2022.12.037
88. Varadarajan SG, Hunyara JL, Hamilton NR, Kolodkin AL, Huberman AD. Central nervous system regeneration. *Cell.* 2022 Jan 6;185(1):77-94. DOI: 10.1016/j.cell.2021.10.029
89. Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients with Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol.* 2020 Jun 1;77(6):683-690. DOI: 10.1001/jamaneurol.2020.1127
90. Agyeman AA, Chin KL, Landersdorfer CB, Liew D, Ofori-Asenso R. Smell and Taste Dysfunction in Patients with COVID-19: A Systematic Review and Meta-analysis. *Mayo Clin Proc.* 2020 Aug;95(8):1621-1631. DOI: 10.1016/j.mayocp.2020.05.030
91. Hannum ME, Ramirez VA, Lipson SJ, Herriman RD, Toskala AK, Lin C, et al. Objective Sensory Testing Methods Reveal a Higher Prevalence of Olfactory Loss in COVID-19-Positive Patients Compared to Subjective Methods: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Chem Senses.* 2020 Dec 5;45(9):865-874. DOI: 10.1093/chemse/bjaa064
92. Passarelli PC, Lopez MA, Mastandrea Bonaviri GN, Garcia-Godoy F, D'Addona A. Taste and smell as chemosensory dysfunctions in COVID-19 infection. *Am J Dent.* 2020 Jun;33(3):135-137. PMID: 32470238

93. Printza A, Constantinidis J. The role of self-reported smell and taste disorders in suspected COVID-19. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2020 Sep;277(9):2625-2630. DOI: 10.1007/s00405-020-06069-6
94. Sedaghat AR, Gengler I, Speth MM. Olfactory Dysfunction: A Highly Prevalent Symptom of COVID-19 With Public Health Significance. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020 Jul;163(1):12-15. DOI: 10.1177/0194599820926464
95. Tong JY, Wong A, Zhu D, Fastenberg JH, Tham T. The Prevalence of Olfactory and Gustatory Dysfunction in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020 Jul;163(1):3-11. DOI: 10.1177/0194599820926473
96. von Bartheld CS, Hagen MM, Butowt R. Prevalence of Chemosensory Dysfunction in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis Reveals Significant Ethnic Differences. *ACS Chem Neurosci*. 2020 Oct 7;11(19):2944-2961. DOI: 10.1021/acchemneuro.0c00460
97. Bryche B, St Albin A, Murri S, Lacôte S, Pulido C, Ar Guilh M, et al. Massive transient damage of the olfactory epithelium associated with infection of sustentacular cells by SARS-CoV-2 in golden Syrian hamsters. *Brain Behav Immun*. 2020 Oct;89:579-586. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.06.032
98. Vaira LA, Salzano G, Fois AG, Piombino P, De Riu G. Potential pathogenesis of ageusia and anosmia in COVID-19 patients. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2020 Sep;10(9):1103-1104. DOI: 10.1002/alr.22593
99. Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *Int J Oral Sci*. 2020 Feb 24;12(1):8. DOI: 10.1038/s41368-020-0074-x
100. Cooper KW, Brann DH, Farruggia MC, Bhutani S, Pellegrino R, Tsukahara T, et al. COVID-19 and the Chemical Senses: Supporting Players Take

Center Stage. *Neuron*. 2020 Jul 22;107(2):219-233. DOI: 10.1016/j.neuron.2020.06.032

101. Ochani R, Asad A, Yasmin F, Shaikh S, Khalid H, Batra S, et al. COVID-19 pandemic: from origins to outcomes. A comprehensive review of viral pathogenesis, clinical manifestations, diagnostic evaluation, and management. *Infez Med*. 2021 Mar 1;29(1):20-36. PMID: 33664170

102. Chams N, Chams S, Badran R, Shams A, Araji A, Raad M, et al. COVID-19: A Multidisciplinary Review. *Front Public Health*. 2020 Jul 29;8:383. DOI: 10.3389/fpubh.2020.00383

103. Eliezer M, Hautefort C, Hamel AL, Verillaud B, Herman P, Houdart E, et al. Sudden and Complete Olfactory Loss of Function as a Possible Symptom of COVID-19. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020 Jul 1;146(7):674-675. DOI: 10.1001/jamaoto.2020.0832

104. Gane SB, Kelly C, Hopkins C. Isolated sudden onset anosmia in COVID-19 infection. A novel syndrome? *Rhinology*. 2020 Jun 1;58(3):299-301. DOI: 10.4193/Rhin20.114

105. Qiu C, Cui C, Hautefort C, Haehner A, Zhao J, Yao Q, et al. Olfactory and Gustatory Dysfunction as an Early Identifier of COVID-19 in Adults and Children: An International Multicenter Study. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020 Oct;163(4):714-721. DOI: 10.1177/0194599820934376

106. Vaira LA, Salzano G, Deiana G, De Riu G. Anosmia and Ageusia: Common Findings in COVID-19 Patients. *Laryngoscope*. 2020 Jul;130(7):1787. DOI: 10.1002/lary.28692

107. Xydakis MS, Dehgani-Mobaraki P, Holbrook EH, Geisthoff UW, Bauer C, Hautefort C, et al. Smell and taste dysfunction in patients with COVID-19. *Lancet Infect Dis*. 2020 Sep;20(9):1015-1016. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30293-0

108. Naeini AS, Karimi-Galougahi M, Raad N, Ghorbani J, Taraghi A, Haseli S, et al. Paranasal sinuses computed tomography findings in anosmia of COVID-19. *Am J Otolaryngol*. 2020 Nov-Dec;41(6):102636. DOI: 10.1016/j.amjoto.2020.102636

109. Baig AM, Khaleeq A, Ali U, Syeda H. Evidence of the COVID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue Distribution, Host-Virus Interaction, and Proposed Neurotropic Mechanisms. *ACS Chem Neurosci*. 2020 Apr 1;11(7):995-998. DOI: 10.1021/acchemneuro.0c00122

110. Meinhardt J, Radke J, Dittmayer C, Franz J, Thomas C, Mothes R, et al. Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. *Nat Neurosci*. 2021 Feb;24(2):168-175. DOI: 10.1038/s41593-020-00758-5

111. Sia SF, Yan LM, Chin AWH, Fung K, Choy KT, Wong AYL, et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature*. 2020 Jul;583(7818):834-838. DOI: 10.1038/s41586-020-2342-5

112. Wang L, Shen Y, Li M, Chuang H, Ye Y, Zhao H, et al. Clinical manifestations and evidence of neurological involvement in 2019 novel coronavirus SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol*. 2020 Oct;267(10):2777-2789. DOI: 10.1007/s00415-020-09974-2

113. Liang F. Sustentacular Cell Enwrapment of Olfactory Receptor Neuronal Dendrites: An Update. *Genes (Basel)*. 2020 Apr 30;11(5):493. DOI: 10.3390/genes11050493

114. Dell'Era V, Farri F, Garzaro G, Gatto M, Aluffi Valletti P, Garzaro M. Smell and taste disorders during COVID-19 outbreak: Cross-sectional study on 355 patients. *Head Neck*. 2020 Jul;42(7):1591-1596. DOI: 10.1002/hed.26288

115. Lee Y, Min P, Lee S, Kim SW. Prevalence and Duration of Acute Loss of Smell or Taste in COVID-19 Patients. *J Korean Med Sci*. 2020 May 11;35(18):e174. DOI: 10.3346/jkms.2020.35.e174

116. Sayin I, Yazici ZM. Taste and Smell Impairment in SARS-CoV-2 Recovers Early and Spontaneously: Experimental Data Strongly Linked to Clinical Data. *ACS Chem Neurosci*. 2020 Jul 15;11(14):2031-2033. DOI: 10.1021/acchemneuro.0c00296

117. Vaira LA, Deiana G, Fois AG, Pirina P, Madeddu G, De Vito A, et al. Objective evaluation of anosmia and ageusia in COVID-19 patients: Single-center experience on 72 cases. *Head Neck*. 2020 Jun;42(6):1252-1258. DOI: 10.1002/hed.26204

118. Butowt R, Bilinska K. SARS-CoV-2: Olfaction, Brain Infection, and the Urgent Need for Clinical Samples Allowing Earlier Virus Detection. *ACS Chem Neurosci*. 2020 May 6;11(9):1200-1203. DOI: 10.1021/acchemneuro.0c00172

119. Soler ZM, Patel ZM, Turner JH, Holbrook EH. A primer on viral-associated olfactory loss in the era of COVID-19. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2020 Jul;10(7):814-820. DOI: 10.1002/alr.22578

120. Brann DH, Tsukahara T, Weinreb C, Lipovsek M, Van den Berge K, Gong B, et al. Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system suggests mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia. *Sci Adv*. 2020 Jul 31;6(31):eabc5801. DOI: 10.1126/sciadv.abc5801

121. Chen M, Shen W, Rowan NR, Kulaga H, Hillel A, Ramanathan M Jr, et al. Elevated ACE-2 expression in the olfactory neuroepithelium: implications for anosmia and upper respiratory SARS-CoV-2 entry and replication. *Eur Respir J*. 2020 Sep 24;56(3):2001948. DOI: 10.1183/13993003.01948-2020

122. Fodouliau L, Tuberosa J, Rossier D, Boillat M, Kan C, Pauli V, et al. SARS-CoV-2 Receptors and Entry Genes Are Expressed in the Human Olfactory Neuroepithelium and Brain. *iScience*. 2020 Dec 18;23(12):101839. DOI: 10.1016/j.isci.2020.101839

123. Gupta K, Mohanty SK, Mittal A, Kalra S, Kumar S, Mishra T, et al. The Cellular basis of loss of smell in 2019-nCoV-infected individuals. *Brief Bioinform.* 2021 Mar 22;22(2):873-881. DOI: 10.1093/bib/bbaa168

124. Klingenstein M, Klingenstein S, Neckel PH, Mack AF, Wagner AP, Kleger A, et al. Evidence of SARS-CoV2 Entry Protein ACE2 in the Human Nose and Olfactory Bulb. *Cells Tissues Organs.* 2020;209(4-6):155-164. DOI: 10.1159/000513040

125. Ziegler CGK, Allon SJ, Nyquist SK, Mbanjo IM, Miao VN, Tzouanas CN, et al. 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.* 2020 May 28;181(5):1016-1035.e19. DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.035

126. Aragão MFVV, Leal MC, Cartaxo Filho OQ, Fonseca TM, Valença MM. Anosmia in COVID-19 Associated with Injury to the Olfactory Bulbs Evident on MRI. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2020 Sep;41(9):1703-1706. DOI: 10.3174/ajnr.A6675

127. Briguglio M, Bona A, Porta M, Dell'Osso B, Pregliasco FE, Banfi G. Disentangling the Hypothesis of Host Dysosmia and SARS-CoV-2: The Bait Symptom That Hides Neglected Neurophysiological Routes. *Front Physiol.* 2020 Jun 5;11:671. DOI: 10.3389/fphys.2020.00671

128. DosSantos MF, Devalle S, Aran V, Capra D, Roque NR, Coelho-Aguiar JM, et al. Neuromechanisms of SARS-CoV-2: A Review. *Front Neuroanat.* 2020 Jun 16;14:37. DOI: 10.3389/fnana.2020.00037

129. Gilani S, Roditi R, Naraghi M. COVID-19 and anosmia in Tehran, Iran. *Med Hypotheses.* 2020 Aug;141:109757. DOI: 10.1016/j.mehy.2020.109757

130. Karimi-Galougahi M, Yousefi-Koma A, Bakhshayeshkaram M, Raad N, Haseli S. 18FDG PET/CT Scan Reveals Hypoactive Orbitofrontal Cortex in Anosmia of COVID-19. *Acad Radiol.* 2020 Jul;27(7):1042-1043. DOI: 10.1016/j.acra.2020.04.030

131. Li Z, Liu T, Yang N, Han D, Mi X, Li Y, et al. Neurological manifestations of patients with COVID-19: potential routes of SARS-CoV-2 neuroinvasion from the periphery to the brain. *Front Med.* 2020 Oct;14(5):533-541. DOI: 10.1007/s11684-020-0786-5

132. Politi LS, Salsano E, Grimaldi M. Magnetic Resonance Imaging Alteration of the Brain in a Patient With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and Anosmia. *JAMA Neurol.* 2020 Aug 1;77(8):1028-1029. DOI: 10.1001/jamaneurol.2020.2125

133. Bao L, Deng W, Huang B, Gao H, Liu J, Ren L, et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice. *Nature.* 2020 Jul;583(7818):830-833. DOI: 10.1038/s41586-020-2312-y

134. Sun J, Zhuang Z, Zheng J, Li K, Wong RL, Liu D, et al. Generation of a Broadly Useful Model for COVID-19 Pathogenesis, Vaccination, and Treatment. *Cell.* 2020 Aug 6;182(3):734-743.e5. DOI: 10.1016/j.cell.2020.06.010

135. Sun SH, Chen Q, Gu HJ, Yang G, Wang YX, Huang XY, et al. A Mouse Model of SARS-CoV-2 Infection and Pathogenesis. *Cell Host Microbe.* 2020 Jul 8;28(1):124-133.e4. DOI: 10.1016/j.chom.2020.05.020

136. Jia C, Roman C, Hegg CC. Nickel sulfate induces location-dependent atrophy of mouse olfactory epithelium: protective and proliferative role of purinergic receptor activation. *Toxicol Sci.* 2010 Jun;115(2):547-56. DOI: 10.1093/toxsci/kfq071

137. Schwob JE. Neural regeneration and the peripheral olfactory system. *Anat Rec.* 2002 Feb 15;269(1):33-49. DOI: 10.1002/ar.10047

138. Bilinska K, Jakubowska P, Von Bartheld CS, Butowt R. 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 Chem Neurosci.* 2020 Jun 3;11(11):1555-1562. DOI: 10.1021/acchemneuro.0c00210

139. Nakashima N, Nakashima A, Nakashima K, Takano M. Olfactory marker protein contains a leucine-rich domain in the  $\Omega$ -loop important for nuclear export. *Mol Brain*. 2022 Nov 4;15(1):89. DOI: 10.1186/s13041-022-00973-0

140. Dibattista M, Al Koborssy D, Genovese F, Reisert J. The functional relevance of olfactory marker protein in the vertebrate olfactory system: a never-ending story. *Cell Tissue Res*. 2021 Jan;383(1):409-427. DOI: 10.1007/s00441-020-03349-9

141. Jung AY, Kim YH. Reversal of Olfactory Disturbance in Allergic Rhinitis Related to OMP Suppression by Intranasal Budesonide Treatment. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2020 Jan;12(1):110-124. DOI: 10.4168/aair.2020.12.1.110

142. Nakashima N, Nakashima K, Nakashima A, Takano M. Olfactory marker protein is unlikely to be cleaved by calpain 5. *Mol Brain*. 2022 Oct 29;15(1):87. DOI: 10.1186/s13041-022-00971-2

143. Gavid M, Coulomb L, Thomas J, Aouimeur I, Verhoeven P, Mentek M, et al. Technique of flat-mount immunostaining for mapping the olfactory epithelium and counting the olfactory sensory neurons. *PLoS One*. 2023 Jan 17;18(1):e0280497. DOI: 10.1371/journal.pone.0280497

144. Mahakizadeh S, Mokhtari T, Navaee F, Poorhassan M, Tajik A, Hassanzadeh G. Effects of chronic hypoxia on the expression of seladin-1/Tuj1 and the number of dark neurons of hippocampus. *J Chem Neuroanat*. 2020 Jan 9;104:101744. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2020.101744

145. Zhao HY, Zhang ST, Cheng X, Li HM, Zhang L, He H, et al. Long non-coding RNA GAS5 promotes PC12 cells differentiation into Tuj1-positive neuron-like cells and induces cell cycle arrest. *Neural Regen Res*. 2019 Dec;14(12):2118-2125. DOI: 10.4103/1673-5374.262592

146. Peng J, He J, Lin L, Li Y, Xia Y. Neural Stem Cell Extracellular Vesicles Carrying YBX1 Inhibited Neuronal Pyroptosis Through Increasing m6A-modified

GPR30 Stability and Expression in Ischemic Stroke. *Transl Stroke Res.* 2023 Nov 15. DOI: 10.1007/s12975-023-01210-z

147. Nadal-Nicolás FM, Galindo-Romero C, Lucas-Ruiz F, Marsh-Amstrong N, Li W, Vidal-Sanz M, et al. Pan-retinal ganglion cell markers in mice, rats, and rhesus macaques. *Zool Res.* 2023 Jan 18;44(1):226-248. DOI: 10.24272/j.issn.2095-8137.2022.308

148. Ojha P, Dixit A. Olfactory training for olfactory dysfunction in COVID-19: A promising mitigation amidst looming neurocognitive sequelae of the pandemic. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2022 Apr;49(4):462-473. DOI: 10.1111/1440-1681.13626

149. Khurana K, Singh CV. Management of Anosmia in COVID-19: A Comprehensive Review. *Cureus.* 2022 Oct 18;14(10):e30425. DOI: 10.7759/cureus.30425

150. Khani E, Khiali S, Beheshtirouy S, Entezari-Maleki T. Potential pharmacologic treatments for COVID-19 smell and taste loss: A comprehensive review. *Eur J Pharmacol.* 2021 Dec 5;912:174582. DOI: 10.1016/j.ejphar.2021.174582

151. Yaghoobi A, Lord JS, Rezaiezadeh JS, Yekaninejad MS, Amini M, Izadi P. TMPRSS2 polymorphism (rs12329760) and the severity of the COVID-19 in Iranian population. *PLoS One.* 2023 Feb 16;18(2):e0281750. DOI: 10.1371/journal.pone.0281750

152. David A, Parkinson N, Peacock TP, Pairo-Castineira E, Khanna T, Cobat A, et al. A common TMPRSS2 variant has a protective effect against severe COVID-19. *Curr Res Transl Med.* 2022 May;70(2):103333. DOI: 10.1016/j.retram.2022.103333

153. Singh H, Choudhari R, Nema V, Khan AA. ACE2 and TMPRSS2 polymorphisms in various diseases with special reference to its impact on COVID-19 disease. *Microb Pathog.* 2021 Jan;150:104621. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104621

154. Senapati S, Banerjee P, Bhagavatula S, Kushwaha PP, Kumar S. Contributions of human ACE2 and TMPRSS2 in determining host-pathogen interaction of COVID-19. *J Genet*. 2021;100(1):12. DOI: 10.1007/s12041-021-01262-w

155. Zhang Y, Sun S, Du C, Hu K, Zhang C, Liu M, et al. Transmembrane serine protease TMPRSS2 implicated in SARS-CoV-2 infection is autoactivated intracellularly and requires N-glycosylation for regulation. *J Biol Chem*. 2022 Dec;298(12):102643. DOI: 10.1016/j.jbc.2022.102643

156. Гельсінська декларація Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження». Офіційний веб-портал парламенту України [Інтернет]. 2008 [цитовано 2024 Кві 17]. Режим доступу: [https://zakon.rada.gov.ua/go/990\\_005](https://zakon.rada.gov.ua/go/990_005)

157. Лехан ВН, Вороненко ЮВ, Максименко ОП, и др. Эпидемиологические методы изучения неинфекционных заболеваний: учеб. пособ. Київ: Сфера; 2005. 204 с.

158. Оперативна інформація про поширення та профілактику COVID-19 [Інтернет]. 2021 [цитовано 2024 Кві 30] Доступно: <https://www.kmu.gov.ua/news/operativna-informaciya-pro-poshirennya-ta-profilaktiku-covid-19-7-11-21>

159. Shamsundara M, Jayalakshmi L. Anosmia-An Effect of COVID-19 Infection-Review. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2023 Apr;75(Suppl 1):815-821. DOI: 10.1007/s12070-022-03401-w

160. Al-Rawi NH, Sammouda AR, AlRahin EA, Ali FAA, Arayedh GSA, Daryanavard HA, et al. Prevalence of Anosmia or Ageusia in Patients With COVID-19 Among United Arab Emirates Population. *Int Dent J*. 2022 Apr;72(2):249-256. DOI: 10.1016/j.identj.2021.05.006

161. Kandakure VT, Valvi HR, Khokle P, More MS, Chouhan R. Prevalence and Recovery from Newly Onset Anosmia and Ageusia in Covid 19 Patients at our Tertiary Care Centre. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2022 Oct;74(2):3399-3406. DOI: 10.1007/s12070-021-02540-w

162. Mendonça CV, Mendes Neto JA, Suzuki FA, Orth MS, Machado Neto H, Nacif SR. Olfactory dysfunction in COVID-19: a marker of good prognosis? *Braz J Otorhinolaryngol.* 2022 May-Jun;88(3):439-444. DOI: 10.1016/j.bjorl.2020.12.002

163. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, Vaira LA, De Riu G, Cammaroto G, Chekkoury-Idrissi Y, et al. Epidemiological, otolaryngological, olfactory and gustatory outcomes according to the severity of COVID-19: a study of 2579 patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2021 Aug;278(8):2851-2859. DOI: 10.1007/s00405-020-06548-w

164. Denis F, Galmiche S, Dinh A, Fontanet A, Scherpereel A, Benezit F, et al. Epidemiological Observations on the Association Between Anosmia and COVID-19 Infection: Analysis of Data From a Self-Assessment Web Application. *J Med Internet Res.* 2020 Jun 11;22(6):e19855. DOI: 10.2196/19855

165. Narayanan SN, Shivappa P, Padiyath S, Bhaskar A, Li YW, Merghani TH. The Prevalence and Pathophysiology of Chemical Sense Disorder Caused by the Novel Coronavirus. *Front Public Health.* 2022 Jun 6;10:839182. DOI: 10.3389/fpubh.2022.839182

166. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, Hans S, Barillari MR, Jouffe L, Saussez S. Loss of Smell and Taste in 2013 European Patients With Mild to Moderate COVID-19. *Ann Intern Med.* 2020 Oct 20;173(8):672-675. DOI: 10.7326/M20-2428

167. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siati DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2020 Aug;277(8):2251-2261. DOI: 10.1007/s00405-020-05965-1

168. Багрій ММ, Діброва ВА, Попадинець ОГ, Грищук МІ. Методики морфологічних досліджень: монографія. Вінниця: Нова Книга; 2016. 328 с.

169. Fletcher CDM. Diagnostic histopathology of tumors. 4th ed. PA: Elsevier. 2013. 1148 p.

170. Туффаха МСА, Гичка С, Гуски Г, Кристиансен К. Иммуногистохимия в диагностике опухолей: монографія. Киев: Книга-плюс; 2018. 336 с.

171. Lopez-Jimenez F, Paniagua D, Lamas GA. La interpretacion de los ensayos clinicos negativos. Revista de Investigación Clínica. 1998;50:435-40.

172. Фетісов ВС. Пакет статистичного аналізу даних STATISTICA: навч. посіб. Ніжин: НДУ ім. М. Гоголя; 2018. 114 с.

173. Шпонька ІС, Попович ВІ, Усова ОМ, Бондаренко ОО, Гаман ЮВ, Щурук ГЗ. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2. Патологія. 2021;18(3):278-285. DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369

174. Усова ОМ. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2. Морфологія. 2024;18(1):78-82. DOI: 10.26641/1997-9665.2024.1.78-82

175. Шпонька ІС, Усова ОМ. Вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу 2019: імуноморфологічна оцінка. Медичні перспективи. 2024;29(1):4-9. DOI: 10.26641/2307-0404.2024.1.300438

## ДОДАТОК А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ  
ДИСЕРТАЦІЇ

1. Шпонька ІС, Попович ВІ, Усова ОМ, Бондаренко ОО, Гаман ЮВ, Щурук ГЗ. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2. *Патологія*. 2021;18(3):278-285. DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання статті.*

2. Шпонька ІС, Усова ОМ. Вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу 2019: імуноморфологічна оцінка. *Медичні перспективи*. 2024;29(1):4-9. DOI: 10.26641/2307-0404.2024.1.300438. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання статті.*

3. Усова ОМ. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2. *Морфологія*. 2024;18(1):78-82. DOI: 10.26641/1997-9665.2024.1.78-82.

4. Усова ОМ, Бондаренко ОО, Шпонька ІС, Попович ВІ. Гістологічні та імуногістохімічні особливості стану периферичних відділів ольфакторної системи за умов інфікування коронавірусом SARS-COV-2. *Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку*: матеріали Міжнародної науково-практичної онлайн-конференції (м. Київ, 22-23 квітня 2021 р.). Київ, 2021. С. 29. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення*

*імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання тез та підготовка доповіді.*

5. Шпонька ІС, Усова ОМ, Бондаренко ОО. Обтяжливі чинники у виникненні ольфакторних порушень у хворих на коронавірусну хворобу. *Теорія та практика сучасної морфології*: матеріали П'ятої науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Дніпро, 20-22 жовтня 2021 р.). Дніпро, 2021. С. 159-161. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання тез.*

6. Шпонька ІС, Усова ОМ, Бондаренко ОО. Гіпотези розвитку ольфакторної дисфункції при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2. *Теорія та практика сучасної морфології*: матеріали Шостої науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Дніпро, 09-11 листопада 2022 р.). Дніпро, 2022. С. 160-162. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання тез.*

7. Шпонька ІС, Усова ОМ. Роль рівнів ольфакторної системи у розвитку нюхових розладів при COVID-19: морфологічні та імуногістохімічні аспекти. *Актуальні проблеми патологічної анатомії*: спеціальний випуск Українського науково-медичного молодіжного журналу № 4 (143) з матеріалами науково-практичної конференції, присвяченої 30-річчю заснування Асоціації патологоанатомів України (м. Київ, 05-06 жовтня 2023 р.). Київ, 2023. С. 30-31. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання тез та підготовка доповіді.*

8. Усова ОМ. Про доцільність вивчення ролі рецепторів до TMPRSS2 у розвитку ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019. *Теорія та практика сучасної морфології*: матеріали Сьомої Всеукраїнської науково-

практичної конференції з міжнародною участю (м. Дніпро, 01-03 листопада 2023 р.). Дніпро, 2023. С. 114-115.

9. Усова ОМ, Алексеєнко О.А., Мальцев І.О. Значення ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019. Новини і перспективи медичної науки: матеріали XXIV наукової конференції студентів та молодих учених (м. Дніпро, квітень 2024 р.). Дніпро, 2024. С. 105. *Дисертанту належить відбір матеріалу, аналіз та зіставлення клініко-морфологічних та гістологічних даних, проведення імуногістохімічних досліджень, статистична обробка даних, написання тез та підготовка доповіді.*

10. Usova OM. Assessment of the significance of TMPRSS2 and ACE-2 receptors for the olfactory disorders development in Coronavirus Disease 2019. Здобутки клінічної та експериментальної медицини: матеріали підсумкової LXVII науково-практичної конференції (м. Тернопіль, 13-14 червня 2024 р.). Тернопіль, 2024. С. 45-46.

## ДОДАТОК Б

### ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Міжнародна науково-практична онлайн-конференція «Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку» (м. Київ, 22-23 квітня 2021 р.) – публікація тез, усна доповідь.

2. П'ята науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (м. Дніпро, 20-22 жовтня 2021 р.) – публікація тез.

3. Науково-практична конференція «COVID-школа 2022» (м. Дніпро, 02-03 лютого 2022 р.) – усна доповідь.

4. Шоста науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (м. Дніпро, 09-11 листопада 2022 р.) – публікація тез, усна доповідь.

5. Науково-практична конференція, присвячена 30-річчю заснування Асоціації патологоанатомів України «Актуальні проблеми патологічної анатомії» (м. Київ, 05-06 жовтня 2023 р.) – публікація тез, усна доповідь.

6. Сьома Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (м. Дніпро, 01-03 листопада 2023 р.) – публікація тез, усна доповідь.

7. XXIV Наукова конференція студентів та молодих учених «Новини і перспективи медичної науки» (м. Дніпро, квітень 2024 р.) – публікація тез, усна доповідь.

8. Підсумкова LXVII науково-практична конференція «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (м. Тернопіль, 13-14 червня 2024 р.) – публікація тез, усна доповідь.

## ДОДАТОК В1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з наукової роботи  
 Дніпровського державного  
 медичного університету,  
 д. мед. н., професор  
 Олександр ГУДАР'ЯН  
 17 » 05 2024 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

## матеріалів дисертаційної роботи до науково-педагогічного процесу

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** визначення морфологічних змін клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих, інфікованих SARS-CoV-2, з урахуванням ролі специфічних клітинних рецепторів та особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019.

**2. Установа-розробник:** Дніпровський державний медичний університет, 49044, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. Автори – Шпонька І.С., Усова О.М., Бондаренко О.О.

**3. Джерела інформації:** Шпонька І.С., Попович В.І., Усова О.М., Бондаренко О.О., Гаман Ю.В., Щурук Г.З. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2 // Патологія – 2021. – №3 (53). – С. 278-285 DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369.

Шпонька І.С., Усова О.М. Вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу 2019: імуноморфологічна оцінка // Медичні перспективи – 2024. – №1. – С. 4-9. DOI: 10.26641/2307-0404.2024.1.300438.

Усова О.М. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2 // Морфологія – 2024. – №1. – С. 78-82. DOI: 10.26641/1997-9665.2024.1.78-82.

**4. Місце впровадження:** кафедра патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету.

**5. Строки впровадження:** з 14.11.2023 р. по 14.05.2024 р.

**6. Результати впровадження:** поглиблення знань здобувачів освіти про морфологічні особливості клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих, інфікованих SARS-CoV-2, а також роль специфічних клітинних рецепторів та вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019.

**7. Зауваження та пропозиції:** зауважень немає; рекомендовано продовжити впровадження в науково-педагогічний процес.

Відповідальний за впровадження –  
 доцент кафедри патологічної  
 анатомії, судової медицини та  
 патологічної фізіології, к. мед. н.



Олександр АЛЕКСЕЄНКО

## ДОДАТОК В2




«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Проректор з наукової роботи  
Запорізького державного  
медико-фармацевтичного університету

професор  
Валерій ТУМАНСЬКИЙ  
16 05 2024 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**  
матеріалів дисертаційної роботи до науково-педагогічного процесу

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** визначення морфологічних змін клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих, інфікованих SARS-CoV-2, з урахуванням ролі специфічних клітинних рецепторів та особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019.
2. **Установа-розробник:** Дніпровський державний медичний університет, 49044, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. Автори – Шпонька І.С., Усова О.М., Бондаренко О.О.
3. **Джерела інформації:** Шпонька І.С., Попович В.І., Усова О.М., Бондаренко О.О., Гаман Ю.В., Щурук Г.З. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2 // Патологія – 2021. – №3 (53). – С. 278-285 DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369.  
Шпонька І.С., Усова О.М. Вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу 2019: імуноморфологічна оцінка // Медичні перспективи – 2024. – №1. – С. 4-9. DOI: 10.26641/2307-0404.2024.1.300438.  
Усова О.М. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2 // Морфологія – 2024. – №1. – С. 78-82. DOI: 10.26641/1997-9665.2024.1.78-82.
4. **Місце впровадження:** кафедра патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.
5. **Строки впровадження:** з 14.11.2023 р. по 14.05.2024 р.
6. **Результати впровадження:** поглиблення знань здобувачів освіти про морфологічні особливості клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих, інфікованих SARS-CoV-2, а також роль специфічних клітинних рецепторів та вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019.
7. **Зауваження та пропозиції:** зауважень немає; рекомендовано продовжити впровадження в науково-педагогічний процес.

Відповідальний за впровадження –  
Завідувач кафедри патологічної анатомії  
і судової медицини ЗДМФУ, проф.  
16.05.2024

 Тертишний С.І.

## ДОДАТОК ВЗ



## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): спосіб визначення морфологічних змін клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих, інфікованих SARS-CoV-2, з урахуванням ролі специфічних клітинних рецепторів та особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019.

**2. Ким і коли запропонований:** Дніпровський державний медичний університет (49044, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9). Автори – Шпонька І.С., Усова О.М., Бондаренко О.О.

**3. Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.):

- Шпонька І.С., Попович В.І., Усова О.М., Бондаренко О.О., Гаман Ю.В., Шурук Г.З. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2 // Патологія – 2021. – №3 (53). – С. 278-285 DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369.

- Шпонька І.С., Усова О.М. Вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу 2019: імуноморфологічна оцінка // Медичні перспективи – 2024. – №1. – С. 4-9. DOI: 10.26641/2307-0404.2024.1.300438.

- Усова О.М. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2 // Морфологія – 2024. – №1. – С. 78-82. DOI: 10.26641/1997-9665.2024.1.78-82.

**4. Де і коли впроваджено:** кафедра патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, 2024 р.

**5. Результати застосування методу за період з 15 листопада 2023 р. по 15 травня 2024 р.:** впровадження у навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії Харківського національного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами, клінічними ординаторами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.

**6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** Використання результатів роботи в навчальному процесі та науково-дослідній роботі дозволяє поглибити знання здобувачів освіти, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів та аспірантів з питань морфологічних особливостей клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих, інфікованих SARS-CoV-2, а також ролі специфічних клітинних рецепторів та впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019.

**7. Зауваження та пропозиції:** немає.

**Відповідальний(і) за впровадження**

В.о. завідувача кафедри  
патологічної анатомії  
Харківського національного  
медичного університету,  
доктор медичних наук, професор

(дата)

Ірина СОРОКІНА

(підпис)

## ДОДАТОК В4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи  
Полтавського державного медичного університету,  
д. мед. н., професор

Валентин ДВОРНИК

« 06 »

2024 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до науково-педагогічного процесу

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** визначення морфологічних змін клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих, інфікованих SARS-CoV-2, з урахуванням ролі специфічних клітинних рецепторів та особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019.

**2. Установа-розробник:** Дніпровський державний медичний університет, 49044, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. Автори – Шпонька І.С., Усова О.М., Бондаренко О.О.

**3. Джерело інформації:** Шпонька І.С., Попович В.І., Усова О.М., Бондаренко О.О., Гаман Ю.В., Шурук Г.З. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2 // Патологія – 2021. – №3(53). – С. 278-285 DOI:10.14739/2310-1237.2021.3.234369.

**4. Місце впровадження:** кафедра патологічної анатомії та судової медицини ПДМУ.

**5. Строки впровадження:** листопад 2023 р. – квітень 2024 р.

**6. Результати впровадження:** поглиблення знань здобувачів освіти, лікарів-інтернів щодо патоморфологічних змін клітин ольфакторної системи при інфікуванні SARS-CoV-2, а також роль специфічних клітинних рецепторів та вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019.

**7. Зауваження та пропозиції:** зауважень немає; рекомендовано продовжити впровадження в науково-педагогічний процес.

**8. Результати впровадження обговорені на засіданні кафедри патологічної анатомії та судової медицини №15 від 02.05.2024р.**

Відповідальний за впровадження:  
завідувач кафедри патологічної анатомії  
та судової медицини  
к.мед.н., доцент

Олексій ПРИЛУЦЬКИЙ

## ДОДАТОК В5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о проректора з наукової роботи  
Івано-Франківського національного  
медичного університету,  
д. мед. н., професор

Наталія КОЗАНЬ

05 2024 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до науково-педагогічного процесу

1. Найменування пропозиції для впровадження: визначення морфологічних змін клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих, інфікованих SARS-CoV-2, з урахуванням ролі специфічних клітинних рецепторів та особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019.

2. Установа-розробник: Дніпровський державний медичний університет, 49044, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. Автори – Шпонька І.С., Усова О.М., Бондаренко О.О.

1. Джерела інформації: Шпонька І.С., Попович В.І., Усова О.М., Бондаренко О.О., Гаман Ю.В., Щурук Г.З. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2 // Патологія – 2021. – №3 (53). – С. 278-285 DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369.

Шпонька І.С., Усова О.М. Вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу 2019: імуноморфологічна оцінка // Медичні перспективи – 2024. – №1. – С. 4-9. DOI: 10.26641/2307-0404.2024.1.300438.

Усова О.М. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2 // Морфологія – 2024. – №1. – С. 78-82. DOI: 10.26641/1997-9665.2024.1.78-82.

3. Місце впровадження: кафедра патологічної анатомії Івано-Франківського національного медичного університету.

4. Строки впровадження: з 13.11.2023 р. по 13.05.2024 р.

5. Результати впровадження: поглиблення знань здобувачів освіти про морфологічні особливості клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих, інфікованих SARS-CoV-2, а також роль специфічних клітинних рецепторів та впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019.

6. Зауваження та пропозиції: зауважень немає, рекомендовано продовжити впровадження в науково-педагогічний процес.

Відповідальний за впровадження –  
завідувач кафедри патологічної анатомії ІФНМУ  
д. мед. н., професор

Ельвіра КІНДРАТІВ

## ДОДАТОК В6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. начальника

Комунального підприємства

«Дніпропетровське обласне

патолого-анатомічне бюро»

Дніпропетровської обласної ради

Олег ГРЕК

2024 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до лікувально-діагностичного процесу

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** визначення морфологічних ознак ураження клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих з коронавірусною хворобою 2019 в анамнезі, з використанням імуногістохімічного алгоритму та урахуванням особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.

**2. Установа-розробник:** Дніпровський державний медичний університет, 49044, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. Автори – Шпонька І.С., Усова О.М., Бондаренко О.О.

**3. Джерела інформації:** Шпонька І.С., Попович В.І., Усова О.М., Бондаренко О.О., Гаман Ю.В., Щурук Г.З. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2 // Патологія – 2021. – №3 (53). – С. 278-285 DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369.

Шпонька І.С., Усова О.М. Вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу 2019: імуноморфологічна оцінка // Медичні перспективи – 2024. – №1. – С. 4-9. DOI: 10.26641/2307-0404.2024.1.300438.

Усова О.М. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2 // Морфологія – 2024. – №1. – С. 78-82. DOI: 10.26641/1997-9665.2024.1.78-82.

**4. Місце впровадження:** відділення загальної патології Комунального підприємства «Дніпропетровське обласне патолого-анатомічне бюро» Дніпропетровської обласної ради.

**5. Строки впровадження:** з 13.11.2023 р. по 13.05.2024 р.

**6. Кількість пацієнтів:** 15 осіб.

**7. Результати впровадження:** підвищений рівень діагностики ураження клітин різних рівнів ольфакторної системи у хворих та померлих з коронавірусною хворобою 2019 в анамнезі з використанням імуногістохімічного алгоритму та урахуванням особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.

**8. Зауваження та пропозиції:** зауважень немає; рекомендовано продовжити впровадження в лікувально-діагностичний процес.

Відповідальний за впровадження –  
заступник начальника  
КП «ДОПАБ» ДОР

 Петро ГРИЦЕНКО

## ДОДАТОК В7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор Відокремленого структурного  
відділення «Університетська лікарня»  
Дніпровського державного медичного  
університету



Володимир ЯКОВЕНКО  
\_\_\_\_\_ 2024 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**  
**матеріалів дисертаційної роботи до науково-педагогічного процесу**

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** визначення морфологічних ознак ураження клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих з коронавірусною хворобою 2019 в анамнезі, з використанням імуногістохімічного алгоритму та урахуванням особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.

**2. Установа-розробник:** Дніпровський державний медичний університет, 49044, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. Автори – Шпонька І.С., Усова О.М., Бондаренко О.О.

**3. Джерела інформації:** Шпонька І.С., Попович В.І., Усова О.М., Бондаренко О.О., Гаман Ю.В., Щурук Г.З. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2 // Патологія – 2021. – №3 (53). – С. 278-285 DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369.

Шпонька І.С., Усова О.М. Вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу 2019: імуноморфологічна оцінка // Медичні перспективи – 2024. – №1. – С. 4-9. DOI: 10.26641/2307-0404.2024.1.300438.

Усова О.М. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2 // Морфологія – 2024. – №1. – С. 78-82. DOI: 10.26641/1997-9665.2024.1.78-82.

**4. Місце впровадження:** патологоанатомічне відділення ВСП «Університетська лікарня» ДДМУ.

**5. Строки впровадження:** з 14.11.2024 р. по 14.05.2024 р.

**6. Кількість пацієнтів:** 12 осіб.

**7. Результати впровадження:** підвищений рівень діагностики ураження клітин різних рівнів ольфакторної системи у хворих та померлих з коронавірусною хворобою 2019 в анамнезі з використанням імуногістохімічного алгоритму та урахуванням особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.

**8. Зауваження та пропозиції:** зауважень немає; рекомендовано продовжити впровадження в науково-педагогічний процес.

Відповідальний за впровадження –  
завідувач патологоанатомічним відділенням

ВСП «Університетська лікарня» ДДМУ, к. мед. н. \_\_\_\_\_ Оксана САВЧЕНКО

## ДОДАТОК В8



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

*матеріалів дисертаційної роботи до лікувально-діагностичного процесу*

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** визначення морфологічних ознак ураження клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих з коронавірусною хворобою 2019 в анамнезі, з використанням імуногістохімічного алгоритму та урахуванням особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.
2. **Установа-розробник:** Дніпровський державний медичний університет, 49044, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. Автори – Шпонька І.С., Усова О.М., Бондаренко О. О.
3. **Джерело інформації:** Шпонька І.С., Попович В.І., Усова О.М., Бондаренко О.О., Гаман Ю.В., Щурук Г.З. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2 // Патологія – 2021. – №3 (53). – С. 278-285 DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369.  
Шпонька І.С., Усова О.М. Вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу 2019: імуноморфологічна оцінка // Медичні перспективи – 2024. – №1. – С. 4-9. DOI: 10.26641/2307-0404.2024.1.300438.  
Усова О.М. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2 // Морфологія – 2024. – №1. – С. 78-82. DOI: 10.26641/1997-9665.2024.1.78-82.
4. **Місце впровадження:** відділення загальної патології з гістологічними дослідженнями КНП «Вінницьке обласне патологоанатомічне бюро» ВОР.
5. **Строки впровадження:** з 14.11.2023 р. по 14.05.2024 р.
6. **Кількість пацієнтів:** 17 осіб.
7. **Результати впровадження:** підвищений рівень діагностики ураження клітин різних рівнів ольфакторної системи у хворих та померлих з коронавірусною хворобою 2019 в анамнезі з використанням імуногістохімічного алгоритму та урахуванням особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.
8. **Зауваження та пропозиції:** зауважень немає; рекомендовано продовжити впровадження в лікувально-діагностичний процес.

Відповідальний за впровадження –  
медичний директор КНП «ВОПАБ» ВОР

  
Любов ХОЛОД

## ДОДАТОК В9

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Генеральний директор  
 КНП «Кіровоградська обласна  
 лікарня КОР»  
 Лариса АНДРЕЄВА  
 « 20 » \_\_\_\_\_ 2024 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

*матеріалів дисертаційної роботи до науково-педагогічного процесу*

1. Найменування пропозиції для впровадження: визначення морфологічних ознак ураження клітин різних рівнів ольфакторної системи хворих та померлих з коронавірусною хворобою 2019 в анамнезі, з використанням імуногістохімічного алгоритму та урахуванням особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.

2. Установа-розробник: Дніпровський державний медичний університет, 49044, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. Автори – Шпонька І.С., Усова О.М., Бондаренко О.О.

3. Джерела інформації: Шпонька І.С., Попович В.І., Усова О.М., Бондаренко О.О., Гаман Ю.В., Шурук Г.З. Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-CoV-2 // Патологія – 2021. – №3 (53). – С. 278-285 DOI: 10.14739/2310-1237.2021.3.234369.

Шпонька І.С., Усова О.М. Вплив зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів у хворих на коронавірусну хворобу 2019: імуноморфологічна оцінка // Медичні перспективи – 2024. – №1. – С. 4-9. DOI: 10.26641/2307-0404.2024.1.300438.

Усова О.М. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2 // Морфологія – 2024. – №1. – С. 78-82. DOI: 10.26641/1997-9665.2024.1.78-82.

4. Місце впровадження: патологоанатомічне відділення Комунального некомерційного підприємства «Кіровоградська обласна лікарня Кіровоградської обласної ради».

5. Строки впровадження: з 15.11.2023 р. по 15.05.2024 р.

6. Кількість пацієнтів: 20 осіб.

7. Результати впровадження: підвищений рівень діагностики ураження клітин різних рівнів ольфакторної системи у хворих та померлих з коронавірусною хворобою 2019 в анамнезі з використанням імуногістохімічного алгоритму та урахуванням особливостей впливу зовнішніх факторів на розвиток ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.

8. Зауваження та пропозиції: зауважень немає.

Відповідальний за впровадження –  
 завідувач патологоанатомічним відділенням  
 КНП «Кіровоградська обласна лікарня КОР»

Сергій НЕМАЗЕНКО