

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ И ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗ У ПАЦИЕНТОВ II И III ВОЛН COVID-19 И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПОСТКОВИДНЫЙ ПЕРИОД

Воробьева О.М.¹, Григорьева Д.О.¹, Стерхова К.А.¹, Иваниха Е.В.¹, Салов М.А.¹, Макаров И.А.¹, Писарева М.М.², Митрофанова Л.Б.¹

¹ФГБУ «НМИЦ им. В.А.Алмазова», Санкт-Петербург, 197341

²ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева», Санкт-Петербург, 197376

В современной литературе появляются данные о нарушении углеводного обмена и изменениях уровней гормонов щитовидной железы у пациентов в постковидном периоде. **Цель исследования:** выявить поражение поджелудочной и щитовидной железы у пациентов с коронавирусной инфекцией. **Материалы и методы исследования:** гистологическое исследование аутопсийного материала и данных истории болезни 157 пациентов, умерших от COVID-19 во II и III волны заболеваемости; иммуногистохимический анализ 20 фрагментов поджелудочной железы с антителами к Spike SARS-CoV-2, ACE2, Insulin, CD26 (DPP 4) и 10 образцов щитовидной железы с антителами к Spike SARS-CoV-2, ACE2, DPP4. Исследование поджелудочной железы с использованием коктейлей антител CD26/Insulin; ACE2/Insulin; Spike SARS-CoV-2/Insulin было выполнено 2 пациентам. **Результаты:** выявлена экспрессия Spike SARS-CoV-2 в эндокринной (0-15% клеток) и экзокринной частях поджелудочной железы (менее 2% клеток). ACE2 и DPP4 были определены в островках Лангерганса и экзокринной части поджелудочной железы в среднем менее, чем в 1% клеток. Подтверждено инфицирование β -клеток поджелудочной железы (колокализация инсулина со Spike SARS-CoV-2, ACE2, DPP4 в цитоплазме клеток). Выявлено окрашивание более 90% тироцитов Spike SARS-CoV-2 и DPP4, более 60% - ACE2. Не определено различий в поражении эндокринных желез у пациентов II и III волн заболеваемости. При анализе клинических данных обнаружено, что доза глюкокортикостероидов (ГКС), получаемых пациентами II волны была значимо выше по сравнению с пациентами III волны (24мг/сутки и 16 мг/сутки, соответственно), а также выявлена умеренная корреляция максимального значения глюкозы с максимальной суточной дозой ГКС в пересчете на дексаметазон ($r=0,36$). **Выводы:** выявлено поражение SARS-CoV-2 поджелудочной и щитовидной желез у пациентов с коронавирусной инфекцией. У пациентов после перенесения коронавирусной инфекции значимо чаще, чем в популяции, развивается сахарный диабет 1 и 2 типа. Патогенез поражения эндокринных желез является многофакторным. На данный момент сложно определить, имеется ли доминирующий фактор или они оказывают сочетанное влияние.

Ключевые слова: поджелудочная и щитовидная железы, COVID-19 и постковидный период, иммуногистохимическое исследование и полимеразная цепная реакция

MORPHOLOGICAL STUDY OF THE PANCREATIC AND THYROID GLANDS IN PATIENTS II AND III WAVES OF COVID-19 AND MOLECULAR-BIOLOGICAL ANALYSIS OF THE THYROID GLAND IN THE POST-COVID PERIOD

Vorobeva O.M.¹, Grigor'eva D.O.¹, Sterkhova K.A.¹, Ivanikha E.V.¹, Salov M.A.¹, Makarov I.A.¹, Pisareva M.M.², Mitrofanova Л.Б.¹

¹*Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, 197143*

²*Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, 197376*

Abstract: In modern literature, data appear on the violation of carbohydrate metabolism and changes in the levels of thyroid hormones in patients in the post-COVID period. The purpose of the study: to identify damage to the pancreas and thyroid gland in patients with coronavirus infection. Materials and methods of research: histological examination of autopsy material and medical history data of 157 patients who died from COVID-19 in the II and III waves of incidence; immunohistochemical study of 20 pancreas fragments with antibodies to Spike SARS-CoV-2, ACE2, Insulin, CD26 (DPP 4) and 10 thyroid samples with antibodies to Spike SARS-CoV-2, ACE2, DPP4. Pancreatic examination using CD26/Insulin antibody cocktails; ACE2/Insulin; Spike SARS-CoV-2/Insulin was performed in 2 patients. Results: Spike SARS-CoV-2 staining was detected in the endocrine (0-15% of cells) and exocrine pancreas (less than 2% of cells). ACE2 and DPP4 were detected in the islets of Langerhans and the exocrine pancreas in less than 1% of cells on average. Infection of pancreatic β -cells was confirmed (colocalization of insulin with Spike SARS-CoV-2, ACE2, DPP4 in the cell cytoplasm). More than 90% of thyrocytes were stained with SARS-CoV-2 and DPP4, more than 60% - with ACE2. There were no differences in the damage to the endocrine glands in patients of the 2nd and 3rd waves of incidence. When analyzing clinical data, it was found that the dose of glucocorticosteroids (GCS) received by patients of the II wave was significantly higher compared to patients of the III wave (24 mg/day and 16 mg/day, respectively), and a moderate correlation of the maximum glucose value with the maximum daily dose of corticosteroids in terms of dexamethasone ($r=0.36$). Conclusions: SARS-CoV-2 damage to the pancreas and thyroid glands was detected in patients with coronavirus infection. In patients after undergoing a coronavirus infection, type 1 and type 2 diabetes mellitus develops significantly more often than in the general population. The pathogenesis of damage to the endocrine glands is multifactorial. At the moment it is difficult to determine whether there is a dominant factor or whether they have a combined effect.

Key words: pancreas and thyroid glands, COVID-19 and post-COVID period, immunohistochemical study and polymerase chain reaction

Появляется все больше свидетельств того, что у пациентов, выздоравливающих после тяжелого острого респираторного синдрома, вызванного SARS-CoV-2, могут быть различные острые последствия, включая недавно диагностированный диабет [1,2,3]. Девять исследований с почти 40 миллионами участников показали, что заболеваемость диабетом после COVID-19 составила 15,53 на 1000 человек в год, а относительный риск заболевания повышен. В частности, относительный риск СД 1 типа составил 1,48, а СД 2 типа — 1,70 по сравнению с пациентами без COVID-19. Во всех возрастных группах наблюдалась статистически значимая положительная связь между заражением COVID-19 и риском заболевания, особенно у взрослых с длительным течением инфекции [4]. По сравнению с периодом до пандемии COVID-19, число новых случаев СД 1 типа и диабетического кетоацидоза у детей во всем мире в течение первого года пандемии COVID-19 увеличилось на 9,5% и 25%, а медианные значения глюкозы и гликированного гемоглобина — на 6,43% и 6,42% соответственно [5].

С другой стороны, известно, что предшествующий вирусной инфекции СД повышает риск тяжелого течения COVID-19, острого респираторного дистресс-синдрома и внутрибольничной смертности [6,7,8].

Таким образом, констатируется двунаправленное взаимодействие между СД и COVID-19. Кроме того, наиболее распространенные методы лечения СД 2 типа могут влиять на SARS-CoV-2, равно как и препараты, направленные на лечение коронавирусной инфекции, могут влиять на развитие диабета [9].

Предполагается, что щитовидная железа тоже может быть частой мишенью SARS-CoV-2 [10,11]. Об изменениях уровня гормонов щитовидной железы у значительного числа пациентов с COVID-19, напоминающих подострый тиреоидит, постоянно сообщали [12,13]. Однако, клиническая значимость тиреотоксикоза, связанного с инфекцией SARS-CoV2, до сих пор неясна, а данные об исходе функции щитовидной железы после выздоровления от COVID-19 скудны [14]. В частности, до сих пор неизвестно, может ли щитовидная железа быть устойчиво повреждена SARS-CoV2, как показано для других тканей и органов у людей с COVID-19.

Цель исследования: определить наличие SARS-CoV-2 в поджелудочной и щитовидной железах и уточнить его локализацию в конкретных клетках у пациентов с COVID-19

Материалы и методы

У 157 пациентов, умерших от COVID-19 во II и III волну, был забран материал из тела поджелудочной железы, и проведено традиционное гистологическое исследование. При сохранности ткани железы и в отсутствии аутолитических изменений осуществлялось иммуногистохимическое исследование с различными антителами (10 образцов из II волны и 10 — из III). У 10 пациентов дополнительно был забран материал из правой и левой долей щитовидной железы и проведено гистологическое и иммуногистохимическое исследование. Были подробно изучены данные историй болезни, в том числе максимальный уровень глюкозы,

гликированного гемоглобина, ЛДГ, АЛТ, АСТ, амилазы, липазы, лактата, режим терапии глюкокортикостероидами (ГКС).

Все пациенты умерли от острого респираторного дистресс-синдрома на фоне двусторонней сливной вирусной бронхопневмонии соответственно в декабре 2020 - феврале 2021 года и в июне-августе 2021 года. Среди них было 80 женщин и 77 мужчин в возрасте от 40 до 98 лет, медианный возраст 74 года. В среднем, умершие от новой коронавирусной инфекции, пациенты поступали на 7-ой день (4; 10) от возникновения симптомов заболевания и умирали на 20-ый день (13; 26) от момента возникновения симптомов, медианное количество койко-дней 12. В декабре 2020 - феврале 2021 года в Санкт-Петербурге были зарегистрированы два российских эндемика — линии B.1.397 и B.1.317 COVID-19. Alpha VOC (B.1.1.7) и другая линия — AT.1, которая, вероятно, возникла в Санкт-Петербурге, впервые были обнаружены в феврале 2021 года [15]. В июне-августе 2021 года в Санкт-Петербурге наблюдалась только линия B.1.617.2 (Delta VOC) COVID-19. Никто из обследованных пациентов II и III волны не был привит вакциной против COVID-19. У всех больных вирусная инфекция была подтверждена с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) после обратной транскрипции (RT-PCR) в мазке из носа и зева при жизни и в тканях трахеи, бронха и легких посмертно (нативный материал).

Было проведено исследование образцов поджелудочной железы у 20 пациентов с антителами к: Spike SARS-CoV-2, ACE2, Insulin, CD26 (DPP 4) и образцов щитовидной железы у 10 пациентов с антителами к: Spike SARS-CoV-2, ACE2, DPP 4. Исследование поджелудочной железы с использованием коктейлей антител CD26/Insulin; ACE2/Insulin; Spike SARS-CoV-2/Insulin было выполнено 2 пациентам. В качестве вторичных антител использовали Alexa Fluor™ 594 goat anti-mouse IgG1 (Thermo Fisher Scientific) и Alexa Fluor™ 488 goat anti-rabbit IgG (H+L) (Thermo Fisher Scientific). Срезы были контрастированы DAPI (AppliChem). Препараты были проанализированы с помощью микроскопа Leica DM6000B. Для оцифровки изображения и морфометрии использовалась программа Aperio ImageScope 12.3.3.

У 9 пациентов (8 женщин и 1 мужчина возрастом 35-74 года), перенесших COVID-19 в период 1 месяц - 2 года до операции, была проведена ПЦР замороженных образцов обеих долей щитовидной железы (операционный материал; RT-qPCR с использованием "Intifica SARS-CoV-2" (Alkor Bio Group, Russia)) и выполнено гистологическое и иммуногистохимическое исследование с антителом к Spike SARS-CoV-2. В этот период в Санкт-Петербурге выявлялся Omicron вариант COVID-19.

Статистический анализ полученных данных был выполнен с использованием IBM SPSS Statistics 28.0.1.0. Различия между группами определяли как значимые при $p < 0,05$.

Результаты исследования

При гистологическом исследовании образцов поджелудочной железы наиболее частым изменением был выраженный посмертный аутолиз ткани, наблюдавшийся у 31% пациентов.

Также частыми изменениями были фиброз и липоматоз железы – у 34%, кровоизлияния в строму – у 13%, стеатонекрозы и выраженное полнокровие – у 7% пациентов.

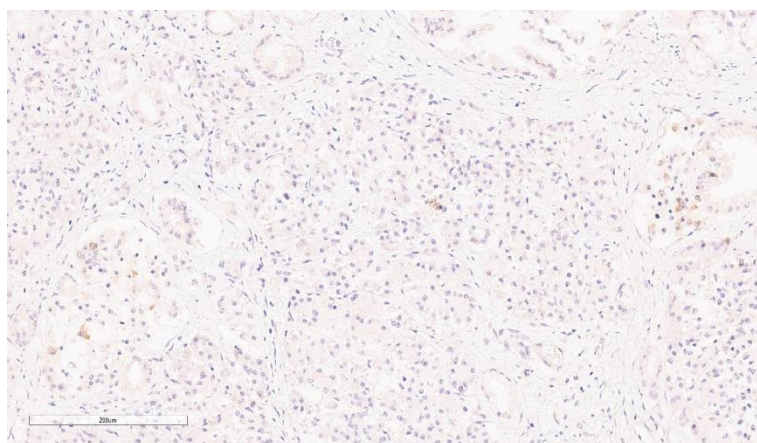
Иммуногистохимическое исследование поджелудочных желез было проведено в образцах с наименьшими аутолитическими изменениями (n=20). Экспрессия Spike SARS-CoV-2 была обнаружена у 9 (90%) пациентов II волны: у 8 пациентов в экзокринной части железы, в среднем в 0,3% клеток; у 6-ти пациентов - в эндокринной части, в среднем в 1,9% клеток (Таблица 1, Рис. 1).

Таблица 1

Экспрессия SARS-Cov-2 spike protein, DPP4 и ACE2 в поджелудочной железе (данные указаны в процентах)

	волна	SARS -Cov-2 (эндокринн ая часть)	SARS -Cov-2 (экзокринн ая часть)	ACE2 (эндокринн ая часть)	ACE2 (экзокринн ая часть)	DPP4 (эндокринн ая часть)	DPP4 (экзокринн ая часть)
		0	1,1	0,8	0,4	0,2	1,5
		0,53	0	0	0,1	1,4	0,1
		0	0	0,7	0,2	0	0,4
		0	0,1	0	0	0,5	0
		0	0,1	11,4	0,3	1,6	0,1
		27,7	0,4	1,7	0,2	0	0,5
		16,9	1,6	0	0,1	0,7	0
		14	0,7	3,8	0,4	0	0,6
		15,4	2,4	0	3,3	-	0,1
0		3,2	0,2	0	0	0,8	0,3
1		14,8	1,1	0	0,1	0	0
2		5,3	0,6	0	0,2	0,1	0,1

3		12,9	1,3	0	0,5	0	0,2
4		2,8	0,6	0	0	0,8	0
5		17,6	0,9	1,1	0,1	0	0,3
6		8,8	1,6	0	0,1	0	0,1
7		12,1	2,7	0	0,5	0	0,1
8		3,9	1	2,2	0,4	2,1	0,3
9		19,5	0,2	0	0,1	0	0,2



0		10,1	0,9	0	0,1	0,4	0,3
---	--	------	-----	---	-----	-----	-----

Рис. 1. Экспрессия SARS-CoV-2 spike protein в цитоплазме клеток поджелудочной железы (коричневое окрашивание).

Экспрессия ACE2 (АПФ2) и DPP4 (CD26) наблюдалась в эндокринной и экзокринной частях железы (Рис. 2). При этом доля ACE2+ клеток островков Лангерганса составила 0,4% (0 – 1,7), а DPP4+ клеток островков Лангерганса - 0,5% (0 – 0,8).

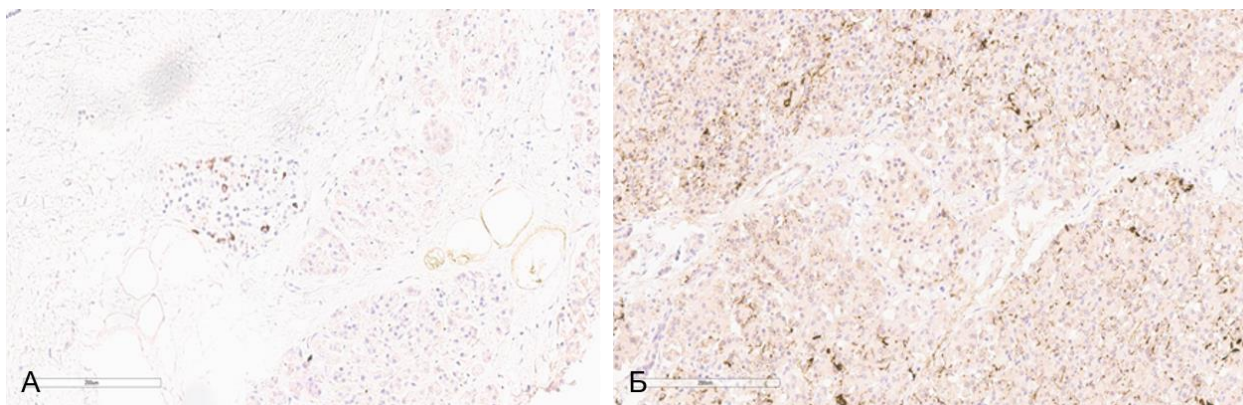


Рис. 2. Экспрессия: А - ACE2 (АПФ2) в клетках островка Лангерганса и Б - DPP4 (CD26) в эндо- и экзокринной частях поджелудочной железы (коричневое окрашивание).

Экспрессии Spike SARS-CoV-2 была обнаружена у всех исследовавшихся пациентов III волны: в 100% случаев - в экзокринной части, в среднем в 1% клеток; а в эндокринной части – в 11% клеток. В то же время, не определено значимых различий в экспрессии Spike SARS-CoV-2, DPP4 и ACE2 в эндокринной части между пациентами II и III волн. В целом экспрессия SARS-Cov-2 spike protein, DPP4 и ACE2 в экзокринной части поджелудочной железы не превышала 3,3% клеток. Не было выявлено различий в степени поражения экзокринной части поджелудочной железы у пациентов II и III волны.

С целью уточнения, какие именно клетки островков Лангерганса поражает вирус, было выполнено иммунофлуоресцентное исследование с двойной меткой инсулин/SARS-Cov-2 spike protein, которое показало колокализацию этих антигенов в цитоплазме одних и тех же клеток (Рис.3). Иммунофлуоресцентное исследование с коктейлями антител инсулин/DPP4 и инсулин/ACE2 подтвердило наличие DPP4 и ACE2 в β -клетках.

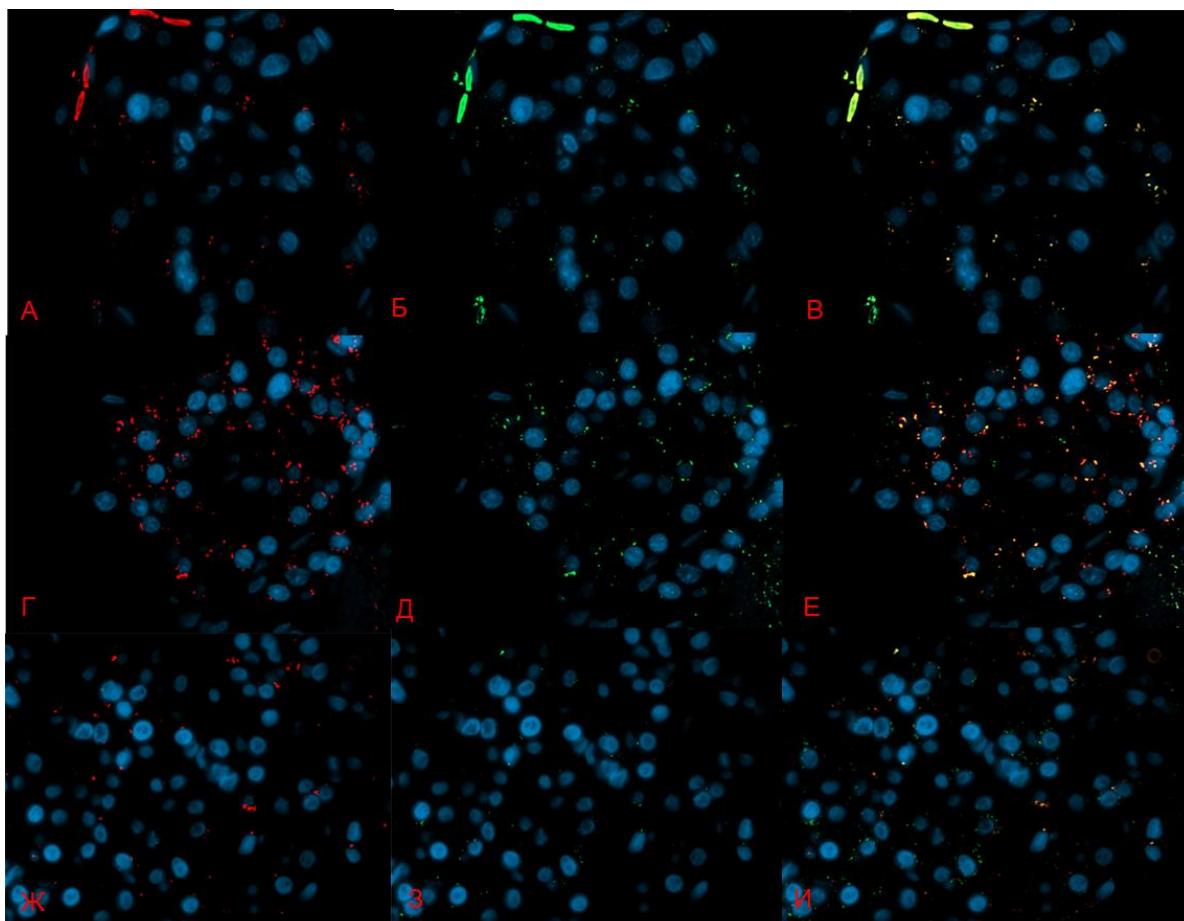


Рис. 3. Иммунофлуоресцентное исследование поджелудочной железы: А-В – с коктейлем инсулин/SARS-Cov-2 spike protein; Г-Е – с коктейлем инсулин/DPP4; Ж-И – с коктейлем инсулин/ACE2. Красная флюоресценция – инсулин, зеленая: Б - SARS-Cov-2 spike protein, Г - DPP4, Ж - ACE2; желтая/оранжевая – колокализация: В - инсулин/SARS-Cov-2 spike protein, Е - инсулин/DPP4, И - инсулин/ACE2; x680.

Таким образом, было подтверждено поражение β -клеток поджелудочной железы коронавирусом.

При статистическом анализе данных истории болезней, обнаружены значимые различия в уровне максимальной дозы глюкокортикостероидов (ГКС) в сутки между II и III волнами. Медианное значение максимальной суточной дозы в пересчете на дексаметазон во II волну составила 24мг/сутки, а в III волну – 16 мг/сутки. Выявлена умеренная корреляция максимального значения глюкозы с максимальной суточной дозой ГКС в пересчете на дексаметазон ($r=0,36$). При проведении клинико-морфологического сопоставления не выявлено корреляции между различными клиническими параметрами, отражающими активность течения коронавирусной инфекции (длительность заболевания, степень поражения легких по КТ, биохимические показатели крови — АЛТ, АСТ, уровень глюкозы, амилазы), и процентом пораженных клеток эндокринной железы.

При гистологическом исследовании образцов щитовидной железы пациентов II волны (n=6) наиболее частыми изменениями были гиперпластические узлы, обнаруженные у 4 из них. В двух случаях патологических изменений в щитовидной железе обнаружено не было.

При гистологическом исследовании образцов щитовидной железы III волны (n=4) наиболее частыми изменениями были гиперпластические узлы, обнаруженные у всех 4-ёх пациентов.

Экспрессия SARS-Cov-2 spike protein была выявлена в более 90% тироцитов (А-клетках) и во внутрифолликулярных макрофагах щитовидной железы у 9 из 10 пациентов (90%; Рис. 4). Не было значимых различий в количестве клеток с экспрессией SARS-Cov-2 у пациентов, проходивших лечение во II и в III волну. Медиана значений во II волну составила 99,5% (95,4; 100), в III волну - 94,75% (93,15; 96,25). Также была обнаружена значимая экспрессия ACE2 тироцитами в более 60% клеток и DPP4 в более 90% клеток.

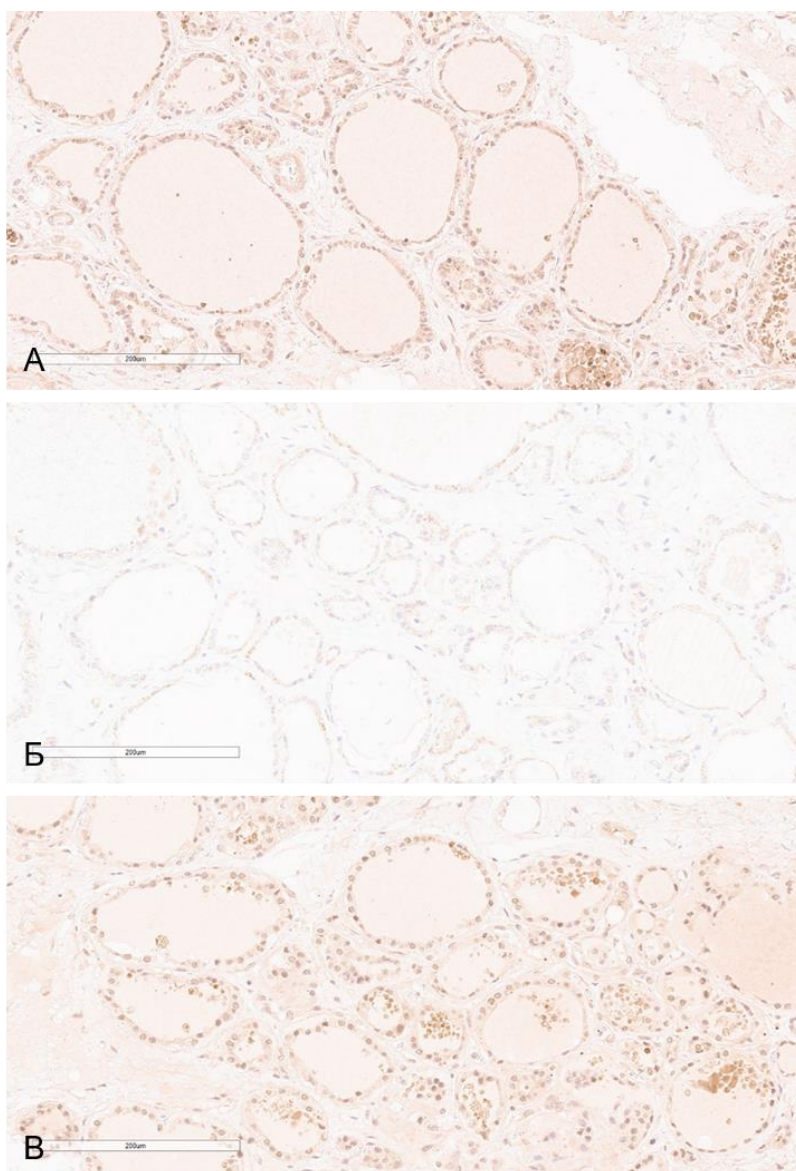


Рис. 4. Щитовидная железа пациента со II волной коронавирусной инфекции. Экспрессия: А - SARS-Cov-2 spike protein, Б - ACE2, В – DPP4 (коричневое окрашивание).

Таким образом, в отличие от поджелудочной железы, морфологическое исследование щитовидной железы показало широкое распространение антигенов SARS-Cov-2, ACE2 и DPP4 в клетках органа. При этом, как в поджелудочной железе, так и в щитовидной железе не было гистологических признаков панкреатита и тиреоидита.

ПЦР не выявила РНК SARS-Cov-2 ни в одном образце операционного материала щитовидной железы в постковидном периоде. У 1 пациентки после заболевания прошел 1 месяц, у одной – 2 месяца, у трех – 5 месяцев, у остальных – более 6 месяцев. Во всех случаях диагноз COVID-19 был подтвержден ПЦР мазка из зева и носоглотки. Средний возраст пациентов – 51 ± 16 лет. При гистологическом исследовании у 1-й пациентки была выявлена папиллярная карцинома, у 1-й – фолликулярная аденома, у 4-х – нетоксический многоузловой зоб, у 3-х – диффузный токсический зоб. Иммуногистохимическое исследование не выявило экспрессии SARS-Cov-2 ни в одной щитовидной железе.

Обсуждение

Наше исследование доказало наличие антигенов SARS-Cov-2 в β -клетках поджелудочной железы, что соответствует результатам других авторов [16], которые также с помощью электронной микроскопии продемонстрировали активный комплекс репликации вируса в инсулиновом островке и предположили, что инфекция стимулирует атрофию β -клеток после разрешения заболевания. Секвенирование РНК одиночных клеток и иммуноокрашивание *ex vivo* подтвердили, что несколько типов островковых клеток поджелудочной железы чувствительны к SARS-CoV-2, вызывая клеточный стрессовый ответ и индукцию хемокинов. При заражении SARS-CoV-2 β -клетки демонстрируют более низкую экспрессию инсулина и более высокую экспрессию маркеров альфа- и ацинарных клеток, включая глюкагон и трипсин-1 соответственно, что свидетельствует о клеточной трансдифференцировке [17]. Müller JA et al [18] так же, как и мы показали, что SARS-CoV-2 инфицирует и клетки экзокринной поджелудочной железы человека. Они подтвердили репликацию вируса в культивируемых инсулиновых островках и считают, что инфекция приводит к морфологическим, транскрипционным и функциональным изменениям, включая уменьшение количества инсулин-секреторных гранул в β -клетках и нарушение стимулированной глюкозой секреции инсулина.

ACE2 (ангиотензинпревращающий фермент 2) – фермент, который в той или иной степени экспрессируется в большинстве клеток человеческого организма, катализирует превращение ангиотензина I в ангиотензин 1-9 и ангиотензина II в ангиотензин 1-7, принимая участие в поддержании гомеостаза организма, влияя на регуляцию артериального давления и водно-электролитного баланса через ренин-ангиотензин-альдостероновую систему. Кроме того, ACE2/ангиотензин (1-7) стимулирует секрецию инсулина, снижает резистентность к инсулину и повышает выживаемость β -клеток поджелудочной железы [19]. В дополнение к ключевой роли в поддержании гомеостаза организма, ACE2 в настоящее время также является наиболее

изученной мишенью для гликопротеина SARS-CoV-2 S, способствуя инфицированию клеток-хозяев. Мы подтвердили наличие ACE2 в эндокринной, именно в β -клетках, и экзокринной частях поджелудочной железы, что подтверждает данные Liu F et al [20] и противоречит результатам Coate KC et al [21], которые утверждают, что ACE2 экспрессируется только в микроциркуляторном русле инсулиновых островков и экзокринной ткани, а также в протоках железы. В то же время Fignani D et al [22] считают, что ACE2 экспрессируется в перипитах микроциркуляторного русла поджелудочной железы и умеренно экспрессируется в редких рассеянных протоковых клетках. Используя различные антитела к ACE2, они показали, что недавно описанная короткая изоформа ACE2 преимущественно экспрессируется в β -клетках человека. Используя RT-qPCR, RNA-seq и скрининговый анализ визуализации с высоким содержанием, они продемонстрировали, что провоспалительные цитокины увеличивают экспрессию ACE2 в β -клеточной линии EndoC- β H1 и в первичных панкреатических островках человека. В совокупности эти данные указывают на потенциальную связь между SARS-CoV-2 и диабетом через предполагаемую инфекцию микроциркуляторного русла поджелудочной железы и/или клеток протоков и/или через прямой тропизм β -клеток вируса.

Мы также обнаружили DPP4/CD26 в β -клетках и экзокринной части поджелудочной железы. Известно, что SARS-CoV-2 может использовать рецептор DPP4/CD26 в качестве корецептора при проникновении в клетки [23]. Совместная экспрессия ACE2 и DPP4/CD26 позволяет лучше идентифицировать клетки. Распространение DPP4 в дыхательных путях человека способствует проникновению вируса в сами дыхательные пути и развитию цитокинового шторма и иммунопатологии, вызывая фатальную пневмонию COVID-19. Взаимодействие между шиповидным гликопротеином SARS-CoV-2 и DPP4/CD26 является ключевым фактором захвата и вирулентности. Трансмембранный гликопротеин DPP4/CD26 экспрессируется не только различными клетками иммунной системы, но и эндотелиоцитами и гладкомышечными клетками сосудов, почками, печенью, тонкой кишкой, легкими, поджелудочной железой, селезенкой и сердцем [24]. DPP4 участвует в эндогенном контроле гликемии, будучи физиологически или фармакологически связанным с деградацией глюкагона, глюкагоноподобными пептидами-1 и -2 (GLP-1 и GLP-2), желудочным ингибирующим пептидом или глюкозозависимым инсулиотропным полипептидом (GIP) и гастрин-высвобождающим пептидом (GRP) [25]. Было продемонстрировано, что глюкокортикоиды, например, дексаметазон, путем связывания с глюкокортикоидным рецептором могут напрямую индуцировать экспрессию гена DPP4, поскольку внутри промотора DPP4 есть два глюкокортикоид-чувствительных элемента (GRE). Интересно, что глюкокортикоиды интенсивно стимулируют миграцию макрофагов посредством DPP4-зависимого механизма [26]. Повышенная регуляция DPP4 глюкокортикоидами может способствовать гипергликемическому эффекту этих стероидных гормонов, но также может играть роль в патогенезе COVID-19,

учитывая, что эти гормоны являются терапевтическим средством против SARS-CoV-2 из-за их направленного противовоспалительного действия [27].

Клинические данные, полученные при использовании ингибиторов DPP4, показали, что эта протеаза оказывает влияние на риск и клинический исход COVID-19 [28].

Было постулировано, что может быть двунаправленная связь между COVID19 и диабетом, но неясно, может ли это напрямую зависеть от потери функции β -клеток после инфекции SARS-CoV-2 или быть следствием косвенного стресса клеток от повышенной резистентности к инсулину, лечения стероидами и глобального воспаления. Предполагаются следующие причины гипергликемии у пациентов с COVID-19: 1) прямое повреждение клеток вирусом, 2) трансдифференцировка β -клеток под воздействием вируса, 3) повышенное высвобождение гормонов стресса (кортизола, катехоламинов, гормона роста и глюкагона), которые высвобождаются во время инфекции, 3) подавление экспрессии ACE2 вирусом приводит к системному воспалению с выбросом широкого спектра провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, интерферона- γ и TNF- α), цитокинового шторма с повреждением поджелудочной железы по типу острого панкреатита, 4) сходство в белковой структуре вируса и β -клеток поджелудочной железы может индуцировать перекрестную реактивность и приводить к аутоиммунному панкреатиту, 5) активация вирусом каскада коагуляции с нарушением гемостаза, 6) отрицательный эффект препаратов, например ГКС, лопинавира/ритонавира, ремдесивира, 6) сама гипергликемия, связанная с инфекцией, оказывает мощное воспалительное действие на организм (особенно когда организм находится в состоянии стресса), тем самым увеличивая количество медиаторов воспаления с образованием «замкнутого круга» [29]. Наше исследование поджелудочной железы у 157 пациентов ни в одном случае не выявило острого, либо аутоиммунного панкреатита.

Пациенты с ожирением, которые часто умирали от COVID-19, уже обременены такими проблемами, как резистентность к инсулину на исходном уровне, в то время как присутствие ACE2 в поджелудочной железе в качестве белка связывания для SARS-CoV-2 может усугубить резистентность к инсулину, вызывая проблемы с точки зрения управления диабетом [30].

В целом, результаты нашего исследования в совокупности с данными литературы свидетельствуют о сложном, многофакторном патогенезе поражения поджелудочной железы при COVID-19, которое может привести как к СД 1 типа, так и СД 2 типа.

Обнаружение нами широкого распространения SARS-CoV-2 в щитовидной железе при отсутствии морфологических признаков тиреоидита подтверждает данные Roma AM et al [31]. Эти авторы продемонстрировали не только экспрессию вируса в клетках фолликулярного эпителия, но и подтвердили ее с помощью ПЦР. Другие авторы подтверждают лишь единичные случаи тиреоидита при COVID-19 [32, 33], а некоторые вообще отрицают наличие SARS-CoV-2 в щитовидной железе [34, 35].

Rotondi M et al [36] показали, что мРНК, кодирующая рецептор ACE-2, экспрессируется в фолликулярных клетках щитовидной железы, что делает их потенциальной мишенью для проникновения SARS-CoV-2, что соответствует нашим результатам. Наличие обнаруженной нами DPP4 в щитовидной железе подтверждает исследование Ozóg J et al [37], которые с помощью ПЦР выявили протеазу в нормальной железе.

Особенно важным для нас является факт отсутствия РНК SARS-CoV-2 в щитовидной железе уже через один месяц после заболевания, что представляется логичным, учитывая высокий метаболизм и усиленную васкуляризацию органа.

Заключение

Результаты нашего исследования продемонстрировали наличие SARS-CoV-2 в эндокринной и экзокринной частях поджелудочной железы у пациентов с COVID19. Причем в III волну количество пораженных β -клеток было статистически достоверно больше, чем во II волну (соответственно 11 и 1,9%). Экспрессия ACE2 и DPP4 также определялась в эндокринной и экзокринной частях железы с максимальным количеством ACE2+клеток островков Лангерганса 11,4% и DPP4+клеток 2,1%. Щитовидная железа показала гораздо большую распространенность SARS-CoV-2, ACE2 и DPP4 в фолликулярном эпителии, однако у всех 5 пациентов, перенесших COVID-19 в течение последнего полугодия, РНК вируса обнаружена не была.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhang, T., Mei, Q., Zhang, Z. *et al.* Risk for newly diagnosed diabetes after COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med* 20, 444 (2022).
2. Rubino F, Amiel SA, Zimmet P, Alberti G, Bornstein S, Eckel RH, et al. New-onset diabetes in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;383:789–90.
3. Sathish T, Tapp RJ, Cooper ME, Zimmet P. Potential metabolic and inflammatory pathways between COVID-19 and new-onset diabetes. *Diabetes Metab*. 2021;47:101204.
4. Banerjee M, Pal R, Dutta S. Risk of incident diabetes post-COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Prim Care Diabetes*. 2022.
5. Rahmati M, Keshvari M, Mirnasuri S, Yon DK, Lee SW, Il Shin J, et al. The global impact of COVID-19 pandemic on the incidence of pediatric new-onset type 1 diabetes and ketoacidosis: a systematic review and meta-analysis. *J Med Virol*. 2022;94:5112–27.
6. Huang I, Lim MA, Pranata R. Diabetes mellitus is associated with increased mortality and severity of disease in COVID-19 pneumonia - a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Diabetes Metab Syndr*. 2020;14:395–403.
7. Kumar A, Arora A, Sharma P, Anikhindi SA, Bansal N, Singla V, et al. Is diabetes mellitus associated with mortality and severity of COVID-19? A meta-analysis. *Diabetes Metab Syndr*. 2020;14:535–45.
8. Guo L, Shi Z, Zhang Y, Wang C, Do Vale Moreira NC, Zuo H, et al. Comorbid diabetes and the risk of disease severity or death among 8807 COVID-19 patients in China: a meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract*. 2020;166:108346.

9. Rey-Reñones C, Martinez-Torres S, Martín-Luján FM, Pericas C, Redondo A, Vilaplana-Carnerero C, et al. Type 2 diabetes mellitus and COVID-19: a narrative review. *Biomedicines*. 2022;10:2089.
10. Wei L, Sun S, Xu CH, Zhang J, Xu Y, Zhu H, Peh SC, Korteweg C, McNutt MA, Gu J. Pathology of the thyroid in severe acute respiratory syndrome. *Hum. Pathol*. 2007;38(1):95–102.
11. Rotondi M., Coperchini F., Ricci G., Denegri M., et al. Detection of SARS-COV-2 receptor ACE-2 mRNA in thyroid cells: a clue for COVID-19-related subacute thyroiditis. *Journal of endocrinological investigation*. 44(5), 1085–1090 (2021).
12. Lania A, Sandri MT, Cellini M, Mirani M, Lavezzi E, Mazziotti G. Thyrotoxicosis in patients with COVID-19: the THYRCOV study. *Eur. J. Endocrinol*. 2020;183(4):381–387. doi: 10.1530/eje-20-0335.
13. Brancatella A., Ricci D., Cappellani D., Viola N., et al. Is subacute thyroiditis an underestimated manifestation of SARS-CoV-2 infection? Insights from a case series. *J. Clin. Endocrinol. Metabol*. 105(10), e3742–e3746 (2020).
14. Pizzocaro A, Colombo P, Vena W, Ariano S, et al. Humanitas COVID-19 Task force. Outcome of Sars-COV-2-related thyrotoxicosis in survivors of Covid-19: a prospective study. *Endocrine*. 2021 Aug;73(2):255-260.
15. Barchuk A, Skougarevskiy D, Kouprianov A. et al. (2022) COVID-19 pandemic in Saint Petersburg, Russia: Combining population-based serological study and surveillance data. *PLoS ONE* 17(6): e0266945.
16. Millette K, Cuala J, Wang P, Marks C, et al. SARS-CoV2 infects pancreatic beta cells in vivo and induces cellular and subcellular disruptions that reflect beta cell dysfunction. *Res Sq [Preprint]*. 2021 Jul 20:rs.3.rs-592374.
17. Tang X, Uhl S, Zhang T, Xue D, et al. SARS-CoV-2 infection induces beta cell transdifferentiation. *Cell Metab*. 2021 Aug 3;33(8):1577-1591.e7.
18. Müller JA, Groß R, Conzelmann C, Krüger J, Merle U, Steinhart J, et al. SARS-CoV-2 infects and replicates in cells of the human endocrine and exocrine pancreas. *Nat Metab*. 2021;3(2):149–65
19. Santos R.A.S., Sampaio W.O., Alzamora A.C., Motta-Santos D., Alenina N., Bader M., Campagnole-Santos M.J. The ACE2/Angiotensin-(1–7)/MAS Axis of the Renin-Angiotensin System: Focus on Angiotensin-(1–7) *Physiol. Rev*. 2018;98:505–553.
20. Liu F, Long X, Zhang B, Zhang W, Chen X, Zhang Z. ACE2 Expression in Pancreas May Cause Pancreatic Damage After SARS-CoV-2 Infection. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020 Aug;18(9):2128-2130.e2. doi: 10.1016/j.cgh.2020.04.040. Epub 2020 Apr 22. PMID: 32334082; PMCID: PMC7194639.
21. Coate KC, Cha J, Shrestha S, Wang W, Gonçalves LM, Almaça J, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Factors ACE2 and TMPRSS2 Are Expressed in the Microvasculature and Ducts of Human Pancreas but Are Not Enriched in β Cells. *Cell Metab*. 2020;32(6):1028–40.e4.
22. Fignani D, Licata G, Brusco N, Nigi L, Grieco GE, Marselli L, et al. SARS-CoV-2 Receptor Angiotensin I-Converting Enzyme Type 2 (ACE2) Is Expressed in Human Pancreatic β -Cells and in the Human Pancreas Microvasculature. *Frontiers in Endocrinology*. 2020;11(876)
23. Solerte SB, Di Sabatino A, Galli M, Fiorina P. Dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) inhibition in COVID-19. *Acta Diabetol*. 2020 Jul;57(7):779-783.
24. Lei Y, Hu L, Yang G, Piao L, Jin M, Cheng X. Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibition for the Treatment of Cardiovascular Disease - Recent Insights Focusing on Angiogenesis and Neovascularization. *Circ J*. 2017 May 25;81(6):770-776.
25. Mulvihill E.E., Drucker D.J. Pharmacology, physiology, and mechanisms of action of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Endocr. Rev*. 2014;35:992–1019.

26. Diaz-Jimenez D., Petrillo M.G., Busada J.T., Hermoso M.A., Cidlowski J.A. Glucocorticoids mobilize macrophages by transcriptionally up-regulating the exopeptidase DPP4. *J. Biol. Chem.* 2020;295:3213–3227.
27. NIH COVID-19 Treatment Guidelines. [(accessed on 15 August 2022)]; Available online: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/immunomodulators/corticosteroids/>
28. Sebastián-Martín A, Sánchez BG, Mora-Rodríguez JM, Bort A, Díaz-Laviada I. Role of Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP4) on COVID-19 Physiopathology. *Biomedicines.* 2022 Aug 19;10(8):2026.
29. Abramczyk U, Nowaczyński M, Słomczyński A, Wojnicz P, Zatyka P, Kuzan A. Consequences of COVID-19 for the Pancreas. *Int J Mol Sci.* 2022 Jan 13;23(2):864.
30. Taneera J., El-Huneidi W., Hamad M., Mohammed A.K., Elaraby E., Hachim M.Y. Expression Profile of SARS-CoV-2 Host Receptors in Human Pancreatic Islets Revealed Upregulation of ACE2 in Diabetic Donors. *Biology.* 2020;9:215.
31. Poma AM, Bonuccelli D, Giannini R, Macerola E, Vignali P, Ugolini C, Torregrossa L, Proietti A, Pistello M, Basolo A, Santini F, Toniolo A, Basolo F. COVID-19 autopsy cases: detection of virus in endocrine tissues. *J Endocrinol Invest.* 2022 Jan;45(1):209-214.
32. Yao XH, Li TY, He ZC, et al.. A pathological report of three COVID-19 cases by minimal invasive autopsies [article in Chinese]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2020;49(5):411-417.
33. Chen W, Tian Y, Li Z, Zhu J, Wei T, Lei J. Potential Interaction Between SARS-CoV-2 and Thyroid: A Review. *Endocrinology.* 2021 Mar 1;162(3):bqab004.
34. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med.* 2020;46(5):846-848.
35. Barton LM, Duval EJ, Stroberg E, Ghosh S, Mukhopadhyay S. COVID-19 autopsies, Oklahoma, USA. *Am J Clin Pathol.* 2020;153(6):725-733.
36. Rotondi M, Coperchini F, Ricci G, et al.. Detection of SARS-COV-2 receptor ACE-2 mRNA in thyroid cells: a clue for COVID-19-related subacute thyroiditis. *J Endocrinol Invest.* Published October 6, 2020. doi:10.1007/s40618-020-01436-w
37. Ozóg J, Jarzab M, Pawlaczek A, Oczko-Wojciechowska M, Włoch J, Roskosz J, Gubała E. Ekspresja genu DPP4 w raku brodawkowatym tarczycy [Expression of DPP4 gene in papillary thyroid carcinoma]. *Endokrynol Pol.* 2006;57 Suppl A:12-7.