

**МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ
ИССЛЕДОВАНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ II И III ВОЛН COVID-19 И
В ПОСТКОВИДНОМ ПЕРИОДЕ**

Митрофанова Л.Б., Воробьева О.М., Стерхова К.А., Макаров И.А., Расулов З.М.,
Пальцев А.А., Васькова Н.Л., Гуляев Д.А.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова»

Минздрава России, Санкт-Петербург, Аккуратова 2, 197143

Резюме

В современной литературе растет число сообщений о том, что неврологические нарушения проявляются не только во время COVID-19, но и сохраняются у пациентов в постостром периоде. **Цель исследования:** определить наличие SARS-CoV-2 в структурах головного мозга у пациентов, умерших от острого COVID-19 и перенесших коронавирусную инфекцию.

Материалы и методы. Материалом послужили фрагменты коры больших полушарий, ствола и гиппокампа 57 пациентов, умерших от COVID-19 во II и III волны заболеваемости; глиомы и артериовенозная мальформация 10 пациентов (операционный материал) и кора лобных долей 3 пациентов (аутопсийный материал), перенесших коронавирусную инфекцию; кора лобных долей 5 пациентов, умерших в 2018 г (группа контроля). Иммуногистохимический анализ проводился с антителами к SARS-CoV-2 spike protein, ACE2, CD26, ОТ-ПЦР на РНК SARS-CoV-2 – в головном мозге у 10 пациентов II волны COVID-19 и операционном материале 10 больных с Long COVID.

Результаты. Была выявлена экспрессия SARS-CoV-2 в нейронах коры больших полушарий, ствола и гиппокампа у 100% пациентов II волны, у 70% – III волны COVID-19 и 77% – с Long COVID. При этом не было выявлено различий в количестве нейронов с экспрессией этого антигена ни в одной из групп. Среднее количество нейронов с экспрессией ACE2 и CD26 во II волну составило 83 и 8%, в III – 75 и 20% соответственно. Не было выявлено корреляции между количеством нейронов с экспрессией SARS-CoV-2, CD26 и ACE2. ОТ-ПЦР выявила подпороговые значения РНК SARS-CoV-2 у 23% пациентов с глиомами.

Заключение. Иммуногистохимическое исследование выявило экспрессию SARS-CoV-2 spike protein в нейронах коры больших полушарий, стволе и гиппокампе пациентов с острым COVID-19, а также в нейронах и опухолевых клетках глиом больных с Long COVID. При этом ОТ-ПЦР обнаружила РНК вируса только в подпороговых значениях у 23% больных с опухолями, что может свидетельствовать о непродуктивной персистенции вируса в

центральной нервной системе и не исключает его роль в онкогенезе и прогрессии новообразований.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, ACE2, DPP4, иммуногистохимическое исследование и полимеразная цепная реакция головного мозга, Long COVID

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR BIOLOGICAL STUDY OF THE BRAIN IN PATIENTS WITH II AND III WAVES OF COVID-19 AND IN THE POST-COVID PERIOD.

Mitrofanova L.B., Vorobeve O.M., Sterkhova K.A., Makarov I.A., Rasulov Z.M., Pal'tsev A.A., Vas`kova N.L., Gulyaev D.A.

Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Akkuratova 2, 197143

Abstract

There are a growing number of reports in the current literature that neurological disorders are not only manifest during COVID-19, but also persist in patients in the post-acute period. **The aim:** to determine the presence of SARS-CoV-2 in the brain structures of patients who died from acute COVID-19 and had a coronavirus infection.

Materials and methods. The materials were fragments of the cerebral cortex, trunk and hippocampus of 57 patients who died from COVID-19 in the II and III waves of the disease; gliomas and arteriovenous malformation in 10 patients (surgical material) and the cortex of the frontal lobes in 3 patients (autopsy material) who had a coronavirus infection; cortex of the frontal lobes of 5 patients who died in 2018 (control group). Immunohistochemical analysis was performed with antibodies to SARS-CoV-2 spike protein, ACE2, CD26, RT-PCR for SARS-CoV-2 RNA - in the brain of 10 patients of the second wave of COVID-19 and the surgical material of 10 patients with Long COVID.

Results. SARS-CoV-2 expression was detected in neurons of the cerebral cortex, brainstem and hippocampus in 100% of patients with wave II, 70% with wave III COVID-19 and 77% with Long COVID. At the same time, no differences were found in the number of neurons with the expression of this antigen in any of the groups. The average number of neurons expressing ACE2 and CD26 in wave II was 83 and 8%, and in wave III, 75 and 20%, respectively. No correlation was found between the number of neurons expressing SARS-CoV-2, CD26, and ACE2. RT-PCR reveals subthreshold SARS-CoV-2 RNA values in 23% of patients with gliomas.

Conclusion. Immunohistochemical study revealed the expression of SARS-CoV-2 spike protein in neurons of the cerebral cortex, brainstem and hippocampus of patients with acute COVID-

19, as well as in neurons and tumor cells of gliomas of patients with Long COVID. At the same time, RT-PCR detected viral RNA only at subthreshold values in 23% of patients with tumors, which may indicate unproductive persistence of the virus in the central nervous system and does not exclude its role in oncogenesis and tumor progression.

Keywords: SARS-CoV-2, ACE2, DPP4, immunohistochemistry and brain polymerase chain reaction, Long COVID

Введение

Известно, что COVID-19 сопровождается неврологическими симптомами: головной болью, головокружениями, потерей или нарушением обоняния, вкуса, потерей мышечной координации, вегетативного контроля дыхания, вялостью, депрессией и тревогой [1-4]. В связи с противоэпидемическими мерами в I волну пандемии морфологическое исследование головного мозга в Санкт-Петербурге не осуществлялось. Такая возможность появилась только ко II и III волнам. В настоящий момент накопленные аутопсийные данные пациентов с COVID-19 показали, что РНК SARS-CoV-2 обнаруживается в ткани головного мозга [5]. Большинство людей, заболевших COVID-19, полностью выздоравливают, однако, у части пациентов долго определяются различные симптомы неврологического поражения, включая головную боль, повышенную утомляемость, нарушение памяти, проблемы с речью, потерю вкуса и обоняния, когнитивные нарушения, парестезии, головокружение и проблемы с равновесием, чувствительность к свету и шуму, вегетативную дисфункцию, шум в ушах, потерю слуха [6]. Затяжной COVID-19 или «постострые последствия COVID-19» (Long COVID или «post-acute sequelae of COVID-19») — это мультисистемное состояние, часто сопровождающееся тяжелыми симптомами, которые следуют за инфекцией SARS-CoV-2. Заболеваемость оценивается в 10–30% случаев без госпитализации, 50–70% — госпитализированных и 10–12% — вакцинированных [7]. При этом самый высокий процент затяжного COVID-19 документируется в возрасте от 36 до 50 лет. Синдром включает сердечно-сосудистые, тромботические, цереброваскулярные заболевания, диабет 2 типа, миалгический энцефаломиелит/синдром хронической усталости, дисавтономию, синдром постуральной ортостатической тахикардии [8-12]. Симптомы могут сохраняться в течение многих лет [13]. Существует несколько гипотез причин Long COVID: персистенция SARS-CoV-2 в тканях; иммунная дисрегуляция с реактивацией других вирусов; воздействие SARS-CoV-2 на микробиоту, включая виром; на аутоиммунитет с активацией иммунной системы за счет молекулярной мимикрии; на микрососудистое свертывание крови с эндотелиальной дисфункцией; дисфункциональная передача сигналов в стволе мозга и/или блуждающем нерве

[14]. В настоящее время не существует проверенных эффективных методов лечения Long COVID [15].

Цель исследования: определить наличие SARS-CoV-2 в структурах головного мозга у пациентов, умерших от острого COVID-19 и перенесших коронавирусную инфекцию.

Материалы и методы

Материалом послужили фрагменты коры больших полушарий, ствола и гиппокампа головного мозга и истории болезни 57 пациентов, умерших во II и III волны COVID-19 от респираторного дистресс-синдрома и пневмонии; кора полушарий одного пациента с артерио-венозной мальформацией и 9 – с глиальными опухолями (операционный материал); кора лобных долей (секционный материал) 3 пациентов, перенесших подтвержденную коронавирусную инфекцию ранее, чем за 3 месяца до смерти от сердечно-сосудистых заболеваний (3 мужчин); фрагменты коры полушарий 5 пациентов, умерших от сердечно-сосудистых заболеваний в 2018 году (группа контроля; 3 мужчины и 2 женщины). Среди 57 пациентов (20 – II волны, 37 – III волны) было 33 женщины и 24 мужчины; среди пациентов, переживших коронавирусную инфекцию (операционный материал) было 7 мужчин и 3 женщины. У всех больных вирусная инфекция была подтверждена с помощью полимеразной цепной реакции после обратной транскрипции (ОТ-ПЦР) в мазке из носа и зева при жизни и в тканях трахеи, бронха и легких посмертно (нативный материал).

Проводились гистологическое и иммуногистохимическое исследование с антителами к SARS-CoV-2 spike protein, ACE2, CD26 (DPP4) (10 пациентов II волны, 10 пациентов III волны, операционный материал 10 пациентов, аутопсийный материал 3 пациентов постковидного периода и 5 пациентов из группы контроля) и ОТ-ПЦР на РНК SARS-CoV-2 парафиновых блоков головного мозга и легких у 10 пациентов II волны COVID-19 и операционного материала головного мозга 10 пациентов (Таблица 1).

Статистический анализ проводился с помощью программного обеспечения Statistica v.10. Использовались непараметрические методы анализа с определением критерия критерий Манна-Уитни. Различия считались значимыми при $p < 0,05$. Для оценки корреляций двух переменных применялся ранговый корреляционный анализ Спирмена. Сила корреляции (r) интерпретировалась как слабая при $r < 0,29$, умеренная – $r = 0,3-0,49$, : значимая – $r = 0,5-0,69$, сильная – $r = 0,7-0,89$ и очень сильный при $r > 0,9$. Корреляция считалась положительной при значениях $r > 0$, и отрицательной – $r < 0$.

Таблица 1. Характеристика материала и методов исследования

№	Пол, возраст	Морфологические изменения в головном мозге	Время заболевания COVID-19	Вакцинация	Локализация образцов исследования	ИГХИ	ПЦР НА РНК
II ВОЛНА COVID-19 АУТОПСИИ							
	Ж, 83	Гнойный менингоэнцефалит	Декабрь 2020		Кора лобной и височной доли, ствол	SARS-CoV-2, ACE2, DPP4	Парафиновые блоки
	М, 69	Энцефалопатия смешанного генеза	Декабрь		Кора лобной и височной доли, ствол	S A R	Парафиновые блоки
	Ж, 93	Энцефалопатия смешанного генеза	Декабрь		Кора лобной и височной доли, ствол	S A R	Парафиновые блоки
	Ж, 83	Энцефалопатия смешанного генеза	Декабрь		Кора лобной и височной доли, ствол	S A R	Парафиновые блоки
	Ж, 55	Энцефалопатия смешанного генеза	Декабрь		Кора лобной и височной доли, ствол	S A R	Парафиновые блоки
	Ж, 89	Энцефалопатия смешанного генеза	Декабрь		Кора лобной и височной доли, гиппокамп	S A R	Парафиновые блоки
	Ж, 67	Энцефалопатия смешанного генеза	Декабрь		Кора лобной и височной доли, гиппокамп	S A R	Парафиновые блоки
	М, 80	Энцефалопатия смешанного генеза	Январь		Кора лобной и височной доли, гиппокамп	S A R	Парафиновые блоки
	М, 74	Энцефалопатия смешанного генеза	Январь		Кора лобной и височной доли	S A	Парафиновые блоки
	М, 81	Энцефалопатия смешанного генеза	Январь		Кора лобной и височной доли	S A	Парафиновые блоки
III ВОЛНА COVID-19 АУТОПСИИ							
	Ж, 83	Энцефалопатия смешанного генеза	июль		Кора лобной и височной доли, ствол	SARS-CoV-2, ACE2, DPP4	
	Ж, 73	Энцефалопатия смешанного генеза	Июль		Кора лобной и височной доли,	SARS-CoV-2, ACE2, DPP4	

					ствол		
	Ж, 86	Энцефалопатия смешанного генеза	Июль		Кора лобной и височной доли, ствол	SARS-CoV-2, ACE2, DPP4	
	Ж, 93	Энцефалопатия смешанного генеза	Июль		Кора лобной и височной доли, гиппокамп	SARS-CoV-2, ACE2, DPP4	
	Ж, 74	Энцефалопатия смешанного генеза	Июль		Кора лобной и височной доли, гиппокамп	SARS-CoV-2, ACE2, DPP4	
	М, 83	Энцефалопатия смешанного генеза	Июль		Кора лобной и височной доли	SARS-CoV-2, ACE2, DPP4	
	М, 58	Энцефалопатия смешанного генеза	Июль		Кора лобной и височной доли	SARS-CoV-2, ACE2, DPP4	
	М, 81	Энцефалопатия смешанного генеза	Август		Кора лобной и височной доли	SARS-CoV-2, ACE2, DPP4	
	Ж, 92	Энцефалопатия смешанного генеза	Август		Кора лобной и височной доли	SARS-CoV-2, ACE2, DPP4	
	М, 81	Энцефалопатия смешанного генеза	Август		Кора лобной и височной доли	SARS-CoV-2, ACE2, DPP4	
ОПЕРАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ							
	М, 35	Олигодендроглиома, Grade 3 от 25 января 2023г	Ноябрь февраль	-	Правая лобная доля	SARS-CoV-2	Замороженны й материал опухоли и перифокальн ой зоны
	М, 49	Олигодендроглиома, Grade 2 от 26 января 2023г	Тяжелое течение инфекци и в декабре	-	Правая лобная доля	SARS-CoV-2	Замороженны й материал опухоли и перифокальн ой зоны
	М, 39	Олигодендроглиома, Grade 2 от 9 февраля	Легкое течение инфекци и в декабря	Спутн ик V в ноябре	Правая лобная доля	SARS-CoV-2	Замороженны й материал опухоли и перифокальн ой зоны
	М, 67	Глиобластома, Grade 4 от 3 марта	Тяжелое течение инфекци	Спутн ик V в марте	Правая височная доля	SARS-CoV-2	Замороженны й материал опухоли и

			и в декабре				перифокальн ой зоны
	Ж, 30	Астроцитомы, Grade3 от 3 марта	Август	-	правая теменно- височная доля	SARS-CoV-2	Замороженны й материал опухоли и перифокальн ой зоны
	М, 78	Глиобластома, Grade 4 от 15 марта 2023	2021 июнь	-	Правые лобная и височная доли	SARS-CoV-2	Замороженны й материал опухоли и перифокальн ой зоны
	М, 71	Глиобластома, Grade 4, гигантоклеточный вариант	2020, 2021, ноябрь		Левые височная и лобная доли	SARS-CoV-2	Замороженны й материал опухоли и перифокальн ой зоны
	Ж, 57	Глиобластома, Grade 4 от 16 марта 2023	2021	Еривас corona в 2021	Правые теменная и височные доли доля	SARS-CoV-2	Замороженны й материал опухоли и перифокальн ой зоны
	М, 57	Астроцитомы, Grade 4, IDH1+ от 21 марта 2023	2022 февраль	Еривас corona в 2021	Левая лобная доля	SARS-CoV-2	Замороженны й материал опухоли и перифокальн ой зоны
	Ж, 40	Артериовенозная мальформация от 4 апреля 2023	2022 февраль	Спутн ик V в январе	Левая височная доля	SARS-CoV-2	Замороженны й материал
АУТОПСИИ 2023г							
	М, 69	Отек головного мозга (проявления ХСН)	За 3 месяца до смерти в 2023г	Спутн ик V в январе	Кора лобной и височной доли	SARS-CoV-2	
	М, 63	Отек головного мозга (проявления ХСН)	За 3 месяца до смерти в	Спутн ик V в феврал е 2021	Кора лобной и височной доли	SARS-CoV-2	

			2023г				
	М, 79	Отек головного мозга (проявления ХСН)	За 3 месяца до смерти в 2023г	Спутник V в мае	Кора лобной и височной доли	SARS-CoV-2	
АУТОПСИИ КОНТРОЛЬ							
	М, 73	ХСН	Смерть		Кора лобной доли	SARS-CoV-2	
	Ж, 69	ХСН	Смерть		Кора лобной доли	SARS-CoV-2	
	Ж, 78	ХСН	Смерть		Кора лобной доли	SARS-CoV-2	
	М, 63	ХСН	Смерть		Кора лобной доли	SARS-CoV-2	
	М, 70	ХСН	Смерть		Кора лобной доли	SARS-CoV-2	

*ИГХИ – иммуногистохимическое исследование, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Результаты исследования

Исследование головного мозга пациентов II и III волн COVID-19

При гистологическом исследовании в головном мозге пациентов были обнаружены признаки минимального периецеллюлярного отека головного мозга, ишемических изменений нейронов, отложения липофусцина в нейронах, саттелитоз, амилоидные тельца, а также признаки артериальной васкулопатии. В единичных случаях выявлялись периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация, мелкие ишемические повреждения головного мозга, фокусы увеличения количества олигодендроглии и очаговая микроглиальная реакция. У трех пациентов, умерших во II волну, были выявлены микроочаги нейтрофильной инфильтрации. В одном из этих случаев она сопровождалась разлитым гнойным менингитом. Пациенты III волны коронавирусной инфекции отличались мелкими периваскулярными кровоизлияниями.

Экспрессия SARS-CoV-2 spike protein наблюдалась в нейронах во всех фрагментах коры больших полушарий у 100% пациентов II волны и у 70% пациентов III волны COVID-19 (Рис. 1А). Медиана количества нейронов с экспрессией антигена в коре больших полушарий составила 36,7 [20,5; 46]%, в стволе – 8,7 [0; 13,6]%. При этом количество пораженных нейронов коры больших полушарий было значимо выше, чем в стволе мозга и гиппокампе ($p=0,047$; Рис. 2).

Во II волну COVID-19 в среднем было поражено 13,6 [0,5; 42,5]% нейронов коры больших полушарий, в III – 31,1 [9,2; 42,5]%. При этом не было выявлено различий в количестве нейронов с экспрессией SARS-CoV-2 у пациентов с разными волнами заболеваемости.

Среднее количество нейронов с экспрессией ACE2 во II волну составило 83 [78; 94]% (Рис. 1Б), в III – 75 [100; 84]%. При этом не было выявлено достоверных различий между пациентами этих двух волн.

Среднее количество нейронов с экспрессией CD26 во II волну составило 8 [3; 12]% (Рис. 1В), в III – 20 [6; 22]%. Не было выявлено различий в количестве нейронов с экспрессией этого маркера у пациентов двух волн.

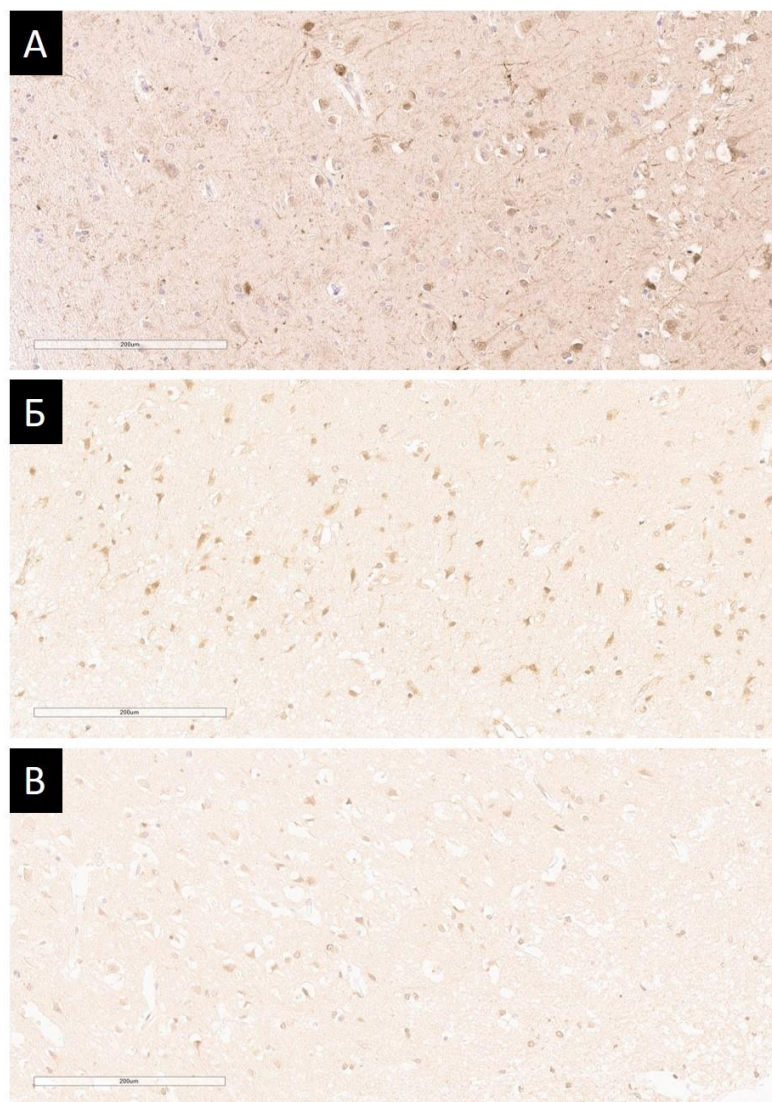


Рисунок 1. Кора лобной доли пациента К., 67 лет, умершего во II волну COVID-19. А. экспрессия SARS-CoV-2 spike protein. Б. Экспрессия ACE2. В. Экспрессия CD26 в нейронах.

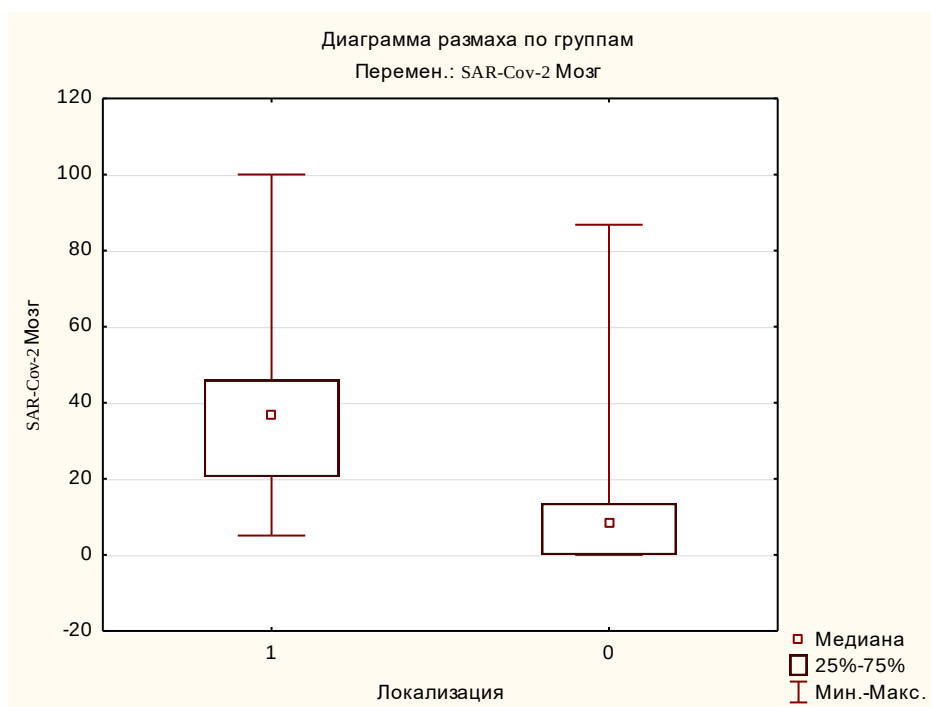


Рисунок 2. Медиана количества нейронов с экспрессией SARS-CoV-2 spike protein в коре (1) и стволе (0) головного мозга.

Не было выявлено корреляции между количеством нейронов с экспрессией SARS-CoV-2, CD26 и ACE2.

ОТ-ПЦР парафиновых блоков головного мозга 10 умерших пациентов II волны не выявило РНК SARS-CoV-2, тогда как у 80% этих больных в легких РНК вируса определялась.

Исследование головного мозга пациентов, переболевших COVID-19

У пациента с прооперированной по жизненным показаниям артериовенозной мальформацией сосудов головного мозга не было выявлено экспрессии SARS-CoV-2 ни в ткани мозга между сосудами мальформации, ни в перифокальной зоне. У пациентов с глиальными опухолями головного мозга экспрессия антигена вируса определялась в нейронах перифокальной зоны и в клетках опухоли в 7 из 9 случаев (Рис. 3 А, Б, В; пациенты № 21, 22, 23, 24, 25, 27, 29 Таблицы 1). При этом доля пораженных нейронов была от 1 до 70% в обеих зонах. ОТ-ПЦР выявила подпороговые значения РНК SARS-CoV-2 в опухоли и перифокальной зоне у 2 из 9 пациентов (№ 21 и №27 Таблицы 1).

Во всех 3 секционных случаях у пациентов, перенесших COVID-19 за 3 месяца до смерти от хронической сердечной недостаточности, отмечалась экспрессия SARS-Cov-2 в нейронах коры лобной доли (Рис. 3Г).

Ни у одного из пациентов группы контроля антигена вируса выявлено не было.

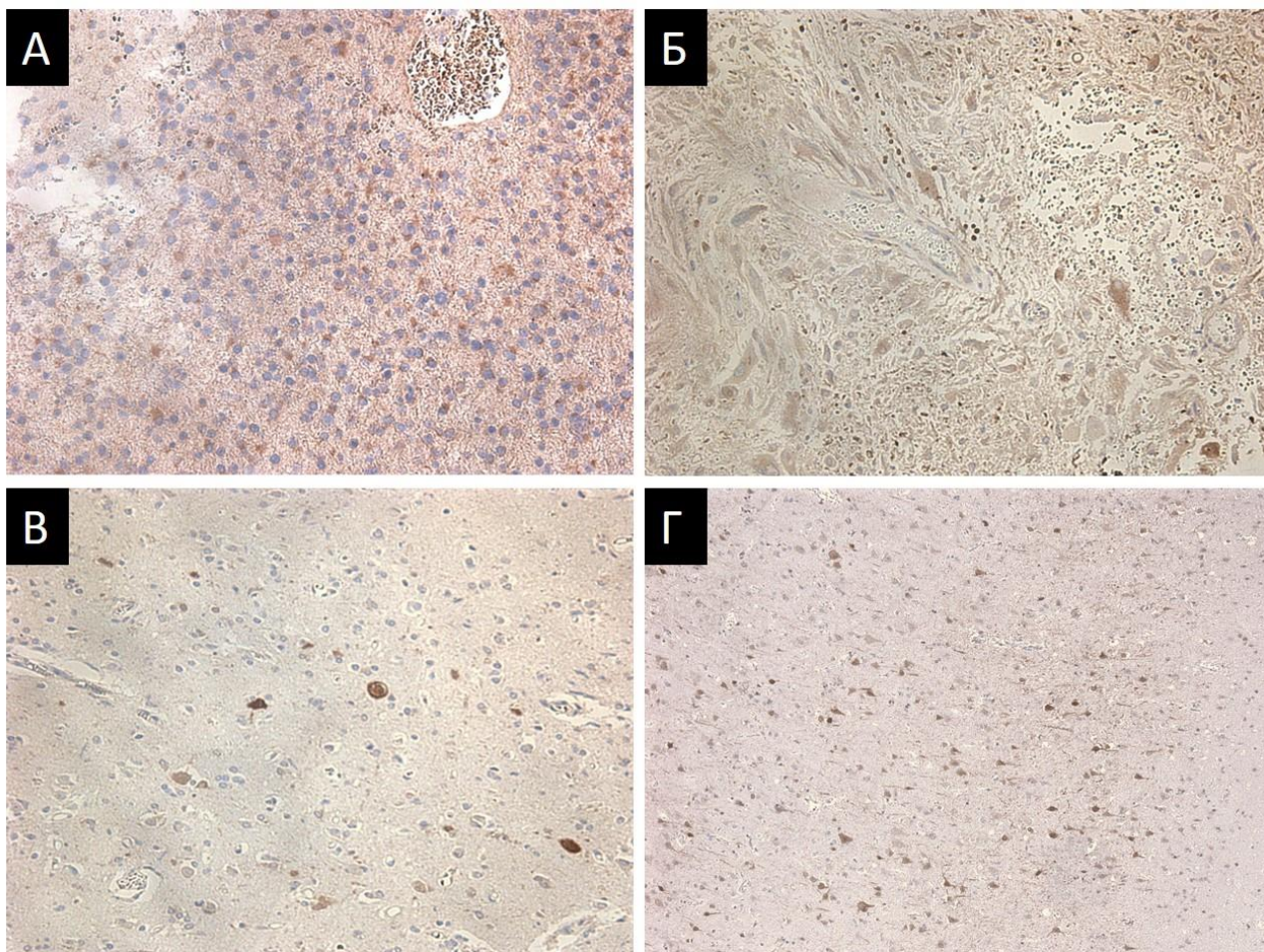


Рисунок 3. Головной мозг пациентов, перенесших COVID-19. SARS-CoV-2 spike protein: А - в клетках астроцитомы, Grade 4; Б – в клетках глиобластомы, Grade 4; В – в перифокальной зоне глиобластомы, Grade 4; x200; Г – в нейронах коры лобной доли пациента, умершего от хроническое сердечной недостаточности (коричневое окрашивание); x100.

Обсуждение

Наше исследование доказало наличие антигенов SARS-CoV-2 spike protein в нейронах коры больших полушарий головного мозга, в меньшей степени ствола и гиппокампа у пациентов, умерших от острого COVID-19, а также у пациентов перенесших коронавирусную инфекцию. Ранние исследования, посвященные нейротропизму коронавируса, описывали чувствительность первичных астроцитов и микроглии человека к HCoV-229E и HCoV-OC43, даже несмотря на то, что заражение HCoV-229E происходило в отсутствие или при продукции вирусных частиц от низкой до неопределяемой [16]. Неврологические проявления были описаны у некоторых инфицированных коронавирусом, в том числе SARS-CoV-2. При этом повреждение центральной нервной системы трактовалось как следствие нейроинвазии либо гематогенным, либо трансеверальным путем [17].

Результаты нашего исследования подтверждают данные других авторов, которые обнаружили SARS-CoV-2 в нейронах коры лобной доли, эндотелиальных клетках капилляров, обонятельном нерве и стволе мозга [18-20].

Мы также подтвердили результаты работы Wu B. et al [21], что SARS-CoV-2 связываются с рецептором ACE2 (ангиотензинпревращающий фермент 2) для доступа к нейронам человека, и засвидетельствовали экспрессию DPP4/CD26 в этих клетках, как и другие авторы [22]. При этом известно, что DPP4 человека обнаруживается в коре головного мозга с меньшим распространением в других областях.

ACE2 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. 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 [23].

Известно, что SARS-CoV-2 также может использовать рецептор DPP4/CD26 в качестве корецептора при проникновении в клетки хозяина. Совместная экспрессия ACE2 и DPP4/CD26 позволяет лучше их идентифицировать [24]. Распространение DPP4 в дыхательных путях человека способствует проникновению вируса в сами дыхательные пути, 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, гладкомышечными клетками сосудов, почками, печенью, тонкой кишкой, легкими, поджелудочной железой, селезенкой и сердцем [25, 26, 27]. 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). Клинические данные, полученные при использовании ингибиторов DPP4, показали, что эта протеаза оказывает влияние на риск и клинический исход COVID-19.

Мы не выявили корреляции между количеством нейронов с экспрессией SARS-CoV-2, CD26 и ACE2. Возможно, это объясняется тем, что вирус взаимодействует не только с данными рецепторами. В настоящий момент предполагается, что SARS-CoV-2 связывается с

клетками-хозяевами через свой S-белок также с ANPER, AXL и ENPER [28]. При этом известно, что ANPER распределены в астроцитах, клетках микроглии нервно-сосудистых единиц и эндотелии сосудов, а AXL и ENPER – в эндотелиоцитах и нейронах [29].

На наш взгляд, очень важным результатом исследования является обнаружение экспрессии SARS-CoV-2 в нейронах коры головного мозга у пациентов, переболевших COVID-19, в том числе в атипичных клетках глиом и перифокальной зоны. При этом ОТ-ПЦР выявила РНК вируса в подпороговых значениях в единичных случаях, что свидетельствует о малой вирусной нагрузке и непродуктивной персистенции SARS-CoV-2 в нейронах [30]. Характерная персистенция SARS-CoV-2 в центральной нервной системе без обнаружения вируса с помощью ПЦР была частично объяснена Liu Y. et al. [31] в модели *in vitro* мышинных олигодендроцитов, инфицированных коронавирусом мышинного гепатита. В такой олигодендротарной клеточной линии постоянно продуцировались субгеномные вирусные РНК и вирусные белки, хотя вирусы не выявлялись с помощью титрования. Однако, с помощью электронной микроскопии и биохимических методов была выявлена сборка дефектных вирусов с дефицитным шиповидным белком в оболочке и, как следствие, нарушение вирулентности.

На моделях *in vitro* также было доказано, что SARS-CoV-2 может инфицировать некоторые клеточные линии глиобластомы [32, 33]. Иммуногистохимическое окрашивание операционного материала глиобластомы одного пациента с COVID-19 показало, что экспрессия ACE2 выше в опухоли, чем в перифокальной зоне [34]. При этом известно, что у пациентов с глиомами болезнь прогрессирует ускоренными темпами в первые два месяца после заражения COVID-19. Однако, роль SARS-CoV-2 в онкогенезе карцином плохо изучена, а об участии вируса в патофизиологии глиальных опухолей не сообщалось [35]. Предполагается, что S-белок COVID-19 может иметь аффинность с поверхностными рецепторами клеток глиомы и вызывать молекулярные изменения с множественным влиянием на онкогенез, например, на индукцию сигнальных путей, связанных с опухолью. На наш взгляд, выявленная нами непродуктивная персистенция SARS-CoV-2 в нейронах и опухолевых клетках глиом у пациентов в постковидном периоде не исключает роли вируса в онкогенезе и прогрессии опухолей.

Заключение

Иммуногистохимическое исследование выявило экспрессию SARS-CoV-2 spike protein в нейронах коры больших полушарий, стволе и гиппокампе пациентов с острым COVID-19, а также в нейронах и опухолевых клетках глиом больных с Long COVID. При этом ОТ-ПЦР

обнаружила РНК вируса только в подпороговых значениях у 23% больных с опухолями, что может свидетельствовать о непродуктивной персистенции вируса в центральной нервной системе и не исключает его роль в онкогенезе и прогрессии новообразований.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Kabbani N, Olds JL. Does COVID19 Infect the Brain? If So, Smokers Might Be at a Higher Risk. *Mol Pharmacol*. 2020;97(5):351–3. doi: 10.1124/molpharm.120.000014
2. Mao L, Jin H, Wang M, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol*. 2020;77(6):683–90. doi:10.1001/jamaneurol.2020.1127
3. Haidar MA, Jourdi H, Hassan ZH, et al. Neurological and Neuropsychological Changes Associated With SARS-CoV-2 Infection: New Observations, New Mechanisms. *Neuroscientist*. 2022;28(6):552-571. doi: 10.1177/1073858420984106
4. Puelles VG, Lütgehetmann M, Lindenmeyer MT, et al. Multiorgan and Renal Tropism of SARS-CoV-2. *N Engl J Med*. 2020;383(6):590–2. doi: 10.1056/NEJMc2011400
5. Davis HE, Assaf GS, McCorkell L, et al. Characterizing long COVID in an international cohort: 7 months of symptoms and their impact. *EClinicalMedicine*. 2021;38:101019. doi:10.1016/j.eclinm.2021.101019.
6. Davis HE, McCorkell L, Vogel JM, Topol EJ. Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations. *Nat Rev Microbiol*. 2023;21(3):133-146. doi: 10.1038/s41579-022-00846-2.
7. Xie Y, Xu E, Bowe B, Al-Aly Z. Long-term cardiovascular outcomes of COVID-19. *Nat. Med*. 2022;28:583–590. doi: 10.1038/s41591-022-01689-3
8. Xie Y, Al-Aly Z. Risks and burdens of incident diabetes in long COVID: a cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022;10:311–321. doi: 10.1016/S2213-8587(22)00044-4.
9. Mancini DM, Brunjes DL, Lala A, et al. Use of cardiopulmonary stress testing for patients with unexplained dyspnea post–coronavirus disease. *JACC Heart Fail*. 2021;9:927–937. doi: 10.1016/j.jchf.2021.10.002.
10. Kedor C, Freitag H, Meyer-Arndt L, et al. A prospective observational study of post-COVID-19 chronic fatigue syndrome following the first pandemic wave in Germany and biomarkers associated with symptom severity. *Nat. Commun*. 2022;13:5104. doi: 10.1038/s41467-022-32507-6.

11. Larsen NW, Stiles LE, Shaik R, et al. Characterization of autonomic symptom burden in long COVID: a global survey of 2314 adults. *Front. Neurol.* 2022;13:1012668. doi: 10.3389/fneur.2022.1012668.
12. Demko ZO, Yu T, Mullapudi SK, et al. Post-acute sequelae of SARS-CoV-2 (PASC) impact quality of life at 6, 12 and 18 months post-infection. 2022 Aug 9:2022.08.08.22278543. doi: 10.1101/2022.08.08.22278543.
13. Proal AD, Van Elzakker MB. Long COVID or post-acute sequelae of COVID-19 (PASC): an overview of biological factors that may contribute to persistent symptoms. *Front. Microbiol.* 2021;12:698169. doi: 10.3389/fmicb.2021.698169.
14. Chippa V, Aleem A, Anjum F. Post-Acute Coronavirus (COVID-19) Syndrome. 2023 Feb 3. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan–. PMID: 34033370.
15. Bonavia A, Arbour N, Yong VW, Talbot PJ. Infection of primary cultures of human neural cells by human coronaviruses 229E and OC43. *J Virol.* 1997;71:800–806.
16. Abdelaziz OS, Waffa Z. Neuropathogenic human coronaviruses: a review. *Rev Med Virol.* 2020;30:e2118.
17. Song E, Zhang C, Israelow B, et al.. Neuroinvasion of SARS-CoV-2 in Human and Mouse Brain. *J Exp Med.* 2021; 218(3):e20202135. doi: 10.1084/jem.20202135
18. Paniz-Mondolfi A, Bryce C, Grimes Z, et al. Central Nervous System Involvement by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus -2 (SARS-CoV-2). *J Med Virol.* 2020;92(7):699–702. doi: 10.1002/jmv.25915
19. Bulfamante G, Chiumello D, Canevini MP, et al. First Ultrastructural Autaptic Findings of SARS-Cov-2 in Olfactory Pathways and Brainstem. *Minerva Anesthesiol.* 2020;86(6):678–9. doi: 10.23736/S0375-9393.20.14772-2
20. Wu B, Wang W, Wang H, et al. Single-Cell Sequencing of Glioblastoma Reveals Central Nervous System Susceptibility to SARS-CoV-2. *Front Oncol.* 2020;10:566599. doi: 10.3389/fonc.2020.566599.
21. Chen A, Zhao W, Li X, et al. Comprehensive Oncogenic Features of Coronavirus Receptors in Glioblastoma Multiforme. *Front Immunol.* 2022;13:840785. doi: 10.3389/fimmu.2022.840785.

22. Samavati L, Uhal BD. ACE2, Much More Than Just a Receptor for SARS-COV-2. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:317. doi: 10.3389/fcimb.2020.00317.
23. Radzikowska U, Ding M, Tan G, et al. Distribution of ACE2, CD147, CD26, and other SARS-CoV-2 associated molecules in tissues and immune cells in health and in asthma, COPD, obesity, hypertension, and COVID-19 risk factors. *Allergy.* 2020;75(11):2829-2845. doi: 10.1111/all.14429.
24. Uversky VN, Elrashdy F, Aljadawi A, et al. . Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection reaches the human nervous system: How? *J Neurosci Res.* 2021;99(3):750-777. doi: 10.1002/jnr.24752.
25. Chen SY, Kong XQ, Zhang KF, et al. DPP4 as a Potential Candidate in Cardiovascular Disease. *J Inflamm Res.* 2022;15:5457-5469. doi: 10.2147/JIR.S380285.
26. Barchetta I, Cimini FA, Dule S, Cavallo MG. Dipeptidyl Peptidase 4 (DPP4) as A Novel Adipokine: Role in Metabolism and Fat Homeostasis. *Biomedicines.* 2022;10(9):2306. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10092306>
27. Qi F, Qian S, Zhang S, Zhang Z. Single cell RNA sequencing of 13 human tissues identify cell types and receptors of human coronaviruses. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020;526(1):135-140. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.03.044.
28. Torices S, Cabrera R, Stangis M, et al.. Expression of SARS-CoV-2-Related Receptors in Cells of the Neurovascular Unit: Implications for HIV-1 Infection. *J Neuroinflamm.* 2021;18(1):167. doi: 10.1186/s12974-021-02210-2
29. Gaspar-Rodríguez A, Padilla-González A, Rivera-Toledo E. Coronavirus persistence in human respiratory tract and cell culture: An overview. *Braz J Infect Dis.* 2021;25(5):101632.
30. Liu Y, Herbst W, Cao J, Zhang X. Deficient incorporation of spike protein into virions contributes to the lack of infectivity following establishment of a persistent, non-productive infection in oligodendroglial cell culture by murine coronavirus. *Virology.* 2011;409:121–131.
31. Vanhulle E, Stroobants J, Provinciael B, et al. SARS-CoV-2 Permissive glioblastoma cell line for high throughput antiviral screening. *Antiviral Res.* 2022;203:105342. doi: 10.1016/j.antiviral.2022.105342.
32. Smirnova OA, Ivanova ON, Fedyakina IT, et al. SARS-CoV-2 Establishes a Productive Infection in Hepatoma and Glioblastoma Multiforme Cell Lines. *Cancers.* 2023;15(3):632. <https://doi.org/10.3390/cancers15030632>

33. Lei J, Liu Y, Xie T, et al.. Evidence for Residual SARS-CoV-2 in Glioblastoma Tissue of a Convalescent Patient. *Neuroreport*. 2021;32(9):771–5. doi: 10.1097/WNR.0000000000001654
34. Gregory T., Knight S, Aaroe A, et al. Analysis of tumor progression among patients with glioma after COVID-19 infection. *J.of Clinical Oncology*. 2023;41:16_suppl, 2041-2041
35. Khan I, Hatiboglu MA. Can COVID-19 induce glioma tumorogenesis through binding cell receptors? *Med Hypotheses*. 2020;144:110009. doi: 10.1016/j.mehy.2020.110009.