

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ В.И. ВЕРНАДСКОГО»
ИНСТИТУТ «МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ИМЕНИ С.И. ГЕОРГИЕВСКОГО»

На правах рукописи

ЯЦКОВ ИГОРЬ АНАТОЛЬЕВИЧ

**РОЛЬ КАТЕПСИНА G И ДИСБАЛАНСА
ЛИПОПОЛИСАХАРИД-СВЯЗЫВАЮЩИХ СИСТЕМ В ПАТОГЕНЕЗЕ
ОСТРОГО ВИРУСНОГО SARS-COV-2-ПОРАЖЕНИЯ ЛЁГКИХ**

3.1.29. Пульмонология
(14.01.25 – Пульмонология)

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Белоглазов Владимир Алексеевич
доктор медицинских наук, профессор

Симферополь – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1 Проблема вирусного поражения лёгких в современном мире	15
1.2 Липополисахарид и SARS-CoV-2-поражение лёгких	20
1.3 Метаболическая эндотоксинемия, ожирение и низкоинтенсивное воспаление	32
1.4 Катепсин G и нейтрофильное воспаление при SARS-CoV-2.....	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	44
2.1 Формирование групп исследования.....	44
2.2 Методы исследования	51
2.2.1 Клинико-anamнестический анализ	51
2.2.2 Определение уровня катепсина G.....	51
2.2.3 Определение уровня липополисахарид-связывающего белка	52
2.2.4 Определение уровня пресепсина	53
2.2.5 Определение уровня ферритина	54
2.2.6 Определение уровня С-реактивного белка	55
2.2.7 Определение уровня экспрессии Toll-like рецепторов 4 типа на моноцитах и гранулоцитах периферической крови	56
2.2.8 Статистическая обработка полученных результатов	57
ГЛАВА 3. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С SARS-COV-2-ПОРАЖЕНИЕМ ЛЁГКИХ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ..	58
3.1 Клиническая характеристика обследованных больных	58
3.2 Оценка фармакологического вмешательства на амбулаторном и стационарном этапе лечения	61
3.3 Лабораторная и инструментальная характеристика больных SARS-CoV-2 различной степени тяжести	63
3.4 Взаимосвязь между изучаемыми клиническими и лабораторными	

параметрами у пациентов с SARS-CoV-2 различной степени тяжести	66
ГЛАВА 4. УРОВЕНЬ КАТЕПСИНА G У ПАЦИЕНТОВ С SARS-COV-2 РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ	73
4.1 Уровень катепсина G у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких .	73
4.2 Взаимосвязь между уровнем катепсина G и другими исследуемыми показателями	74
ГЛАВА 5. ГУМОРАЛЬНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ЗВЕНЬЯ ЛИПОПОЛИСАХАРИД- СВЯЗЫВАЮЩИХ СИСТЕМ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ SARS-COV-2- ПОРАЖЕНИЕМ ЛЁГКИХ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ.....	77
5.1 Системные гуморальные звенья липополисахарид-связывающих систем и маркеры системного воспаления у больных SARS-CoV-2	77
5.2 Влияние антибиотикотерапии на показатели гуморальных эндотоксин- связывающих систем у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких	81
5.3 Избыточная масса тела, ожирение и уровни гуморальных эндотоксин- связывающих систем у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких	83
5.4 Оценка уровней гуморальных эндотоксин-связывающих систем у пациентов с резистентным к инициальной терапии глюкокортикостероидами SARS-CoV-2-поражением лёгких	85
5.5 Экспрессия TLR4 на моно- и полинуклеарах периферической крови больных SARS-CoV-2-поражением лёгких различной степени тяжести.....	87
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	91
Выводы	104
Рекомендации	106
Перспективы дальнейшей разработки темы исследования	107
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	108
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	112

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

В 2019 году мир столкнулся с новой коронавирусной инфекцией, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2. Данный вирус явился причиной пандемической формы инфекции дыхательных путей, которая в настоящее время продолжается (Gao S.J. и соавт., 2022; Saxena S.K. и соавт., 2022). Несмотря на попытки ограничить распространение вируса, ожидается, что инфекция будет оставаться в популяции в течение многих лет (O'Neill L. и соавт., 2020).

Острый респираторный дистресс-синдром при коронавирусной инфекции имеет более худший прогноз, чем острый респираторный дистресс-синдром, вызванный другими причинами. Смертность в отделении интенсивной терапии и больнице от типичного острого респираторного дистресс-синдрома составляет 35,3% и 40,0%, соответственно (Bellani G. и соавт., 2016), в то время как для вызванного COVID-19 острого респираторного дистресс-синдрома смертность варьируется от 26% до 61,5%, а у пациентов, которым была проведена искусственная вентиляция легких, смертность может колебаться от 65,7% до 94% (Wu C. и соавт., 2020). Также острый респираторный дистресс-синдром при SARS-CoV-2 характеризуется более длительной зависимостью от искусственной вентиляции легких по сравнению с дистресс-синдромом, не связанным с COVID-19 (Bain V. и соавт., 2021).

За время пандемии были достигнуты некоторые успехи в разработке вакцин (Heuerdahl L. W. и соавт., 2022), препаратов этиотропной противовирусной терапии (Taylor P. C. и соавт., 2021; Gupta A. и соавт., 2021; Joshi S. и соавт., 2021), а также выявлен ряд факторов риска неблагоприятных исходов, таких как пожилой возраст; наличие сопутствующих заболеваний, таких как гипертоническая болезнь, сердечно-сосудистые заболевания и сахарный диабет; высокий уровень лактатдегидрогеназы; количество лимфоцитов $< 800/\text{мл}$; поражение почек (Tabernero E. и соавт., 2022; Yang H. H. и соавт., 2022; Клыпа Т. В. и соавт., 2020; Шишиморов И. Н. и соавт., 2021). Однако, течение заболевания

часто трудно прогнозировать, а количество смертельных случаев находится на уровне первой волны пандемии (Iacobucci G., 2022). В связи с этим, поиск новых звеньев патогенеза SARS-CoV-2, изучение молекул-«агонистов» вируса и выявление потенциальных мишеней для разработки таргетной терапии, являются приоритетными направлениями для исследований в настоящее время (Salian V. S., и соавт., 2021; Cruz-Teran C., и соавт., 2021).

Учитывая избыточное накопление и активацию нейтрофилов при вирус-ассоциированном поражении лёгких при SARS-CoV-2 (Ye Q. и соавт., 2020; Tong M. и соавт., 2020) требуется поиск и изучение ключевых молекул и рецепторов нейтрофильной гиперактивации. Сериновая протеаза - катепсин G, выделяемая активированными нейтрофилами, по нашему мнению, может действовать одновременно на несколько основных звеньев патогенеза ОРДС при новой коронавирусной инфекции, стимулируя воспаление в слизистой оболочке респираторного тракта и приводя к ремоделированию эластического каркаса легких (Heinz A. и соавт., 2012; Rønnow S.R. и соавт., 2019), а также способствуя деградации белка переноса фосфолипидов (PLTP), который обладает противовоспалительным действием на альвеолярные макрофаги и регулирует транспорт фосфолипидов (Oram J.F. и соавт., 2008). Кроме этого, практически не изучен вопрос экспрессии на нейтрофилах паттерн-распознающих рецепторов при вирусном поражении легких у больных Covid-19, среди которых особое место занимают толл-подобные рецепторы (TLR).

Исходя из литературных данных, одним из важнейших триггеров острых и хронических воспалительных реакций как локально (в лёгких), так и системно может являться дисбаланс систем, связывающих липополисахарид (ЛПС), а также развитие эндотоксинемии на фоне метаболических нарушений и повышенной проницаемости кишечника (Canli P. D. и соавт., 2007; Яковлев М. Ю., 2021).

Липополисахарид потенциально может являться мощным ко-фактором провоспалительных реакций, наблюдаемых у больных новой коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2, а именно: увеличивать генерацию активных форм кислорода посредством НАДФН-оксидазы и последующую дезактивацию

синтазы оксида азота и снижать биодоступность эндотелиального NO, тем самым приводить к развитию эндотелиальной дисфункции и эндотелиальному поражению (Grylls A. и соавт., 2021), взаимодействуя с белками сурфактантов SP-A и SP-D, способствовать раннему разрушению монослоя и снижению поверхностного натяжения (Canadas O. и соавт., 2011).

Посредством растворимой формы CD14 рецептора ЛПС способен оказывать провоспалительное воздействие на эпителиальные и эндотелиальные клетки (Конев Ю.В., 2012; Lu Y.C. и соавт., 2008), а через толл-подобные рецепторы 4-го типа (TLR4) приводить к активации пути p38MAPK, деградации белка IκBα и последующей транслокации p65 ядерного фактора-каппа В (NF-κB) в ядро, что приводит к транскрипции ИЛ-6 и молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1 и E - селектин) (Grylls A. и соавт., 2021). Также непосредственно связываясь с S-белком вируса ЛПС способен усиливать активацию NF-κB и продукцию цитокинов в мононуклеарных клетках (Petruk G. и соавт., 2021).

Данные об изменении экспрессии рецептора TLR4 – основного рецептора, опосредующего взаимодействие ЛПС и клеток организма хозяина, на поверхности иммунокомпетентных клеток при новой коронавирусной инфекции на данный момент отсутствуют. Изменение в уровне экспрессии данного рецептора было продемонстрировано при изучении ряда других патологических состояний, и значительно коррелировало со степенью тяжести изучаемых нозологий (Царев В.Н. и соавт., 2015; Гаврилова Н.А. и соавт., 2015; Попенко Ю.О., 2018).

На данный момент отсутствуют данные литературы, отражающие роль катепсина G в остром периоде SARS-CoV-2-ассоциированного вирусного поражения лёгких. Исследования по изучению влияния дисбаланса гуморальных липополисахарид-связывающих систем на тяжесть течения острого периода SARS-CoV-2 представлены лишь единичными исследованиями Н. Noel (2021), М. Zaninotto (2020) и А. Kocyigit (2021). В связи с этим разработка новых стратегий ведения пациентов с SARS-CoV-2-ассоциированным вирусным поражением лёгких выявляет и уточняет новые патофизиологические механизмы изменений,

происходящих в остром периоде инфекции COVID-19.

Степень разработанности темы исследования

Фундаментальные и клинические аспекты влияния липополисахарида на индукцию процессов воспаления в организме человека изучены P.D. Cani (2007), М.Ю. Яковлевым (2015), И.А. Аниховской (2006); R.G. Muller (2008).

Аспекты влияния липополисахарида на органы и системы органов при отдельных нозологических единицах и состоянии липополисахарид-связанного ответа иммунной системы изучали В.Г. Лиходед (1998), А.И. Гордиенко (2009), Ю.В. Сульская (2012), А.В. Климчук (2013), Г.Р. Хасанова (2015), Ю.О. Попенко (2018). Вопросами по изучению генетического полиморфизма рецепторов CD14 и TLR4 у больных аллергической и неаллергической бронхиальной астмой занимался Ю.А. Бисюк (2014).

На данный момент работы, посвященные изучению дисбаланса липополисахарид-связывающих систем у больных новой коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2 представлены единичными публикациями зарубежных исследователей, однако многие из них не в полной мере описывают компоненты данных систем. Среди них выделяются работы Н. Hoel (2021), М. Zaninotto (2020) и А. Косуйигит (2021) описывающие уровни ЛСБ и пресепсина у отдельных категорий больных SARS-CoV-2, а также работы А. Choudhury (2020) по исследованию взаимодействия TLR4 и вируса COVID-19 *in silico* и К. М. Sohn (2020) по изучению экспрессии гена TLR4 у пациентов с новой коронавирусной инфекцией.

Данные об изучении активности протеолитических систем при новой коронавирусной инфекции отображены в работах Е. Akgun (2020) и S. Seren (2021). В отечественной науке данный аспект влияния ЛПС и катепсина G на течение инфекции SARS-CoV-2 практически не исследован. Все вышеперечисленные факторы определяют актуальность и практическое значение выбранной темы.

Цель исследования:

Установить роль катепсина G, дисбаланса гуморальных и клеточных

липополисахарид-связывающих систем в патогенезе острого SARS-CoV-2-поражения лёгких.

Задачи исследования:

1. Составить клинико-лабораторную характеристику пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких на госпитальном этапе лечения.
2. Изучить взаимосвязь уровня катепсина G, системного воспаления и степени тяжести вирусного поражения лёгких при SARS-CoV-2 инфекции при поступлении на госпитальный этап лечения.
3. Оценить состояние основных гуморальных эндотоксин-связывающих систем и уровень экспрессии Toll-like рецепторов 4 типа на гранулоцитах и клетках моноцитах периферической крови у пациентов при SARS-CoV-2 инфекции при поступлении на госпитальный этап лечения.
4. Оценить влияние антибиотикотерапии на амбулаторном этапе на состояние основных гуморальных эндотоксин-связывающих систем у пациентов с вирусным SARS-CoV-2-поражением лёгких при поступлении на госпитальный этап лечения.
5. Оценить влияние избыточной массы тела и ожирения на состояние основных эндотоксин-связывающих систем у пациентов с вирусным SARS-CoV-2-поражением лёгких при поступлении на госпитальный этап лечения.
6. Оценить взаимосвязь дисбаланса гуморальных липополисахарид-связывающих систем и ответа на инициальную противовоспалительную терапию системными глюкокортикостероидами у пациентов при SARS-CoV-2 инфекции в острый период.
7. Изучить корреляцию уровня катепсина G, основных липополисахарид-связывающих систем и показателей системного воспаления у пациентов с вирусным SARS-CoV-2-поражением лёгких в остром периоде.

Научная новизна исследования

Получены новые данные о роли дисбаланса гуморальных липополисахарид-связывающих систем в формировании системного воспаления у пациентов с SARS-CoV-2 инфекцией в остром периоде, что дополняет существующие

представления о патогенезе новой коронавирусной инфекции.

Впервые в мире изучен уровень катепсина G в плазме периферической крови у больных со среднетяжёлым и тяжёлым течением SARS-CoV-2-поражением лёгких.

Впервые изучено влияние антибиотикотерапии на амбулаторном этапе лечения SARS-CoV-2 инфекции на формирование дисбаланса липополисахарид-связывающих систем и маркеров системного воспаления.

Впервые изучено влияние дисбаланса липополисахарид-связывающих систем на эффективность инициальной противовоспалительной терапии глюкокортикостероидами у больных в острый период SARS-CoV-2 инфекции. Показано, что отрицательный ответ на противовоспалительную терапию ГКС ассоциирован с увеличением дисбаланса гуморальных липополисахарид-связывающих систем и маркеров персистирующего воспаления на системном уровне.

Впервые в Российской Федерации установлено, что избыточная масса тела и ожирение у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких характеризуется увеличением маркеров кишечной проницаемости для ЛПС и показателей системного воспаления, что отражает факт индукции вирусом SARS-CoV-2 «метаболической эндотоксинемии» у данной категории больных.

Впервые выявлено увеличение экспрессии Toll-like рецепторов 4 типа на гранулоцитах и моноцитах периферической крови у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких.

Впервые в мире изучена взаимосвязь между клинико-функциональными показателями, выраженностью системного воспаления, количеством нейтрофилов в периферической крови, дисбалансом гуморальных липополисахарид-связывающих систем, экспрессией TLR4 на поли- и мононуклеарных лейкоцитах и катепсином G у больных в острый период SARS-CoV-2 инфекции.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате выполненной работы было доказано, что при SARS-CoV-2-поражении лёгких создаются условия для чрезмерного воздействия ЛПС

грамнегативной флоры на механизмы врожденного иммунитета за счет повышенной проницаемости кишечного барьера к эндотоксину, повышения экспрессии TLR4 на поли- и мононуклеарных лейкоцитах крови и продукции катепсина G, что дополняет существующие представления о патогенезе системного воспаления у пациентов с инфекцией COVID-19 на госпитальном этапе лечения.

Показана диагностическая значимость изучения ЛСБ, sCD14-ST как маркеров повышенной проницаемости кишечника к ЛПС, экспрессии TLR4 на моно- и полинуклеарных лейкоцитах периферической крови и катепсина G в комплексном обследовании больных SARS-CoV-2-поражением лёгких при поступлении на госпитальный этап лечения, что позволяет оптимизировать терапию и более точно определять тяжесть течения заболевания и риск неблагоприятного исхода.

Методология и методы исследования

Обследован 121 больной новой коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2 и 20 практически здоровых человек, составивших контрольную группу. Всем пациентам было проведено клиническое и лабораторное обследование, включавшее: интервьюирование, физикальное обследование, пульсоксиметрию, общий анализ крови с измерением показателя СОЭ, коагулограмму, определение уровней общего белка и альбумина, иммуноферментный анализ образцов периферической крови (определение уровня катепсина G, липополисахарид-связывающего белка (ЛСБ), пресепсина (sCD14-ST), определение концентрации С-реактивного белка, уровня ферритина, Д-димера, прокальцитонина, а также определение уровня экспрессии толл-подобных рецепторов 4 типа на моноцитах и гранулоцитах). Для более детальной оценки лейкоцитарной формулы рассчитывались лейкоцитарные индексы (НЛК - нейтрофильно-лимфоцитарный коэффициент, ИСЛМ – отношение лимфоцитов и моноцитов, ИСНМ - индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов, ЛИИ Рейса - лейкоцитарный индекс интоксикации в модификации Б. А. Рейса). Радиологическое исследование (компьютерная томография) выполнялась на аппарате КТР «Электрон» 64х.

Полученные результаты были обработаны с помощью современных пакетов программ статистического анализа.

Положения, выносимые на защиту:

1. Тяжесть течения заболевания и риск летального исхода у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких при поступлении на госпитальный этап ассоциировались с частотой встречаемости симптома миалгии, со степенью поражения легочной ткани, повышения абсолютного количества нейтрофилов, выраженностью лимфопении, гипопроотеинемии и гипоальбуминемии, повышением маркеров системного воспаления (СРБ, ферритин).

2. В остром периоде новой коронавирусной инфекции зарегистрировано повышение секреции нейтрофильными лейкоцитами катепсина G, наиболее выраженное у пациентов с летальным исходом.

3. Гиперактивация клеточных и гуморальных липополисахарид-связывающих систем выявлена у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких при поступлении на госпитальный этап лечения. Самые высокие уровни ЛСБ, sCD14-ST и показателей экспрессии толл-подобных рецепторов 4-го типа на гранулоцитах зарегистрированы у пациентов с летальным исходом.

4. У пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких нерациональная антибактериальная терапия на амбулаторном этапе приводит к повышению проницаемости кишечного барьера для липополисахарида, что сопровождается более высокими уровнями ЛСБ в плазме периферической крови.

5. Наличие избыточной массы тела и ожирения у больных SARS-CoV-2 связано с более высокими уровнями показателей гуморальных липополисахарид-связывающих систем и маркеров системного воспаления. Выявление высоких уровней ЛСБ и пресепсина плазмы у пациентов с новой коронавирусной инфекцией ассоциировалось со снижением эффективности инициальной противовоспалительной терапии системными ГКС.

Степень достоверности и апробация результатов

Сформулированные в работе выводы, научные положения, описанные данные и рекомендации базируются на исследовании 121 больного с диагнозом

среднетяжелого и тяжелого вирусного SARS-CoV-2-поражения лёгких, находившихся на стационарном лечении. Контрольную группу составили 20 практически здоровых человек, соответствовавших больным новой коронавирусной инфекцией по возрастному и половому признакам. Дизайн исследования включал: сбор анамнеза, физикальное обследование, пульсоксиметрию, лабораторные методы исследования, определяющие уровень катепсина G, липополисахарид-связывающего белка (ЛСБ), пресепсина sCD14-ST, концентрацию С-реактивного белка (методом иммуноферментного анализа), уровня ферритина, Д-димера, прокальцитонина, а также уровня экспрессии толл-подобных рецепторов 4 типа на моноцитах и гранулоцитах периферической крови. Иммунологические исследования были проведены в лаборатории клинической иммунологии ЦНИЛ Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» с 2021 по 2022 годы. Полученные данные статистически обработаны лицензионной программой «Statistica 12» (StatSoft Inc.).

Диссертационное исследование соответствует специальности 3.1.29. Пульмонология. Диссертационная работа соответствует тематике плановой научно-исследовательской работы кафедры внутренней медицины №2 Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» – «Иммуногенетические, молекулярные и биохимические аспекты стратификации прогноза течения, осложнений и эффективности лекарственной терапии пульмонологических, сердечно-сосудистых, ревматических и эндокринных заболеваний» (АААА-А-118041190073-7).

Все вышеперечисленное подтверждает, что выводы и рекомендации, сформулированные в данной диссертационной работе, являются обоснованными и достоверными.

Основные положения работы были представлены на региональных, Всероссийских и международных научно-практических конференциях, симпозиумах: «Школа респираторной медицины» (Симферополь, 2021), II Международном междисциплинарном форуме «Полипептидная терапия: новые

возможности для России» (Москва, 2021), 2021 American College of Allergy, Asthma & Immunology Annual Scientific Meeting (New Orleans, 2021), 2022 American Academy of Allergy, Asthma & Immunology Annual Meeting (Phoenix, 2022), European Respiratory Society Lung Science Conference 2022 (Estoril, 2022).

Результаты диссертационного исследования внедрены в работу инфекционного отделения для лечения больных новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) с палатами реанимации и интенсивной терапии для взрослого населения ГБУЗ РК «РКБ им. Н.А. Семашко» и инфекционного отделения для лечения больных новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) ГБУЗ РК «КРКГВВ», в учебный процесс кафедры внутренней медицины №1 Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского».

Материалы диссертации изложены в 10 научных работах: 7 – в рецензируемых научных изданиях рекомендованных ВАК Российской Федерации, 2 из которых включено в базу данных SCOPUS, 3 – в научных сборниках тезисов;

Личный вклад автора

Диссертантом самостоятельно проведен патентно-информационный поиск, проанализирована отечественная и зарубежная научная литература, сформированы группы больных и группа контроля, проведено наблюдение и обследование больных, забор биоматериала, статистическая обработка и интерпретация полученных данных, определены цели, сформулированы выводы и рекомендации, написаны главы диссертации. Самостоятельно подготовлены публикации и выступления на конференциях по теме диссертации, оформлены диссертационная работа и автореферат.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 137 страницах текста компьютерного набора, иллюстрирована 2 рисунками и 18 таблицами. Работа включает введение, 5 глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, 3 главы результатов

собственных исследований), заключение и список литературы, состоящий из 244 источников, из них 13 - кириллицей, 231 - латиницей.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Проблема вирусного поражения лёгких в современном мире

Острые инфекции дыхательных путей являются одной из основных проблем общественного здравоохранения и ведущей причиной заболеваемости и смертности во всем мире, особенно среди детей, пожилых людей и лиц с ослабленным иммунитетом [75]. Так, в аналитическом исследовании Jin и соавт. (2021), сообщается, что предполагаемое число случаев заболевания острыми респираторными инфекциями еще в 2019 году достигло более 17 миллиардов случаев, составив около 43% от всех заболеваний и травм [99].

РНК-вирусы, а именно респираторно-синцитиальные вирусы, вирусы гриппа, вирусы парагриппа, метапневмовирусы, риновирусы, энтеровирусы и коронавирусы являются преобладающими возбудителями острых респираторных вирусных инфекций [90]. ДНК-вирусы, вызывающие поражение дыхательных путей, встречаются реже, и включают аденовирусы, бокавирусы [180] и реактивирующиеся патогены у пациентов с иммуносупрессией, такие как вирус простого герпеса, цитомегаловирус и вирус Эпштейна-Барра [42].

Заболевания, вызываемые этими вирусами, варьируются по выраженности и картине клинических проявлений от самоограничивающихся инфекций верхних дыхательных путей, таких как простуда, ангина или ларинго-трахео-бронхит, до угрожающих жизни инфекций нижних дыхательных путей, таких как бронхиолит, пневмония или острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), а также иногда диссеминированных заболеваний [67].

На данный момент вирусом, доминирующим во всем мире, является вирус новой коронавирусной инфекции - SARS-CoV-2, пандемия которого берет свое начало в 2019 году. Количество переболевших данной инфекцией составило более 430 млн человек, из которых около 6 миллионов случаев заболевания

завершились летальным исходом [210]. В Российской Федерации за время пандемии зарегистрировано более 16 миллионов случаев заражения новой коронавирусной инфекцией и 350 тысяч летальных исходов [10].

Тяжесть инфекции и возможное прогрессирование от верхних к нижним дыхательным путям зависят от вирулентности вызывающего ее вируса, от возможных сопутствующих инфекций и от связанных с пациентом факторов, таких как возраст, основные или сопутствующие респираторные и сердечно-сосудистые заболевания или наличие синдрома иммунодефицита [89]. Недостаток знаний о факторах вирулентности, специфических для SARS-CoV-2, на данный момент сильно затрудняет лечение пациентов с новой коронавирусной инфекцией. Опубликован кластер исследований, в которых представлены эмпирические доказательства специфических для SARS-CoV-2 факторов вирулентности, которые могут объяснить ключевые элементы патологии COVID-19. Эти исследования частично раскрывают структурные и неструктурные особенности SARS-CoV-2, дающие ему преимущество в вирулентности по сравнению с предыдущими коронавирусами, вызывающими пандемии [119].

Важным является и возрастной аспект, так как вирусные инфекции дыхательных путей являются основной причиной смерти детей младшего возраста, а также пожилых людей [193]. По данным метаанализа Gallo Marin и соавт. (2021), возраст старше 55 лет у пациентов с SARS-CoV-2 ассоциирован с повышенной тяжестью заболевания и/или смертностью [69].

К сопутствующим заболеваниям, значительно ухудшающим прогноз при респираторных инфекциях, относятся хронические заболевания сердечно-сосудистой и респираторной систем, диабет, заболевания почек или печени, заболевания крови, недоедание и иммунодефицит [90]. К пациентам с ослабленным иммунитетом относятся реципиенты трансплантатов, онкологические больные, проходящие химиотерапию, ревматические больные, получающие лечение иммунодепрессантами, а также лица с первичным иммунодефицитом или инфицированные вирусом иммунодефицита человека [90]. У последних категорий пациентов респираторные вирусные инфекции возникают

с той же частотой, что и у иммунокомпетентных людей, но ассоциируются с длительными инфекциями, прогрессированием до инфекций нижних дыхательных путей и более высокой смертностью [90]. При новой коронавирусной инфекции сложность прогнозирования тяжести заболевания также подчеркивается тем фактом, что, вирус обладает тропизмом к различным тканям, включая, в первую очередь, дыхательные пути, а также мозг, эндотелий, сердце, почки и печень [79]. По данным последних исследований, целый ряд маркеров, таких как уровни D-димера $\geq 2,0$ мкг/мл, высокие уровни тропонина I ($>13,75$ нг/л), снижение общего количества лимфоцитов, CD4+ и CD8+ Т-клеток, В-клеток и NK-клеток, гипоальбуминемия, повышенный индекс фиброза печени (FIB-4), уровня лактатдегидрогеназы и ферритина являются предикторами неблагоприятного прогноза при новой коронавирусной инфекции [69].

Выявление дополнительных факторов, которые предсказывают осложнения SARS-CoV-2, имеет решающее значение для руководства клинической помощью, улучшения результатов лечения пациентов и распределения ограниченных ресурсов в период пандемии.

Острый респираторный дистресс-синдром, опосредованный вирусными инфекциями, не часто встречается у иммунокомпетентных пациентов, но его точная распространенность неизвестна [140]. Вирусы, приведшие к пандемиям, такие как коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 1 (SARS-CoV-1) в 2002 году, вирус ближневосточного респираторного синдрома (MERS) - в 2012 году, птичий грипп А H5N1 - в 1998 году, грипп А H1N1 - в 2009 году и новая инфекция - SARS-CoV-2 - в 2019 году, характеризуются значительно более высокой частотой ОРДС и более высоким уровнем летальности по сравнению с сезонными вирусами [140]. На ранних этапах пандемии SARS-CoV-2 до 30% госпитализированных пациентов с SARS-CoV-2-повреждением лёгких прогрессировало до ОРДС, что и являлось основной причиной смертности [232].

В отличие от бактериальной пневмонии или других причин заболевания легких не существует патогномичных признаков для диагностики вирусной пневмонии. Вирусная пневмония имеет более постепенное начало, чем

бактериальная пневмония, и более частые клинические проявления сопутствующей инфекции верхних дыхательных путей. Гриппоподобные симптомы, сыпь или желудочно-кишечные симптомы, отсутствие гнойной мокроты, тахикардия или тахипноэ непропорционально температуре, скудные физикальные данные при обследовании легких, непропорциональные степени ослабления организма и возможные признаки двустороннего поражения легких при визуализирующих методах исследования также чаще встречаются при вирусной пневмонии [67].

Вирусы способны непосредственно напрямую приводить к повреждению клеток дыхательных путей, после заражения, изменяя клеточный гомеостаз, вызывая различные виды повреждений или изменений, что приводит к прямому лизису инфицированных клеток, апоптозу клеток-мишеней и в некоторых случаях к образованию синцития [48]. Однако, в последнее время более остро встал вопрос иммуноопосредованного повреждения, вызываемого респираторными вирусами, связанного с тем, что иммунная система во время вирусной инфекции балансирует между защитой и усугублением индуцированного вирусом повреждения [48]. Чрезмерная активация компонентов иммунной системы способна приводить к крайне разрушительным для организма последствиям, в частности, к так называемому «цитокиновому шторму» [111]. Результаты исследований показали, что быстрое клиническое ухудшение и высокий риск смертности при тяжелой форме SARS-CoV-2-поражении лёгких являются следствием именно «цитокинового шторма» [147]. Уровни цитокинов, таких как ИЛ-1 β , ИФН- γ , ИФН- γ -индуцированный протеин 10 (IP10) и моноцитарный хемоаттрактант протеин 1 (MCP1), были повышены в крови у пациентов с SARS-CoV-2 инфекцией [94]. Кроме того, у пациентов, помещенных в отделение интенсивной терапии (ОИТ), уровень цитокинов ИЛ-2, ИЛ-7, ИЛ-10, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), IP10, MCP1, макрофагального воспалительного белка 1- α и ФНО- α был выше, чем у пациентов, не нуждающихся в лечении в ОИТ [94]. Исследование Ruan и соавт. (2020) показало, что уровень ИЛ-6 был более высоким у пациентов с летальным

исходом, чем у выживших после COVID-19, что позволяет предположить, что смертность при COVID-19 может быть вызвана гиперсекрецией провоспалительных цитокинов [191].

Также McGonagle и соавт. была выдвинута теория о том, что «цитокиновый шторм» при COVID-19 является результатом неспособности иммунной системы элиминировать вирус. Они разделили «цитокиновый шторм» на две стадии [146]: Первая стадия — это временное иммунодефицитное состояние. Последующая вторичная стадия — это гиперактивное иммунное состояние, которое проявляется как клиническое проявление «цитокинового шторма». Эксперименты на клетках и животных, изучающие влияние коронавируса человека на цитокины, продемонстрировали задержку секреции ИФН типов I и III, включая ИФН α/β , на ранней стадии инфекции и чрезмерную секрецию провоспалительных цитокинов макрофагами на поздней стадии [34]. Исследование Haddadj и соавт. (2020), в котором иммунный анализ проводился у пациентов с COVID-19, выявило глубокое нарушение реакции ИФН I типа, характеризующееся низким уровнем активности ИФН и снижением регуляции генов, стимулируемых ИФН. Кроме того, в исследовании отмечались гипервоспалительные реакции, опосредованные ИЛ-6 и ФНО- α [82]. В целом, эти исследования подчеркивают, что сбой в первоначальных ответах типа-I и III ИФН на SARS-CoV-2 приводит к чрезмерному позднему иммунному ответу и тяжелой форме COVID-19. В связи с этим частично становится понятна причина тяжелого течения новой коронавирусной инфекции и возникновения ОРДС - несостоятельность иммунного ответа в начальный период инфицирования SARS-CoV-2 вызывает генерализованное гипервоспаление в легких, что приводит к острому повреждению легких и ОРДС.

Особенности некоторых вирусных инфекций, а в частности новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2, серьезно усложняют прогнозирование течения заболевания, делая его практически непредсказуемым. В связи с этим, крайне важным научным направлением является поиск путей взаимодействия вируса и клеток хозяина, а также поиск молекул «соучастников» вируса,

потенцирующих его патологическое влияние на организм, приводя к гиперактивации иммунной системы.

1.2 Липополисахарид и SARS-CoV-2-поражение лёгких

Эндотоксины представляют собой большие термостойкие липополисахариды (ЛПС) и являются одним из основных гликолипидных компонентов внешней мембраны грамотрицательных бактерий [15], на долю которых приходится примерно 70% бактериальной флоры кишечника [170]. Взаимодействие клеток моноцитарно-макрофагального ряда с ЛПС осуществляется в основном через рецепторы mCD14 (мембранные CD14) и TLR-4/MD-2 (toll-подобные рецепторы типа 4 с адаптерным белком - MD-2). Липид А является наиболее важной, с точки зрения иммуногенности, частью ЛПС, поскольку он способен специфически распознаваться комплексом TLR4/MD-2 [57, 39, 149]. В зависимости от количества ацильных цепей, эндотоксин может делиться на несколько подвидов. Гексаацилированный (содержащий шесть ацильных соединений) липид А обладает наибольшей способностью активировать комплекс TLR4/MD-2 и впоследствии запускать каскад провоспалительных реакций [149, 156, 58], а его провоспалительная активность коррелирует со способом связывания липида А с комплексом TLR4/MD-2 [173]. На данный момент имеются данные о нескольких формах ЛПС с противовоспалительным действием, которые могут конкурировать с иммуногенным ЛПС за связывание с комплексом TLR4/MD-2, тем самым предотвращая последующую генерацию провоспалительного ответа, однако эти данные достаточно ограничены, в виду малого количества исследований [58]. «Противовоспалительный» тип липополисахарида характерен для бактерий рода *Bacteroides*, содержащих тетраацильный липид А [58, 124, 171].

Путь ЛПС в организме человека достаточно сложен. Так, эндотоксин может транспортироваться в систему кровообращения путем прямой диффузии за счет

парацеллюлярной проницаемости кишечника или путем поглощения клетками эпителия кишечника во время секреции хиломикронов [153]. Далее ЛПС может транспортироваться в гепатоциты, путем связывания с ЛПВП, ЛПНП или хиломикронами для последующего деацилирования (инактивации) и выведения с желчью [153, 8]. На проницаемость кишечника может влиять целый ряд состояний, таких как вирусные инфекции, нарушение состояния кишечной микрофлоры, терапия антибактериальными препаратами и дисбаланс микро- и макроэлементов в рационе [11, 12]. Влияние данных патологических состояний на увеличение объема ЛПС, попадающего в кровотоки, было постулировано отечественными учеными еще в конце XX века [12]. Согласно исследованию d'Hennezel и соавт. (2017) у лиц с избыточной массой тела и ожирением дисбаланс микрофлоры кишечника приводит к увеличению поступления в системный кровоток ЛПС с гексаацильным липидом А [50]. Также известно, что высококалорийные диеты с высоким содержанием липидов увеличивают проницаемость кишечника за счет различных механизмов, т.к. изменяется распределение и архитектура плотных контактов, происходит активация апоптоза эпителиальных клеток кишечника, происходит стимуляция каскада провоспалительных сигналов, увеличивая продукцию цитокинов, повреждающих эпителий кишечника, снижая уровень барьерных цитокинов; модулируется состав слизи кишечника и обогащается микрофлора кишечника видами, разрушающими барьер слизистой оболочки [181, 158].

В исследовании Petruk и соавт. (2021) описаны взаимодействия между S-белком коронавируса и ЛПС, которое приводит к усилению воспаления *in vitro* и *in vivo*. S-белок в сочетании с эндотоксином усиливает активацию ядерного фактора-каппа В (NF-κB) в моноцитарных клетках ТНР-1 и цитокиновые ответы в клетках моноцитарно-макрофагального ряда. Динамическое рассеяние света, просвечивающая электронная микроскопия и анализ ЛПС-FITC продемонстрировали, что белок S модулирует состояние агрегации ЛПС, обеспечивая объяснение наблюдаемого эффекта амплификации на молекулярном уровне. Эти данные представляют нам потенциально важную молекулярную связь

между неконтролируемым воспалением у пациентов с SARS-CoV-2 инфекцией и сопутствующими заболеваниями, связанными с повышенным уровнем бактериального эндотоксина [179].

Также довольно интересным представляется влияние ЛПС на первое звено в патогенезе вирусного поражения легких – развитии эндотелиальной дисфункции и развитие внесердечного отека легких. Изначально эти изменения вызваны задержкой микроагрегатов эндотелием легким со снижением перфузии легочных капилляров, разрушением удерживаемых продуктов с образованием провоспалительных медиаторов, повреждающих интерстиций и вдыханием токсичных веществ или микробной флоры, повреждающих альвеолоциты и влияющих на легочный сурфактант [6].

Одну из главных ролей при новой коронавирусной инфекции играет снижение уровня ангиотензин-превращающего фермента 2 (ACE2), который обычно превращает ангиотензин II в ангиотензин 1-7, стимулирующий эндотелиальные клетки к выработке оксида азота (NO). NO способствует вазодилатации и подавлению агрегации тромбоцитов. При инфекции SARS-CoV-2 уровни ангиотензина II повышаются, вызывая сужение сосудов и снижение кровотока. Моноциты и другие клетки после активации SARS-CoV-2 экспрессируют на своей поверхности тканевой фактор и фосфатидилсерин и инициируют прокоагуляционные изменения в сосудистом русле легких [20].

Sodhi и соавт. (2018) на лабораторных животных проверяли влияние ACE2 на дез-Arg⁹ брадикинин (DAVK) в эпителиальных клетках респираторной системы, в связи с тем, что DAVK является биологическим субстратом ACE2 в легких, а ACE2 играет роль в патогенезе острого лёгочного воспаления, частично за счет модулирования процесса передачи сигналов оси DAVK/брадикининового рецептора B1 (BKB1R). Было обнаружено, что потеря функции ACE2 в легких лабораторных мышей при вдыхании эндотоксина приводит к активации оси DAVK/BKB1R, высвобождению провоспалительных цитокинов, таких как хемокин 5 (CXCL5), воспалительный белок макрофагов-2 (MIP2) и ФНО- α из дыхательных путей. Данное взаимодействие приводит к повышенной

инфильтрации тканей лёгких нейтрофилами, усилению воспаления и повреждения паренхимы. В связи с этим, можно высказать предположение о том, что снижение активности ACE2 в легких на фоне нагрузки ЛПС усиливает воспаление в легких, отчасти из-за нарушения способности подавлять опосредованную осью DABK/ВКВ1R передачу сигналов, что приводит к усиленной инфильтрации нейтрофилов и более тяжелому воспалению в легких [200].

Система комплемента также может быть вовлечена в патологическое взаимодействие ЛПС при SARS-CoV-2. В случае SARS-CoV-2 активация комплемента чрезмерна, что приводит к жизнеугрожающим острым воспалительным процессам, повреждению клеток эндотелия и способствует внутрисосудистой коагуляции [164]. В виду того, что ЛПС также является мощным активатором системы комплемента, запускающим лектин-опосредованный каскад, который был описан при SARS-CoV-2 [189, 63], эндотоксин является молекулой, потенциально усиливающей данный вид иммунного ответа.

Эндотелиальная дисфункция, по данным ряда исследований по изучению эндотоксина, также может быть следствием активации липополисахаридом TLR4-опосредованного оксидативного пути. Данный механизм включает образование активных форм кислорода (АФК, ROS) NADPH-оксидазой и последующую дезактивацию eNOS и снижение эффективности эндотелиального оксида азота, что приводит к развитию дисфункции эндотелия [5, 78]. Предполагаемый механизм включает активацию p38MAPK, зависимую и независимую деградацию белка IκBα и последующую транслокацию p65 NF-κB в ядро, что приводит к транскрипции медиатора воспаления (ИЛ-6) и молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1, и E-селектина) [78]. Кроме того, комплекс, состоящий из эндотоксина и липополисахарид-связывающего белка (ЛСБ) способен взаимодействовать с растворимой формой рецептора CD14 (sCD14), что также определяет его провоспалительное действие на клетки немиелоидного ряда (эпителиоциты, эндотелиоциты и др.) [137]. В дальнейшем из-за дисфункции эндотелиального

слоя развивается синдром капиллярной утечки с переходом жидкости и белков плазмы крови в интерстициальное и альвеолярное пространство и развитием некардиогенного отека легких, который является проявлением острого повреждения легких (ОПЛ) [3].

Вклад в патогенез развития ОРДС при SARS-CoV-2 может вносить образование комплекса ЛПС-сурфактант. В модели «ЛПС-сурфактант» взаимодействие ЛПС с синтетическим липидным монослоем значительно повреждает эти пленки, способствуя раннему разрушению и снижению поверхностного натяжения [40]. В данном аспекте, иммунологически наиболее важным является взаимодействие ЛПС с белками сурфактантов, такими как SP-A и SP-D. Данные белки относятся к группе коллектинов и играют важную роль в механизме врожденной защиты, связываясь с микроорганизмами, проникающими в лёгкие ингаляционным путём, и уничтожая их [92]. Процесс связывания SP-A с ЛПС, вероятно, опосредуется кальций-зависимым путем. SP-A взаимодействует не со всей молекулой ЛПС, а специфически связывается с липидом А эндотоксина. Белок SP-D связывается с ЛПС другим путем, узнавая L-глицеро-D-манногептозу внутреннего ядра эндотоксина [224, 391]. SP-A снижает высвобождение TNF- α из ЛПС-стимулированных альвеолярных макрофагов у лабораторных животных (крыс) и людей [71]. Эксперименты *in vivo* продемонстрировали, что мыши с дефицитом SP-A продуцируют значительно больше ФНО- α , чем мыши дикого типа, после интратрахеального введения ЛПС. Напротив, SP-D умеренно увеличивает продукцию ФНО- α в ЛПС-стимулированных альвеолярных макрофагах [38].

Ряд эндотоксин-связывающих систем, связанных напрямую и косвенно с уровнем циркулирующего в системном кровотоке эндотоксина, а также состояние их дисбаланса при некоторых заболеваниях дает нам право использовать данные показатели как маркеры воздействия липополисахарида на организм хозяина [2, 6, 13].

Известно, что ЛСБ представляет собой первый и важнейший белок организма, распознающий молекулу эндотоксина [195]. ЛСБ также относят к

маркерам, позволяющим оценить кишечную проницаемость для ЛПС, что при тяжелом течении инфекции SARS-CoV-2 может является отражением повреждения кишечного-гематологического барьера [127, 231, 244]. Так, Noel H. с соавт. (2021) описал повышение уровня ЛСБ у пациентов с COVID-19. При этом у пациентов с поражением сердца были зарегистрированы наибольшие уровни ЛСБ, что также коррелировало с уровнем таких показателей, как NT-pro-BN, ИЛ-18 и ИЛ-1RA [91].

Липополисахарид-связывающий белок является острофазовым белком, основная роль которого заключается в транспорте и представлении связанного ЛПС к гликопротеину CD14, который является корцептором толл-подобного рецептора 4 типа (TLR 4) и адаптерного белка MD2 [51]. CD14 же имеет две формы: связанный с мембраной CD14 (mCD14) и растворимая форма CD14 (sCD14). mCD14 имеет крайне высокое сродство к эндотоксину и экспрессируется в основном на поверхности клеток моноцитарно-макрофагального ряда, дендритных клетках и, в меньшей степени, на клеточной поверхности нейтрофильных гранулоцитов [122]. sCD14 определяется в сыворотке, ликворе и других биологических жидкостях организма, обеспечивая взаимодействие с ЛПС клеток немиелоидного ряда, которые, как известно, не экспрессируют CD14 [215, 208]. sCD14 секретируется активированными клетками, которые высвобождают CD14 за счет протеазозависимого (48 кДа) или независимого шеддинга (55 кДа). sCD14, расщепляясь под действием катепсина D и других протеаз в плазме [198], способен превращаться в подтип sCD14 (sCD14-ST), состоящий из N-концевых фрагментов 13 кДа, и который в последствии был назван пресепсином [157]. Данная молекула высвобождается в системный кровоток после активации провоспалительного каскада при контакте клеток с различными инфекционными агентами [230].

Данные, полученные при изучении пресепсина у пациентов с SARS-CoV-2, дают основание предполагать, что sCD14-ST может помочь в идентификации пациентов, у которых вероятно более тяжелое, затяжное течение, а также имеющих гораздо более высокий риск летального исхода [239, 35]. Эти данные не

однозначны, и существуют публикации других авторов, в которых пресепсин не имел значения для прогнозирования тяжести заболевания [114].

В недавнем исследовании Oliva и соавт. (2021) проводилась оценка маркеров кишечной проницаемости, таких как зонулин и ЛСБ, а также уровня циркулирующего эндотоксина в сыворотке крови у 81 пациента с инфекцией SARS-CoV-2. Полученные результаты сравнивали с показателями группы контроля (здоровые люди). По данным авторов, зонулин, ЛСБ и циркулирующий ЛПС в крови были значительно увеличены по сравнению с группой контроля. Также наблюдалась корреляционная связь между показателями ЛПС и зонулина ($r=0.513$; $p<0.001$). Ученые также установили взаимосвязь уровней ЛПС в крови и риском тромботических событий. Так у пациентов с повышенным уровнем ЛПС риск развития тромбозов различной локализации был практически в 2 раза выше, чем у лиц с нормальным уровнем данного маркера [166]. Результаты другого исследования, проведенного в 2021 году Teixeira и соавт., также доказывают вовлеченность молекулы ЛПС в формировании воспалительного фона у пациентов с SARS-CoV-2. Показатели эндотоксинемии были выше у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, в отличие от контрольной группы здоровых лиц. Также авторы предполагают влияние повышенной концентрации ЛПС в системном кровотоке на гиперактивацию клеток моноцитарно-макрофагального ряда [211].

К сожалению, на данный момент имеется мало работ, описывающих вариативность течения инфекции SARS-CoV-2 в зависимости от полиморфизма генов, кодирующих основные молекулы ЛПС-зависимого воспалительного ответа, такие как CD14 и TLR4. Ранее в литературе отмечалась роль данных генетических особенностей и их влияние на тяжесть других респираторных инфекций. Так, например, при инфекции, вызванной вирусом гриппа H1N1, где С-аллель полиморфизма CD14 С-159Т была ассоциирована с тяжелым осложненным течением заболевания, а гаплотип (CD14 (159CC); FCGR2A (166Arg/Arg)), выявленный в двух случаях, привел к молниеносному течению заболевания и смерти пациентов [7]. В публикации Abhijit Pati с соавт. (2021) был

проведен анализ работ по влиянию полиморфизма гена CD14 (C-159T, rs2569190) на течение новой коронавирусной инфекции, основываясь на данных генетических исследований, проведенных до пандемии новой коронавирусной инфекции. После сравнения данных генетического анализа и данных, полученных за время пандемии, авторы выявили положительную корреляцию между уровнем инфицирования SARS-CoV-2 на миллион населения и минорным аллелем CD14 (C-159T) (T) ($r=0,57$, $p=0,005$). Кроме того, аллель T полиморфизма CD14 (C-159T) также был положительно связан с уровнем смертности от SARS-CoV-2 на миллион человек ($r=0,61$, $p=0,003$) [175]. Эти результаты в совокупности свидетельствуют о возможной роли полиморфизма CD14 к предрасположенности и исходу заболевания при инфекции SARS-CoV-2.

Ранее также поступали сообщения, указывающие на ассоциацию гомозиготного мутантного (TT) полиморфизма CD14 (C-159T) с восприимчивостью к вирусным и микробным инфекциям, тяжестью клинических проявлений, таких как туберкулез [242], респираторно-синцитиальный вирус [76] и хронический гепатит C [148]. Напротив, генотип CC был связан с предрасположенностью к тяжелой атипичной пневмонии в популяции Гонконга [236]. Точный механизм того, как минорный аллель (T) вызывает восприимчивость к инфекции SARS-CoV-2, неизвестен. Кроме этого, Abhijit Pati с соавт. (2021) заметили значительную положительную корреляцию между смертью от инфекции SARS CoV-2 и минорным аллелем T. Поскольку аллель T был связан с повышенным уровнем sCD14 [172], инфицированные SARS-CoV-2 люди, имеющие минорный аллель (T), возможно, имеют повышенный уровень sCD14, что, в конечном итоге, может привести к плохому прогнозу для пациентов. Однако, авторы и сами рапортовали об ограничениях в исследовании, а именно: анализ проводился только в ряде европейских стран, т.к. другие континенты не были включены в исследование из-за меньшего количества опубликованных отчетов о распространенности генотипов CD14 (C-159T) среди здоровых людей; наблюдательное корреляционное исследование для изучения возможной ассоциации инфекции SARS-CoV-2 и смертности менее подходящий вариант для

исследований генетической предрасположенности, чем метод случай-контроль; в исследовании не учитывались факторы, влияющие на смертность от SARS-CoV-2, такие как возраст, пол и другие [172].

Данные о влиянии полиморфизма гена рецептора TLR 4 на данный момент практически отсутствуют. Гены TLR могут модулировать иммунный ответ на широкий спектр микробных лигандов, включая вирусы. Так полиморфизмы в генах TLR2 и TLR4 были связаны с инфекционными заболеваниями [236], о наличии полиморфизма TLRArg677Trp сообщалось в исследовании, проведенном среди корейских больных лепроматозной проказой [103]. Этот полиморфизм также был связан с туберкулезом в тунисской популяции [30].

TLR4 является рецептором распознавания образов (PRR), который относится к врожденной иммунной системе. Он распознает множество патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMPs) от бактерий, вирусов и других патогенов [56]. Кроме того, он распознает некоторые ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны (DAMPs), такие как амфотерин (HMGB1) и белки теплового шока (HSPs), высвобождаемые из умирающих или лизированных клеток во время повреждения тканей хозяина [217]. TLR4 экспрессируется не только на клеточной поверхности иммунных клеток, таких как макрофаги и дендритные клетки, где он играет роль в регуляции острого воспаления, но и на некоторых популяциях клеток в тканях, для защиты в случае инфекции и/или для регулирования их фиброза в случаях повреждения тканей [190, 32]. Архитипичным агонистом PAMP для TLR4 является липополисахарид грамотрицательных бактерий [46]. В упрощенном представлении активация TLR4 под действием патогенных компонентов приводит к продукции провоспалительных цитокинов через канонический путь и/или выработке интерферонов I типа и противовоспалительных цитокинов по альтернативному пути. Существуют и другие TLR, такие как TLR3, который прикреплен к внутриклеточным эндосомам и распознает фрагменты двухцепочечной РНК (дсРНК) патогенов, после вторжения их в клетку [21]. В отличие от этого, TLR4 присутствует как на поверхности клетки (основной участок), где он распознает

вирусные белки до их проникновения в клетку, так и в эндосомах, где запускается альтернативный сигнальный путь [121]. TLR4 играет важную роль в иницировании воспалительных реакций, и его чрезмерная стимуляция может быть губительной, приводя к гиперовоспалению. Показано, что дисрегуляция сигнализации TLR4 играет роль в возникновении и/или прогрессировании различных заболеваний, таких как ишемия-реперфузия, атеросклероз, гипертоническая болезнь, рак, нервно-психические и нейродегенеративные заболевания [150, 176, 33].

TLR4 экспрессируется в основном на клетках иммунной системы, включая макрофаги, дендритные клетки и моноциты [19]. Они могут быть тканевыми резидентами в легких или сердце или мигрировать после инфекции или гибели клеток. В легких TLR4 также экспрессируется на низком базальном уровне в альвеолярных клетках, включая клетки I и II типа, и эпителиальных клетках бронхов, но интересно, что экспрессия TLR4 и сенсibilизация (к ЛПС) увеличиваются при воспалении, инфильтрации или вирусных инфекциях, таких как РСВ [229]. Он также экспрессируется на альвеолярных макрофагах и легочных фибробластах [83, 87]. Активация TLR4 в легких приводит к интенсивному воспалительному ответу с активацией Nod-подобного рецепторного белка 3 (NLRP3) инфламмасом и секрецией провоспалительных цитокинов. Сигнализация TLR4 была определена как ключевой путь развития острого повреждения легких [229, 96, 184]. Ингибирование сигнального пути NLRP3 инфламмасы, расположенного ниже TLR4, ослабляет ЛПС-индуцированное острое повреждение легких [139, 108]. TLR4 также может способствовать фиброзу легких [128]. В сердце TLR4 экспрессируется на кардиомиоцитах, сердечных фибробластах и сердечных макрофагах [66, 233, 209]. Фактически, TLR4 является наиболее часто экспрессируемым TLR в сердце, за ним следуют TLR2 и TLR3 [162]. TLR4 играет важную роль в регуляции функции миокарда, активации фибробластов и острого воспаления иммунными клетками. Активация TLR4 ЛПС на кардиомиоцитах приводит к последующему снижению сократимости миокарда [66, 213], и в литературе преобладает мнение, что

активация TLR4 на фибробластах и макрофагах сердца приводит к профибротическому и провоспалительному ответу, соответственно [233, 243]. Более того, ЛПС вызывает септическую кардиомиопатию через активацию TLR4 [144], что имеет значение, так как сепсис - вирусный или бактериальный - связан с тяжелыми случаями SARS-CoV-2.

Кроме того, TLR 4 может быть непосредственно связан с процессом проникновения вируса SARS-CoV-2 в клетку, а также запускать провоспалительный каскад при взаимодействии со спайк-протеином коронавируса. Так, Choudhury и Mukherjee (2020) провели исследование *in silico* и обнаружили, что шиповидный гликопротеин SARS-COV-2 имеет самое сильное взаимодействие с TLR4 по сравнению с другими TLR [45]. Недавно Sohn и соавт. (2020) сообщили, что у пациентов с COVID-19 экспрессия TLR4 и его нижележащих сигнальных медиаторов значительно повышена в мононуклеарных клетках периферической крови по сравнению с таковой у здоровых людей [201]. В связи с возможным многофакторным влиянием рецепторов TLR4 на звенья патогенеза SARS-CoV-2, Aboudounya и Heads (2021) предложили следующую схему общего взаимодействия данного типа рецепторов и новой коронавирусной инфекции [14]. По мнению авторов, инфицирование SARS-CoV-2 альвеолярных клеток II типа, приводит к значительному снижению выработки легочных сурфактантов в альвеолах, влияя на поверхностное натяжение воздуха/ткани, а также открывая внеклеточные сайты связывания TLR4 на эпителиальных клетках бронхов и альвеол. Затем вирус связывает TLR4 на других альвеолярных и бронхиальных эпителиальных клетках через свой спайк-белок или другой капсидный белок, используя его, чтобы увеличить экспрессию ACE2 через интерфероны и, затем непосредственно проникнуть в клетку с помощью TLR4, вызвать aberrантную сигнализацию TLR4 в направлении MyD88-зависимого провоспалительного пути, а не TRIF/TRAM-зависимого пути интерферона, и/или активировать сигнализацию PI3K в инфицированных клетках для предотвращения апоптоза. Инфильтрация воспалительных клеток приводит к ап-регуляции TLR4 на этих клетках легких и происходит активация TLR4 на воспалительных клетках,

которая направлена на MyD88-зависимую острую воспалительную сигнализацию, что еще больше усугубляет ситуацию. Связывая TLR4, SARS-CoV-2 вызывает бурное воспаление и острое повреждение лёгких, а попадая в кровоток, он инфицирует сердце через ACE2 и/или TLR4 (вызывая миокардит), а также другие органы, такие как кожа, почки и ЖКТ, где экспрессируется TLR4. Более того, HMGB1 и другие DAMPs, высвобождаемые из некротических/литических клеток, а также уровень ЛПС, поступающего в легкие или выделяемого условно-патогенными грамотрицательными бактериями, также могут активировать TLR4, усиливая и без того сильное воспаление. Сигнализация ЛПС-TLR4 также активирует NLRP3 инфламмасому, что приводит к дальнейшему высвобождению ИЛ-1 β [86]. По мере инфицирования и разрушения альвеолярных клеток продолжается резкое снижение уровня легочного сурфактанта, и наступает ОРДС. Все вышеперечисленное приводит к чрезмерному воспалению и тяжелому течению заболевания, в том числе активация TLR4 на тромбоцитах вирусом или DAMPs повышает риск тромбоза, проявляющегося в виде инфарктов миокарда и эмболий. Дополнительным доказательством, подтверждающим эту модель, является то, что кортикостероиды, в частности дексаметазон эффективно снижает 28-дневную смертность от SARS-CoV-2 среди тех, кто получает инвазивную механическую вентиляцию [212]. Кортикостероиды подавляют провоспалительные транскрипционные факторы NF- κ B и AP-1 [185], которые являются нижележащими мишенями сигнализации от TLR4 и других TLR. Более того, со временем чрезмерная стимуляция TLR4 на структурных фибробластах в сердце и легких может привести к фиброзу [233].

Все вышеизложенное дает возможность предполагать, что эндотоксин и системы, опосредующие взаимодействие ЛПС и организма хозяина, играют важную роль в процессах острого воспаления при SARS-CoV-2, однако требуются более углубленные исследования связанные с изучением как генетической предрасположенности развития ЛПС-опосредованной гиперактивации TLR4, в том числе на популяции, населяющей Республику Крым, так и состояния эндотоксин-связывающих систем с целью изучения их предикционного

потенциала при новой коронавирусной инфекции.

1.3 Метаболическая эндотоксинемия, ожирение и низкоинтенсивное воспаление

Избыточная масса тела и ожирение представляет собой один из важнейших факторов, отягощающих как острые, так и хронические заболевания и патологические процессы, поражающие человеческий организм. Приблизительно 66% взрослого населения США и более 110 миллионов человек страдают из-за избыточной массы тела или ожирения [65]. Современная наука представляет жировую ткань как сложно устроенный иммунный и эндокринный орган, а не только энергетическое депо организма [22].

Доказано, что ожирение сопровождается состоянием низкоинтенсивного воспаления, вызванного увеличенными уровнями системных и локальных провоспалительных медиаторов [77]. Подтверждена роль иммунного дисбаланса при ожирении в развитии диабета II типа (СД2), метаболического синдрома и сердечно-сосудистых заболеваний [54, 220].

По данным отечественных и зарубежных исследований, определяется взаимосвязь между параметрами метаболических нарушений и эндотоксинемией, что может потенцировать многочисленные нарушения эффекторных механизмов поддержания гомеостаза [182, 17, 118, 13].

Процессы, происходящие в белой жировой ткани (БЖТ) у худых людей и лиц с ожирением, разнятся. В основном БЖТ накапливается подкожно в брюшной полости и в парависцеральной клетчатке. У мужчин 11–25% жировых запасов расположено парависцерально, в то время как у женщин — только 6–9% [151]. К физиологическим различиям данных типов БЖТ можно отнести следующие: клетки висцеральной БЖТ характеризуются более выраженной инсулинорезистентностью, проявляют гораздо более высокую метаболическую и липолитическую активность [22]. Более того, накопление висцерального подтипа

БЖТ коррелирует с повышением риска развития метаболического синдрома и сахарного диабета 2-го типа (СД2) [112, 125, 72].

БЖТ в основном состоит из клеток жировой ткани - адипоцитов, также содержит преадипоциты, иммунные клетки, фибробласты и сосудистые клетки. Локализация жировой ткани, а также конституциональные особенности определяют количество и фенотип этих клеток [168]. У худых людей БЖТ, как правило, состоит из иммунокомпетентных клеток, а именно регуляторных и иммуносупрессивных по своей природе, Т-хелперов (Th) 2 типа, регуляторных Т-клеток (Treg), эозинофилов, инвариантных натуральных киллеров (iNKT) и M2-подобных макрофагов жировой ткани (ATM). ATM у худых людей являются преобладающими клетками, присутствующими в БЖТ, и составляют 6–16% от общей клеточной популяции [120]. M2-подобные макрофаги распределены в жировой ткани равномерно и выполняют ряд физиологических функций, включая удаление погибших адипоцитов, ингибирование пролиферации предшественников адипоцитов и секреции противовоспалительных интерлейкинов, таких как ИЛ-10, ИЛ-4, ИЛ-13 и ИЛ-1R α) [160, 138].

Повышенное накопление липидов, имеющее место при ожирении, приводит к гипоксии, гипертрофии клеток жировой ткани и повышенной гибели клеток. Происходит изменение микроокружения, в котором повышается секреция провоспалительных медиаторов, включая ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8 и моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1, других цитокинов, секретлируемых адипоцитами и клетками иммунной системы [159, 113, 61]. Все это усиливает миграцию циркулирующих моноцитов и других клеток врожденного и приобретенного иммунитета в жировую ткань [159, 113, 61]. Повышенная инфильтрация клетками моноцитарного ряда [120] и задержка в тканях макрофагов [186] способствуют существенному увеличению количества клеток моноцитарно-макрофагального ряда у пациентов с ожирением.

Провоспалительная среда в БЖТ у пациентов с ожирением, помимо увеличения количества макрофагов, способствует изменению фенотипа ATM [138]. Ранее предполагалось, что избыточная масса тела приводит к повышенной

концентрации M1-провоспалительных макрофагов в БЖТ. Однако в ряде исследований было обнаружено, что кроме M1 макрофагов, в БЖТ у пациентов с ожирением присутствуют так называемые «метаболически активные макрофаги» с отчетливым провоспалительным профилем [117].

У пациентов с ожирением в БЖТ изменяется клеточная архитектура, увеличивается количество тучных и дендритных клеток (DC), CD4+ Th1- и Th17-клеток и CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитов [31, 205, 131, 163, 93]. Данные последних лет свидетельствуют о том, что заболеваемость аутоиммунными патологиями увеличивается параллельно с выраженностью ожирения и метаболического синдрома [142]. Так, согласно исследованиям на экспериментальных моделях животных, включая воспалительные заболевания кишечника, коллаген-индуцированный артрит, экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (ЕАЕ, модель рассеянного склероза) и системную красную волчанку (СКВ), ожирение, индуцированное диетой, приводит к более выраженной симптоматике аутоиммунных процессов [170, 44, 227, 214].

Отечественный ученый М.Ю. Яковлев еще в конце XX в. постулировал влияние стресса, вирусных инфекций, дисбактериоза кишечника, погрешностей в диете и антибиотикотерапии на увеличение транслокации бактериального эндотоксина в кровь и индукции системного низкоинтенсивного воспаления [12]. Также d'Hennezel и соавт. (2017) описали увеличение поступления ЛПС с гексаацильным липидом А в системный кровоток у лиц с ожирением и дисбалансом кишечной микрофлоры [50]. Высоколипидная диета способна приводить к увеличению проницаемости кишечного барьера путём нарушения распределения и экспрессии плотных контактов, индукции апоптоза эпителиальных клеток кишечника, стимуляции сигнальных провоспалительных каскадов, увеличению продукции повреждающих эпителиальный слой цитокинов, уменьшению уровня защитных цитокинов [181, 158].

Так называемая «метаболическая эндотоксинемия» была описана Cani и соавт. (2007), как состояние, при котором определяется хронически повышенный

уровень ЛПС в крови, на уровне в 10–50 раз ниже, чем при состояниях, сопровождающихся септическими процессами [41]. Так, признаки метаболической эндотоксинемии были выявлены у мышей, с генетически опосредованным ожирением, потребляющих нормальный корм, но также и у тощих мышей, потребляющих высококалорийную диету [41]. Повышенное отложение липидов, гиперактивация провоспалительных каскадов, перекисного окисления и возникновения инсулинорезистентности – всё это было связано с повышением уровня ЛПС [15, 41]. Таким образом, исходя из всего вышеперечисленного, кишечный ЛПС потенциально является одним из важнейших индукторов увеличения провоспалительной активности в экспериментальной модели ожирения у лабораторных мышей [151].

Подтверждена роль ЛПС как медиатора развития жировой ткани, системных и локальных воспалительных процессов и метаболических нарушений в эксперименте при введении низких доз ЛПС мышам, не страдающим ожирением, которые находились на стандартной диете [41]. Введение ЛПС в дозе 300 мкг/кг/сутки приводило к сопоставимым нарушениям у данных лабораторных мышей, как и при ожирении, вызванном высококалорийной диетой. Помимо этого, отсутствие у мышей кластера дифференцировки CD14, приводило к развитию устойчивости к увеличению жировой массы, вызванному высоколипидной диетой, органоспецифическому воспалению, отложению жиров в гепатоцитах и развитию инсулинорезистентности [41]. Эндотоксин способен выступать инициатором системного и местного воспаления, а также увеличивать продукцию активных форм кислорода путём связывания с толл-подобными рецепторами 4-го типа и последующей активации ядерного фактора NF-κB [47, 105, 129]. TLR4 активно экспрессируется на иммунocyтах, гепатоцитах, адипоцитах и в клетках скелетных мышц [68, 115, 204]. Эти ткани в совокупности играют важнейшую роль в регуляции метаболизма углеводов и жиров. АФК и провоспалительные медиаторы могут влиять на нормальный метаболизм в этих тканях [163, 93, 142, 170]. Так, Capi и соавт. описали увеличение выработки провоспалительных цитокинов, таких как ФНОα, ИЛ-6 и ИЛ-1, а также усиление

окислительного стресса, связанного с активностью НАДФН-оксидазы и индуцируемой синтазы оксида азота в гепатоцитах мышей, страдающих ожирением и метаболической эндотоксинемией [205].

На данный момент существует достаточно большое количество работ по изучению эндотоксинемии на экспериментальных моделях, как в России, так и за рубежом, однако, данных о взаимосвязи эндотоксина и метаболических заболеваний у людей значительно меньше. В низких концентрациях эндотоксин присутствует и у здоровых людей, но даже единичный прием пищи с повышенным содержанием жиров серьезно увеличивает уровни ЛПС, циркулирующего в системном кровотоке [165, 85]. В последние годы сообщается о регистрации повышенных уровней ЛПС и ЛСБ у людей с метаболическим синдромом и/или сахарным диабетом [182, 152, 49]. Уровни ЛПС у пациентов с СД2 были проанализированы Pussinen и соавт. (2011). Авторы сравнили их с группой контроля, в которой примерно 20% пациентов имели метаболический синдром. По результатам исследования уровень ЛПС был значительно повышен у пациентов с СД2 [182]. Внутривенное введение эндотоксина приводило к развитию резистентности к инсулину и системного воспаления [17], а проба с высококалорийным питанием продолжительностью более 7 недель была связана с повышением уровня ЛПС в крови, что в очередной раз подтверждает связь переедания с метаболической эндотоксинемией и развитием резистентности к инсулину [118]. В исследовании Cox и соавт. (2017) использовали ряд маркеров, таких как ЛПС, ЛСБ, а также белок, связывающий жирные кислоты в кишечнике (iFABP), для расчета риска повышения проницаемости кишечного барьера, который был значительно повышен у лиц с СД2 [49]. Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) также ассоциировалась с еще более высоким уровнем ЛПС в плазме крови [84].

Повышенный уровень циркулирующего в системном кровотоке эндотоксина вследствие увеличения проницаемости энтероцитарного барьера и нарушения микробиома, а также дисбаланс липополисахарид-связывающих систем являются важными факторами в развитии кардио-метаболических

заболеваний и их осложнений. Высокая базальная концентрация ЛПС в плазме крови натощак является предиктором жизнеугрожающих сердечно-сосудистых событий в течение 10 лет у лиц с ИБС [102]. Помимо этого, риск развития сахарного диабета 2-го типа увеличивается у здоровых людей в возрасте 20–70 лет с высоким уровнем ЛПС в плазме крови при последующем динамическом наблюдении на протяжении 10 лет [182]. Также в когортном исследовании, проведенном в Китае, было доказано, что риск развития метаболических нарушений и большинства компонентов метаболического синдрома (включая ожирение) значительно повышен у лиц среднего возраста и пожилых с повышенным уровнем ЛСБ [132].

Новая коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 в данном случае не стала исключением. Интерес к взаимодействию между ожирением и инфекцией был вызван ещё в 2009 году, в связи с пандемией H1N1 [59, 136]. Опубликованные тогда данные показали, что люди с ожирением были более восприимчивы к респираторной вирусной инфекции, к более тяжелому течению заболевания и неблагоприятному исходу, имели более продолжительную длительность госпитализации, и более высокий риск поступления в отделение интенсивной терапии с последующим летальным исходом [161, 218]. Так и за время пандемии SARS-CoV-2 регистрировались случаи более тяжелого течения инфекции у пациентов с ожирением. Например, отчет из США показал, что среди пациентов с новой коронавирусной инфекцией моложе 60 лет пациенты с показателем ИМТ 30-35 кг/м² и более 35 кг/м² в 1,8 и 3,6 раза чаще попадали в отделение интенсивной терапии, соответственно, по сравнению с пациентами, у которых ИМТ составлял менее 30 кг/м² [130]. Ретроспективное исследование, проведенное во Франции, показало, что 76% пациентов, поступивших в ОИТ по поводу осложнений новой коронавирусной инфекции, имели как минимум избыточный вес [199]. Исследования из Китая также показали, что наличие ожирения увеличивает риск тяжелой формы Covid-19 примерно в три раза с последующим более длительным пребыванием в инфекционном стационаре [70].

Помимо описанных эффектов ожирения (повышение уровня циркулирующего

эндотоксина, состояние персистирующего воспаления), способных приводить к более тяжелому течению инфекции SARS-CoV-2, имеются данные о том, что ожирение может сопровождаться изменением механики и физиологии дыхания, включая изменение топографического распределения вентиляции, уменьшение объема легких, снижение комплаентности, аномальное распределение вентиляции и перфузии и неэффективность дыхательных мышц [25, 192].

Таким образом изучение состояния ЛПС-связывающих систем и системного воспаления у пациентов с новой коронавирусной инфекцией на фоне ожирения или избыточной массы тела является перспективным направлением с точки зрения понимания патогенетических особенностей течения данной инфекции у пациентов с высоким показателем ИМТ.

1.4 Катепсин G и нейтрофильное воспаление при SARS-CoV-2

Развитие неподдающегося контролю, так называемого «цитокинового шторма», представляющего собой следствие гиперактивации клеточного иммунитета и запуска провоспалительного каскада, приводящее в итоге к летальному исходу, нуждается в более детальном и углубленном изучении как со стороны самого вируса, так и со стороны механизмов ответа организма человека на вирусную интервенцию.

Нейтрофильные гранулоциты мигрируют в зону воспаления одними из первых, после стимуляции различными хемотаксическими агентами, высвобождаемыми из поврежденных тканей. Стимулы различного генеза (эндогенные и экзогенные) распознаются совокупностью специализированных рецепторов нейтрофилов человека, что также потенцирует миграцию и активацию новых циркулирующих нейтрофилов. Далее происходит высвобождение целого спектра потенциально цитотоксических продуктов, таких как реактивные формы кислорода, протеазы и различные цитокины, опосредующие воспаление [234]. Под действием данного набора факторов

происходит повреждение тканей, окружающих зону воспаления, что приводит к дисфункции легочной паренхимы [26]. По данным исследований, проведенных в 2020 году, у пациентов с ОРДС на фоне SARS-CoV-2 наблюдается более высокое содержание нейтрофильных гранулоцитов в крови, что является предиктором неблагоприятного исхода [133].

Катепсин G является одним из основными компонентов азурофильных гранул нейтрофилов и принимает непосредственное участие в бескислородном пути эндо- и экзоцеллюлярного разрушения патогенных молекул. Действуя внутриклеточно внутри фаголизосом, в комбинации с микробицидными пептидами и мембранно-ассоциированной системой НАДФН-оксидазы, которая продуцирует АФК [196], способствует перевариванию фагоцитированных микроорганизмов [169]. Также катепсин G может секретироваться нейтрофилами во внеклеточную среду под воздействием цитокинов (ФНО- α), хемоаттрактантов (фактор активации тромбоцитов, ИЛ-8) или ЛПС [169]. Внеклеточный CatG способен расщеплять флагеллин, фактор вирулентности бактерий, обладающий провоспалительной активностью [135], и лейкотоксин, компонент мембран грамотрицательных бактерий *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, лизирующий лейкоциты и подавляющий функции нейтрофилов [216, 100].

Источниками катепсина G в основном являются полиморфноядерные нейтрофилы [100, 141]. Основными функциями данной протеазы являются: активация металлопротеиназ, расщепление белков внеклеточного матрикса [203], активация гранулоцитарной ренин-ангиотензиновой системы (РАС) и запуск процессов апоптоза [116]. Возможен синтез двух форм катепсина G, в секреторной, тучными клетками и нейтрофилами, и в виде внутриклеточной протеазы - АПК [39]. Катепсин G также обнаружен в некоторых клетках немиелоидного ряда, таких как клетки эндотелия и гладкомышечные клетки, что, безусловно, находит свое отражение в патогенезе осложнений инфекции SARS-CoV-2 [225]. Учитывая возможность CatG участвовать как в противовоспалительных, так и в провоспалительных реакциях, в зависимости от физиологических условий, локализации секреции и прикладного агента, итоговый

результат протеолиза способен усилить воспалительную реакцию или, наоборот, подавить развивающееся воспаление [238].

По данным литературы, катепсина G участвует в патогенезе ОРДС [241], так, в исследовании Seren с соавт. (2021) авторы описывают высокий уровень CatG в образцах, взятых из трахеи, полученных от пациентов с ОРДС на фоне новой коронавирусной инфекции [197]. В другом исследовании в назофарингеальных аспиратах пациентов с SARS-CoV-2 была идентифицирована высокая экспрессия катепсина G (CatG) (более чем в 3 раза, $p < 0,05$) [18], которую авторы объясняют аномальным накоплением нейтрофилов в носоглотке.

Как известно, при новой коронавирусной инфекции поражаются не только клетки и ткани дыхательной системы, но и другие органы и системы, клетки которых экспрессируют ACE2. Наибольший уровень экспрессии ACE2 зарегистрирован в клетках эпителиальной выстилки тонкого кишечника, инфицирование и дисфункция которых, по-видимому, сопровождается увеличением кишечной проницаемости и повышением уровня эндотоксина, циркулирующего в системном кровотоке. В зависимости от направленности действия катепсина G в конкретный момент, эпителиальный слой кишечника может подвергаться как повреждающему, так и органосохраняющему воздействию, что по-разному влияет на кишечную проницаемость [52]. Поддержка кишечного барьера катепсином G возможна благодаря регуляции данной протеазой функции E-кадгерина, способствующего улучшению состояния плотных межклеточных контактов и сохранению функции кишечного барьера [226]. Однако, с другой стороны, катепсин G способен местно увеличивать концентрацию ACE2, что может приводить к апоптозу клеток эпителиальной выстилки тонкого кишечника и, как следствие, к нарушению его барьерной функции [143].

Учитывая особую роль процессов коагуляции и тромбообразования в патогенезе новой коронавирусной инфекции, влияние CatG на систему гемостаза, описанное в литературе, является важным аргументом в пользу изучения данной протеазы в контексте SARS-CoV-2. Так, модуляция процесса активации

тромбоцитов и тромбообразования *in vivo* CatG-зависимым путём была описана в работе Faraday с соавт. [64]. В исследовании, на фоне фармакологического ингибирования CatG и подавлении его экспрессии, выявлено уменьшение агрегации тромбоцитов человека *in vitro*. А у мышей с нокаутом гена CatG наблюдалось увеличение времени кровотечения, также отмечалось уменьшение образования конъюгатов нейтрофил-тромбоцит в отсутствие CatG. Также известно, что антитромботический эффект ингибирования CatG был выше, чем у аспирина, и потенцировался при введении в комбинации [64]. Вышеизложенные данные помогают позиционировать CatG, как физиологический модулятор тромбообразования *in vivo*, представляющий собой потенциальную мишень для новых методов антитромботической терапии.

Помимо этого, CatG также способен разрушать эластичные волокна, составляющие внеклеточный матрикс и состоящие из внутреннего ядра и эластиновых мономеров тропоэластина, вшитых в состав фибриллиновых микрофибрилл [29, 169, 27, 228]. Сильно разветвленная тонкая сеть, состоящая из этих волокон, служит для для функционирования альвеол и их поддержки во время акта дыхания. Период полураспада данных волокон составляет 40-25 лет, а сами волокна отличаются высокой стабильностью [24, 207]. Только сериновые и матричные металлопротеиназы, протеазы способны расщеплять эластичные волокна. В норме при воспалении секреция эндогенных ингибиторов протеаз, таких как, например, гепарансульфат, тканевые ингибиторы металлопротеиназ или $\alpha 1$ -антитрипсин [23, 206], поддерживает баланс в системе протеаз/антипротеаз [109]. При патологии этот баланс нарушается, что впоследствии может завершиться повреждением эластического каркаса [60, 194].

Также влияние катепсина G на деградацию эластических волокон было исследовано путем изучения количества образованных под действием CatG фрагментов эластических волокон (ФЭ-CatG), у пациентов с ХОБЛ [88]. Количество молекул дезорганизованного эластина оценивалось в крови 68 пациентов со стабильным течением ХОБЛ [80]. Исследование показало, что у пациентов с ХОБЛ регистрировались значительно более высокие уровни ФЭ-CatG

по сравнению со здоровыми субъектами. В другом исследовании изучались фрагменты эластина, образованные под действием PR3 и CatG. Таким образом была доказана перспективность изучения образующихся под действием протеаз фрагментов эластина в качестве возможного предиктора смертности при ХОБЛ и усиленном ремоделировании эластического каркаса лёгких под влиянием CatG [188].

В дополнение к вышеизложенным механизмам воздействия CatG на развитие и прогрессирование воспаления, данная протеаза способна расщеплять белок переноса фосфолипидов (PLTP), обнаруживающийся в альвеолярном пространстве и обеспечивающий метаболизм фосфолипидов в эпителии. PLTP является противовоспалительным агентом относительно клеток моноцитарно-макрофагального ряда [167], блокировать активацию NF- κ B и экспрессию цитокинов в макрофагах, стимулированных ФНО α [223], играя супрессивную роль в воспалительных реакциях легких [98]. Влияние катепсина G на данный белок подтвердилось в исследовании на экспериментальных моделях бронхиальной астмы с введением белка переноса фосфолипидов и одновременным ингибированием CatG, снижающим воспаление, вызванное вдыханием табачного дыма [145]. Таким образом ингибирование CatG химическим способом приводит к его неспособности расщеплять рекомбинантный PLTP (rPLTP) в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (BALF) [36].

Влияние катепсина G на ряд основополагающих звеньев патогенеза SARS-CoV-2, по нашему мнению, делает обоснованным углубленное изучение данного маркера у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, учитывая наличие лишь единичных публикаций, описывающих уровень активности катепсина G в аспиратах, и отсутствие на данный момент публикаций описывающих уровни катепсина G у пациентов на фоне SARS-CoV-2 различной степени тяжести.

Таким образом, острые респираторные инфекции являются важной социальной и экономической проблемой, приобретая особую актуальность в связи с пандемией новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2. Множественные

эффекты молекулы ЛПС, как сильнейшего провоспалительного фактора, неразрывно связаны с состоянием и функционированием эндотоксин-связывающих систем, детальное изучение которых при новой коронавирусной инфекции практически не проводилось. Наличие сочетания новой коронавирусной инфекции и ожирения, сопровождающееся низкоинтенсивным системным воспалением, может приводить к более тяжелому течению острого периода SARS-CoV-2. Нейтрофильное воспаление и протеазы нейтрофилов, в частности катепсин G, являются одними из основных факторов острой фазы повреждения лёгких при SARS-CoV-2, изучение уровня которых в плазме крови пациентов с новой коронавирусной инфекцией на данный момент не проводилось.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Формирование групп исследования

Диссертационная работа выполнена на кафедре внутренней медицины № 2 Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Общая схема дизайна исследования представлена на рисунке 2.1.

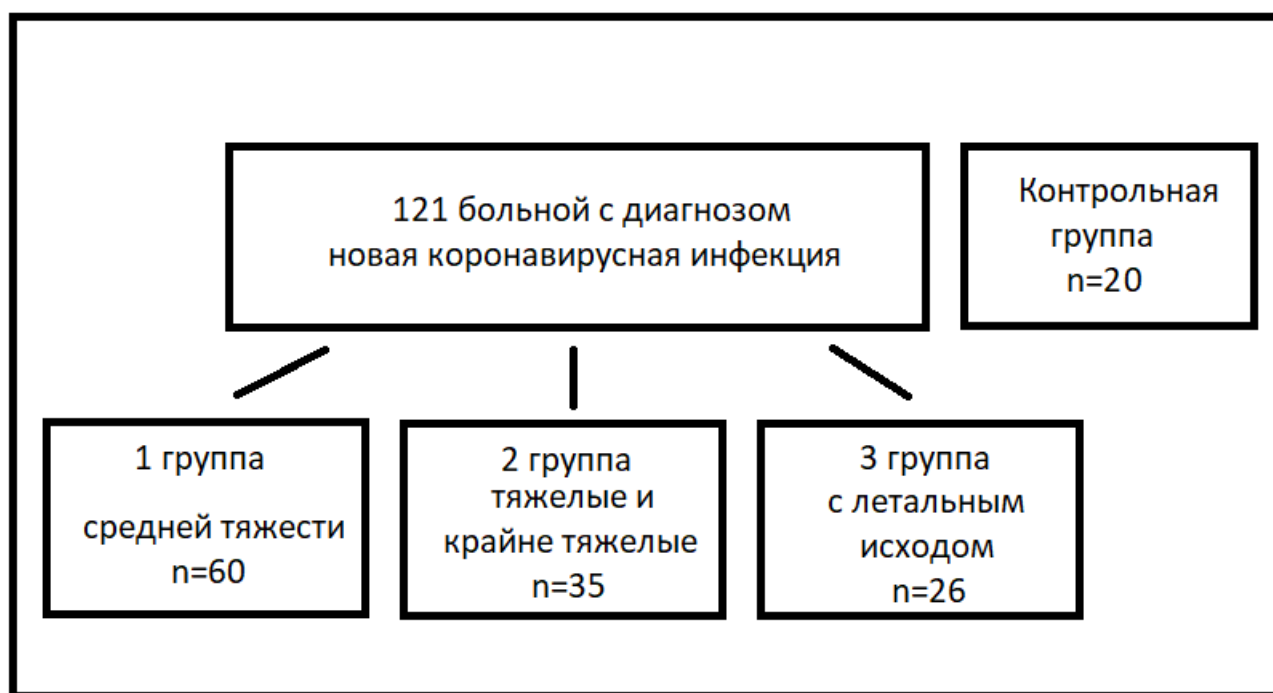


Рисунок 2.1 – Схема дизайна исследования.

В исследовании принял участие 121 больной с подтвержденным диагнозом новой коронавирусной инфекции (SARS-CoV-2) в возрасте от 45 до 70 лет, поступившие на стационарное лечение в инфекционном отделении ГБУЗ РК «Республиканской клинической больницы имени Н. А. Семашко» г. Симферополь.

Критерии включения пациентов в исследование:

1. Пациент подписал добровольное информированное согласия.
2. Инструментально и лабораторно подтвержденный диагноз новая коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 среднетяжелого, тяжелого и крайне тяжелого течения.
3. Наличие изменений на рентгенограмме/компьютерной томограмме органов грудной клетки.

Критерии исключения пациентов из исследования:

1. Пациент отказался от участия в исследовании.
2. Подтвержденный ранее диагноз БА, ХОБЛ.
3. Тяжелое течение заболеваний внутренних органов (системные заболевания соединительной ткани, сердечная недостаточность II–III стадии, прогрессирующая почечная и/или печеночная недостаточность).
4. На момент включения в исследование у пациента выявлено обострение сопутствующей патологии.
5. Наличие онкопатологии, заболеваний крови.
6. Наличие в анамнезе операций, сопровождающихся уменьшением объема легких в анамнезе.
7. Наличие беременности.
8. Терапия цитостатическими препаратами, внутривенными иммуноглобулинами, иммуностимулирующими или иммуномодулирующими препаратами.

Степень тяжести пациента была классифицирована исходя из критериев, изложенных в документе «Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19 (версия 10.0 от 8 февраля 2021, и версия 11.0 от 07 мая 2021). Пациенты средней тяжести характеризуются данными показателями: $SpO_2 < 95\%$; $t \geq 38\text{ }^\circ\text{C}$; ЧДД > 22 , а также наличие признаков двусторонней пневмонии с распространенностью изменений более 25% (при наличии результатов КТ-исследования легких). Пациенты, состояние которых оценивалось как тяжелое:

$SpO_2 \leq 93\%$; $t \geq 39$ °C; ЧДД ≥ 30 . Дополнительными признаками тяжелого состояния пациента являлись нарушение сознания, ажитация, нарушение со стороны гемодинамики (систолическое артериальное давление < 90 мм рт. ст., диастолическое артериальное давление < 60 мм рт. ст.).

1-ю группу составили пациенты с SARS-CoV-2 средней тяжести – 60 человек (23 (38,3 %) мужчин и 13 (61,7 %) женщин, с возрастной медианой равной 48 [48; 66] годам. 2-ю группу составили больные новой коронавирусной инфекцией тяжелого течения – 35 пациентов (из которых 13 (37,1 %) мужчин и 22 (62,9 %) женщины, с возрастной медианой равной 62 [50;67] годам. 3-ю группу составили 26 пациентов с SARS-CoV-2 с летальным исходом (из которых 12 (46,2 %) мужчин и 14 (53,8 %) женщин, при возрастной медиане равной 62 [49;66] годам. Пациенты были госпитализированы в инфекционное отделение ГБУЗ РК "РКБ им. Н.А. Семашко" с 16 апреля по 15 июня 2021 г., в среднем на 7 ± 2 день заболевания.

Для анализа влияния антибактериальной терапии на амбулаторном этапе на состояние эндотоксин-связывающих систем 60 пациентов 1-й группы основного исследования были разделены на 2 подгруппы: подгруппа А – пациенты средней тяжести, не получавшие антибактериальные препараты на амбулаторном этапе, подгруппа В – средней тяжести, у которых применялась антибактериальная терапия. В подгруппу А были включены больные SARS-CoV-2 – 26 человек (из них было 10 (38,46 %) мужчин и 16 (61,64 %) женщин, возрастная медиана составила 60 [45; 70] лет. Подгруппу В составили пациенты с SARS-CoV-2 - 34 человека (из них 13 (38,24 %) мужчин и 21 (61,76 %) женщина, возрастная медиана составила 60 [48; 66] лет.

Исследование влияния избыточной массы тела и ожирения на состояние липополисахарид-связывающих систем и системного воспаления проводилось у 55 пациентов 1-й группы основного исследования. Пациенты были разделены на 3 подгруппы: подгруппа С (n = 10) – пациенты с нормальным индексом массы тела (ИМТ), подгруппа D (n = 19) – пациенты с избыточной массой тела (ИМТ > 25 кг/м²), подгруппа Е (n = 26) – пациенты с ожирением 1-й степени (ИМТ > 30

кг/м²). Подгруппу С составили больные SARS-CoV-2 – 10 человек (из них было 4 (40,0 %) мужчины и 6 (60,0 %) женщин, возрастная медиана составила 56 [45; 66] лет. Подгруппу D составили пациенты с SARS-CoV-2 - 19 человек (из них 7 (36,84 %) мужчин и 12 (63,16 %) женщин, возрастная медиана составила 58 [45; 63] лет. В подгруппу E были включены больные SARS-CoV-2 - 26 человек (из них 11 (42,31 %) мужчин и 15 (57,69 %) женщин, возрастная медиана составила 61 [50; 67] год.

Таблица 2.1 – Характеристика основных клинических групп пациентов, включенных в исследование

Признаки		Единицы измерения	1 группа (n = 60)	2 группа (n = 35)	3 группа (n = 26)	Значимость различий
			1	2	3	
Пол	Муж	абс. (%)	23 (38,3)	13 (37,1)	12 (46,2)	$p_{1-2} = 0,908^{**}$ $p_{1-3} = 0,497^{**}$ $p_{2-3} = 0,479^{**}$
	Жен	абс. (%)	37 (61,7)	22 (62,9)	14 (53,8)	$p_{1-2} = 0,908^{**}$ $p_{1-3} = 0,497^{**}$ $p_{2-3} = 0,479^{**}$
Возраст, годы		Me [Q ₁ ; Q ₃]	60 [46;66]	62 [50;67]	62 [49;66]	$p_{1-2} = 0,317^*$ $p_{1-3} = 0,426^*$ $p_{2-3} = 0,352^*$
ИМТ, кг/м ²		Me [Q ₁ ; Q ₃]	29,4 [25,2;31,8]	31,2 [27,1; 32,4]	31,1 [27,5; 33,4]	$p_{1-2} = 0,147^*$ $p_{1-3} = 0,582^*$ $p_{2-3} = 0,835^*$
Температура тела в день поступления, °С		Me [Q ₁ ; Q ₃]	37,5 [37,2;38,2]	37,6 [36,8;38,0]	38,0 [37,6;38,2]	$p_{1-2} = 0,461^*$ $p_{1-3} = 0,517^*$ $p_{2-3} = 0,628^*$

Примечания

1 р* – выявление различий по количественным признакам между группами выполнено с использованием критерия Манна – Уитни;

2 р** – выявление различий по качественным признакам между группами выполнено с использованием критерия хи-квадрат.

При проведении исследования влияния дисбаланса липополисахарид-

связывающих систем в ответ на инициальную противовоспалительную терапию препаратами глюкокортикостероидов было отобрано 104 пациента из общей выборки первоначального исследования.

Таблица 2.2 – Характеристика больных, включенных в исследование по изучению влияния антибиотикотерапии на показатели гуморальных эндотоксин-связывающих систем у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких

Признаки		Единицы измерения	Подгруппа А (n = 51)	Подгруппа В (n = 35)	Значимость различий
			1	2	
Пол	Муж	абс. (%)	10 (38,46)	13 (38,24)	p = 0,623**
	Жен	абс. (%)	16 (61,64)	21 (61,76)	p = 0,623**
Возраст, годы		Me [Q1; Q3]	60 [54;67]	60 [48;66]	p = 0,636*
ИМТ, кг/м ²		Me [Q1; Q3]	29,58 [24,9; 32,17]	27,77 [25,7; 31,25]	p = 0,243*
Температура тела в день поступления, °С		Me [Q1; Q3]	37,8 [37,2; 38,2]	37,5 [37,2; 38,2]	p = 0,551*

Примечания

1 p* – выявление различий по количественным признакам между группами выполнено с использованием критерия Манна – Уитни;

2 p** – выявление различий по качественным признакам между группами выполнено с использованием критерия хи-квадрат.

Пациенты были разделены на 2 подгруппы: подгруппа F – пациенты, у которых зарегистрирован положительный ответ на инициальную терапию ГКС, подгруппа G – пациенты, у которых ответ на инициальную терапию не наблюдался, или был сомнительным. Оценка ответа на противовоспалительную терапию производилась исходя из изменений как клинических показателей, таких как снижение температуры тела, достижение контроля и стабильности

показателей сатурации (SpO₂) и общего улучшения самочувствия пациента, так и лабораторных маркеров – снижения уровня СРБ, ферритина, увеличения абсолютного содержания в крови лимфоцитов.

Таблица 2.3 – Характеристика больных, включенных в исследование по изучению взаимосвязи избыточной массы тела, ожирения и уровней гуморальных эндотоксин-связывающих систем у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких

Признаки		Единицы измерения	Подгруппа С	Подгруппа D	Подгруппа E	Значимость различий
			(n = 10)	(n = 19)	(n = 26)	
			1	2	3	
Пол	Муж	абс. (%)	4 (40,0)	7 (36,84)	11 (42,31)	$p_{1-2} = 0,476^{**}$ $p_{1-3} = 0,699^{**}$ $p_{2-3} = 0,621^{**}$
	Жен	абс. (%)	6 (60,0)	12 (63,16)	15 (57,69)	$p_{1-2} = 0,476^{**}$ $p_{1-3} = 0,699^{**}$ $p_{2-3} = 0,621^{**}$
Возраст, годы		Me [Q ₁ ; Q ₃]	56 [45;66]	58 [45;63]	61 [50;67]	$p_{1-2} = 0,184^*$ $p_{1-3} = 0,106^*$ $p_{2-3} = 0,311^*$
ИМТ, кг/м ²		Me [Q ₁ ; Q ₃]	23,83 [22,6; 24,6]	27,35 [26,2; 29,1]	31,71 [30,8; 32,3]	$p_{1-2} = 0,001^*$ $p_{1-3} = 0,001^*$ $p_{2-3} = 0,001$
Температура тела в день поступления, °C		Me [Q ₁ ; Q ₃]	37,8 [37,5;38,5]	37,2 [37,0;37,6]	37,9 [37,3;38,6]	$p_{1-2} = 0,461^*$ $p_{1-3} = 0,517^*$ $p_{2-3} = 0,628^*$

Примечания

1 p* – выявление различий по количественным признакам между группами выполнено с использованием критерия Манна – Уитни;

2 p** – выявление различий по качественным признакам между группами выполнено с использованием критерия хи-квадрат.

В подгруппу F были включены больные SARS-CoV-2 – 51 человек (из них было 19 (37,25 %) мужчин и 32 (62,75 %) женщин, возрастная медиана составила 60 [64; 57] лет. Подгруппу G составили пациенты с SARS-CoV-2 - 53 человека (из них 19 (35,85 %) мужчин и 34 (64,15 %) женщины, возрастная медиана составила 65 [59; 70] лет. Подгруппы различались соотношением пациентов по

степени тяжести, так в подгруппе F количество больных средней тяжести составило 42 (82,35 %) человека, больных в тяжелом состоянии – 9 (17,65 %). В подгруппе G – 25 (47,17 %) пациентов средней тяжести и 28 (52,83 %) в тяжёлом состоянии.

Таблица 2.4 – Характеристика больных, включенных в исследование уровней гуморальных эндотоксин-связывающих систем у пациентов с резистентным к инициальной терапии глюкокортикостероидами SARS-CoV-2-поражением лёгких

Признаки		Единицы измерения	Подгруппа F (n = 51)	Подгруппа G (n = 35)	Значимость различий
			1	2	
Пол	Муж	абс. (%)	19 (37,25)	13 (37,1)	p = 0,944**
	Жен	абс. (%)	32 (62,75)	22 (62,9)	p = 0,944**
Возраст, годы		Me [Q ₁ ;Q ₃]	60 [54;67]	62 [50;67]	p = 0,296*
ИМТ, кг/м ²		Me [Q ₁ ;Q ₃]	29,58 [24,9; 32,17]	31,2 [27,1; 32,4]	p = 0,215*
Температура тела в день поступления, °C		Me [Q ₁ ;Q ₃]	37,8 [37,2;38,2]	37,6 [36,8;38,0]	p = 0,341*
Степень тяжести	Средняя	абс. (%)	42 (82,35)	25 (47,17)	p = 0,001**
	Тяжелая	абс. (%)	9 (17,65)	28 (52,83)	p = 0,001**

Примечания

1 p* – выявление различий по количественным признакам между группами выполнено с использованием критерия Манна – Уитни;

2 p** – выявление различий по качественным признакам между группами выполнено с использованием критерия хи-квадрат.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Клинико-anamнестический анализ

Анамнестический анализ больных новой коронавирусной инфекцией был выполнен методом опроса и изучения первичной медицинской документация. Методом активного опроса, сбора жалоб, данных наследственного анамнеза, длительности заболевания, оценки тяжести симптомов, установления факта приема медикаментозной терапии, наличия сопутствующих заболеваний и использования физикальных методов исследования была произведена оценка клинической картины заболевания у пациентов с SARS-CoV-2.

Также пациентам с новой коронавирусной инфекцией был произведен подсчет индекса массы тела (ИМТ) по формуле: $\text{ИМТ} = \text{масса тела в килограммах} / (\text{рост в метрах})^2$.

2.2.2 Определение уровня катепсина G

Уровень катепсина G в плазме крови устанавливался методом ТИФА. В лунки планшетов (Cloud-Clone corp., Китай) вводилось по 100 мкл разведений стандарта и исследуемого биоматериала. Далее инкубировалось в течение 1 часа при температуре 37°C и из каждой лунки, не промывая, удалялась жидкость. Затем добавляли 100 мкл рабочего раствора реагента детекции А в каждую лунку и инкубировали в течение 1 часа при 37°C. Раствор аспирировали и промывали каждую лунку 350 мкл промывочного раствора с помощью пипетки, многоканальной пипетки, коллекторного дозатора и оставляли на 1~2 минуты. Далее полностью удаляли оставшуюся жидкость из всех лунок, положив планшет на абсорбирующую бумагу и промывали не менее 3 раз. После последнего промывания аспирацией или декантацией удаляли оставшийся промывочный

буфер. Далее в каждую лунку добавили по 100 мкл рабочего раствора детектирующего реагента В, и инкубировали в течение 30 минут при 37°C. Процесс аспирации/промывки повторяли в общей сложности 5 раз, после чего добавляли 90 мкл раствора субстрата в каждую лунку и инкубировали 20 минут при 37°C. Когда цвет жидкости изменялся на синий, добавляли 50 мкл стоп-раствора в каждую лунку, и при смене цвета на жёлтый, перемешивали жидкость, постукивая по краю планшета. Удалялись капли воды и немедленно проводилось измерение. Микропланшет, включенный в этот набор, предварительно покрывали антителом, специфичным к катепсину G. В каждую лунку также добавляли авидин, конъюгированный с пероксидазой хрена, и инкубировали. После добавления раствора субстрата только лунки, содержащие катепсин G, антитело, конъюгированное с биотином, и авидин, конъюгированный с ферментом, изменили цвет. Фермент-субстратную реакцию останавливали добавлением раствора серной кислоты и спектрофотометрически измеряли изменение окраски при $450 \text{ нм} \pm 10 \text{ нм}$. Затем определяли концентрацию катепсина G в образцах путем сравнения оптической плотности образцов со стандартной кривой. Уровни катепсина G выражали в нг/мл.

2.2.3 Определение уровня липополисахарид-связывающего белка

Уровень ЛСБ в сыворотке крови устанавливался методом тИФА. В лунки планшетов (Cloud-Clone corp., Китай) вводилось по 100 мкл разведений стандарта и исследуемого биоматериала. Далее инкубировалось в течение 1 часа при температуре 37°C и из каждой лунки, не промывая, удалялась жидкость. Затем добавляли 100 мкл рабочего раствора реагента детекции А в каждую лунку и инкубировали в течение 1 часа при 37°C. Раствор аспирировали и промывали каждую лунку 350 мкл промывочного раствора с помощью пипетки, многоканальной пипетки, коллекторного дозатора и оставляли на 1~2 минуты. Далее полностью удаляли оставшуюся жидкость из всех лунок, положив планшет

на абсорбирующую бумагу и промывали не менее 3 раз. После последнего промывания аспирацией или декантацией удаляли оставшийся промывочный буфер. Далее в каждую лунку добавили по 100 мкл рабочего раствора детектирующего реагента В, и инкубировали в течение 30 минут при 37°C. Процесс аспирации/промывки повторяли в общей сложности 5 раз, после чего добавляли 90 мкл раствора субстрата в каждую лунку и инкубировали 20 минут при 37°C. Когда цвет жидкости изменялся на синий, добавляли 50 мкл стоп-раствора в каждую лунку, и при смене цвета на жёлтый, перемешивали жидкость, постукивая по краю планшета. Удалялись капли воды и немедленно проводилось измерение. Микропланшет, включенный в этот набор, предварительно покрывали антителом, специфичным к ЛСБ. В каждую лунку также добавляли авидин, конъюгированный с пероксидазой хрена, и инкубировали. После добавления раствора субстрата только лунки, содержащие ЛСБ, антитело, конъюгированное с биотином, и авидин, конъюгированный с ферментом, изменили цвет. Фермент-субстратную реакцию останавливали добавлением раствора серной кислоты и спектрофотометрически измеряли изменение окраски при $450 \text{ нм} \pm 10 \text{ нм}$. Затем определяли концентрацию ЛСБ в образцах путем сравнения оптической плотности образцов со стандартной кривой. Уровень ЛСБ выразили в мкг/мл.

2.2.4 Определение уровня пресепсина

Уровень пресепсина в сыворотке крови устанавливался методом ТИФА. В лунки планшетов (Cloud-Clone corp., Китай) вводилось по 100 мкл разведений стандарта и исследуемого биоматериала. Далее инкубировалось в течение 1 часа при температуре 37°C и из каждой лунки, не промывая, удалялась жидкость. Затем добавляли 100 мкл рабочего раствора реагента детекции А в каждую лунку и инкубировали в течение 1 часа при 37°C. Раствор аспирировали и промывали каждую лунку 350 мкл промывочного раствора с помощью пипетки, многоканальной пипетки, коллекторного дозатора и оставляли на 1~2 минуты.

Далее полностью удаляли оставшуюся жидкость из всех лунок, положив планшет на абсорбирующую бумагу и промывали не менее 3 раз. После последнего промывания аспирацией или декантацией удаляли оставшийся промывочный буфер. Далее в каждую лунку добавили по 100 мкл рабочего раствора детектирующего реагента В, и инкубировали в течение 30 минут при 37°C. Процесс аспирации/промывки повторяли в общей сложности 5 раз, после чего добавляли 90 мкл раствора субстрата в каждую лунку и инкубировали 20 минут при 37°C. Когда цвет жидкости изменялся на синий, добавляли 50 мкл стоп-раствора в каждую лунку, и при смене цвета на жёлтый, перемешивали жидкость, постукивая по краю планшета. Удалялись капли воды и немедленно проводилось измерение. Микропланшет, включенный в этот набор, предварительно покрывали антителом, специфичным к пресепсину. В каждую лунку также добавляли авидин, конъюгированный с пероксидазой хрена, и инкубировали. После добавления раствора субстрата только лунки, содержащие пресепсин, антитело, конъюгированное с биотином, и авидин, конъюгированный с ферментом, изменили цвет. Фермент-субстратную реакцию останавливали добавлением раствора серной кислоты и спектрофотометрически измеряли изменение окраски при $450 \text{ нм} \pm 10 \text{ нм}$. Затем определяли концентрацию пресепсина в образцах путем сравнения оптической плотности образцов со стандартной кривой. Уровень пресепсина выразили в пг/мл.

2.2.5 Определение уровня ферритина

Уровень ферритина в плазме периферической крови был определен методом ИФА. Раствор ферритин-специфичной очищенной фракции иммуноглобулинов G в фосфатном буфере вносили в подготовленные лунки планшетов (Corning, Польша). Далее при комнатной температуре полученный раствор инкубировали и, через 12 часов после нанесения иммуносорбента для удаления несвязавшихся антител лунки промывались фосфатным буфером. После разведенную плазму

крови, биотинилированные антитела к ферритину и конъюгат стрептавидин-пероксидазы вносили в лунки. Далее раствор инкубировали в течение 30 минут, затем промывали фосфатным буфером. Пероксидазная активность была выявлена путем добавления субстратно-буферной смеси и инкубирования в течение 15 минут. Реакция останавливалась серной кислотой. Иммуноферментный анализатор Stat Fax 2100 (длина волны 492 нм) был использован для определения оптической плотности полученного продукта реакции. Затем путем построения калибровочной кривой с использованием коммерческого стандарта ферритина человека (Cormay, Польша) определялся количественный уровень ферритина. Уровень ферритина выражали в мкг/л.

2.2.6 Определение уровня С-реактивного белка

Уровень СРБ в плазме периферической крови был определен методом ИФА. Раствор СРБ-специфичной очищенной фракции иммуноглобулинов G в фосфатном буфере вносили в подготовленные лунки планшетов (Cormay, Польша). Далее при комнатной температуре полученный раствор инкубировали и, через 12 часов после нанесения иммуносорбента для удаления несвязавшихся антител лунки промывались фосфатным буфером. После разведенную плазму крови, биотинилированные антитела к СРБ и конъюгат стрептавидин-пероксидазы вносили в лунки. Далее раствор инкубировали в течение 30 минут, затем промывали фосфатным буфером. Пероксидазная активность была выявлена путем добавления субстратно-буферной смеси и инкубирования в течение 15 минут. Реакция останавливалась серной кислотой. Иммуноферментный анализатор Stat Fax 2100 (длина волны 492 нм) был использован для определения оптической плотности полученного продукта реакции. Затем путем построения калибровочной кривой с использованием коммерческого стандарта СРБ человека (Cormay, Польша) определялся количественный уровень СРБ. Уровень СРБ выражали в мг/л.

2.2.7 Определение уровня экспрессии Toll-like рецепторов 4 типа на моноцитах и гранулоцитах периферической крови

Для определения уровня экспрессии Toll-like рецепторов 4 типа на моноцитах и гранулоцитах использовался показатель средней интенсивности флуоресценции (MFI, mean fluorescence intensity). Для поставленной задачи применялся метод лазерной проточной цитометрии с использованием набора моноклональных антител BD Pharmingen™ PE Mouse Anti-Human TLR4 (CD284), конъюгированных с фикоэритрином (BD Bioscience Inc., США). Для выделения лейкоцитов из полученных образцов периферической крови производилось лизирующим раствором эритроцитов. В стабилизированную цельную периферическую кровь вводили лизирующий раствор FACSLyse (BD Bioscience Inc., США). Затем полученный раствор инкубировали при температуре 16–20°C в течение 15 минут, после чего раствор подвергался центрифугированию. Далее выделенные лейкоциты промывали фосфатным буфером FACS CellFix (BD Bioscience Inc., США) и ресуспендировали. Для определения фенотипа лейкоцитов периферической крови использовались растворы моноклональных антител CD14 - FITC, CD45 - APC, CD3 - AF700, CD16 - PerCP. Согласно рекомендациям производителя, 50 мкл полученной лейкоцитарной массы и 10 мкл моноклональных антител вносили в пластиковые пробирки, затем при температуре 18–24 °C инкубировали в течение 30 мин в защищенном от света месте, и промывали фосфатным буфером. Для выполнения анализа использовали проточный цитометр BD FACSCanto II. Для накопления и обработки данных результатов анализа использовалось программное обеспечение BD FACSDiva v6.0. Для каждого образца крови регистрировалось 30 тысяч клеток.

Уровень экспрессии TLR-4 на моно- и полинуклеарах периферической крови выразили в MFI.

2.2.8 Статистическая обработка полученных результатов

Статистический анализ полученных в ходе исследования данных был произведен с использованием лицензионного статистического программного обеспечения «Statistica 12» (StatSoft Inc., USA). Для проверки всех изучаемых показателей на нормальность был использован W-критерий Шапиро – Уилка. При значении W-критерия $p \geq 0,1$ распределение считали нормальным, при показателе данного критерия $p < 0,1$, распределение принимали за ненормальное.

Для представления количественных показателей использовали медиану (Me [Q₁; Q₃]), где Q₁ – 25 перцентиль, Q₃ – 75 перцентиль.

Для сравнения несвязанных выборок применялся U-критерий Манна – Уитни. Показатели. При показателе U-критерия $p \leq 0,05$ различие считалось статистически значимыми. Для стандартизации представления полученного статистического материала оценку достоверности по U-критерию проводили по модульному значению уровней оценки достоверности – 95%, 99%, 99,9% ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$, соответственно). При сравнении частот качественных параметров использовался критерий хи-квадрат с поправкой Йетса. При сравнении очень малых выборок применялся двусторонний точный критерий Фишера.

Непараметрический коэффициент корреляции Спирмена (r) использовался при проведении корреляционного анализа. Интерпретация силы коэффициента корреляции производилась следующим образом: $\pm 0,01$ – $\pm 0,29$ – слабая, $\pm 0,3$ – $\pm 0,69$ – умеренная, $\pm 0,7$ – $\pm 1,0$ – сильная [1, 4, 9].

ГЛАВА 3

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С SARS-COV-2-ПОРАЖЕНИЕМ ЛЁГКИХ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

3.1 Клиническая характеристика обследованных больных

Структура клинических проявлений в исследуемых группах представлена в таблице 3.1. В 1 группе у 58 (96,7%) исследуемых наблюдалась лихорадка, 59 (98,3%) пациентов предъявляли жалобы на одышку, 58 (96,7%) на сухой кашель, 8 пациентов (13,33%) отметили изменения стула, головная боль беспокоила 12 (20%) пациентов. В группе с тяжелым течением 35 (100%) пациентов жаловались на выраженную одышку, лихорадку - 32 (91,4%), на сухой кашель – 24 (68,6 %), на боли в мышцах – 9 (25,7%), головная боль отмечалась у 7 (20%) пациентов, симптомы со стороны органов ЖКТ – у 5 (14,28%) пациентов. В 3 группе с летальным исходом одышка наблюдалась у 26 (100%) пациентов, лихорадка – у 23 (88,5%), сухой кашель – у 17 (65,4%), миалгии – у 4 (15,4 %), нарушение стула – у 4 (15,38%) и головная боль – у 6 (23%) исследуемых пациентов. Степень выраженности сухого кашля ассоциировалась со степенью тяжести заболевания ($p_{1-2}<0,001$; $p_{1-3}<0,001$), боли в мышцах наблюдались в основном в группах с тяжелым течением и летальным исходом ($p_{1-2}<0,001$; $p_{1-3}<0,001$). У пациентов 1, 2 и 3 групп не было найдено достоверных различий в частоте встречаемости одышки, лихорадки и головной боли ($p>0,05$).

В 1 группе наиболее часто встречающейся сопутствующей патологией была артериальная гипертензия (АГ) (7; 12%) и её сочетание с ишемической болезнью сердца (ИБС) (6; 10%). Во 2 группе – АГ + ИБС (8; 14%), в 3 группе, исследуемых – АГ + ИБС (7; 27%) и сочетание АГ, ИБС и сахарного диабета 2- го типа (СД2) (5; 19%). При этом во 2-й и 3-й группах достоверно было больше пациентов с сочетанной патологией ($p<0,05$) (Таблица 3.2).

Таблица 3.1 – Структура клинических проявлений в исследуемых группах

Регистрируемая симптоматика	1 группа (n=60)	2 группа (n=35)	3 группа (n=26)	Значимость различий
	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)	
	1	2	3	
Лихорадка	58 (96,66)	32 (91,42)	23 (88,46)	$p_{1-2}=0,271$ $p_{1-3}=0,136$ $p_{2-3}=0,701$
Одышка	59 (98,33)	35 (100,0)	26 (100,0)	$p_{1-2}=0,443$ $p_{1-3}=0,508$ $p_{2-3}=1,000$
Сухой кашель	58 (96,66)	24 (68,57)	17 (65,38)	$p_{1-2}<0,001$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}=0,794$
Симптомы со стороны ЖКТ	8 (13,33)	5 (14,28)	4 (15,38)	$p_{1-2}=0,897$ $p_{1-3}=0,801$ $p_{2-3}=0,905$
Миалгии	2 (3,33)	9 (25,7)	4 (15,38)	$p_{1-2}=0,002$ $p_{1-3}=0,044$ $p_{2-3}=0,330$
Головная боль	12 (20)	7 (20)	6 (23,07)	$p_{1-2}=0,330$ $p_{1-3}=0,748$ $p_{2-3}=0,772$

Примечание - p - значимость различий между группами проводили с использованием критерия хи-квадрат.

Таблица 3.2 – Структура сопутствующих заболеваний в исследуемых группах

Регистрируемая патология	1 группа (n=60)	2 группа (n=35)	3 группа (n=26)	Значимость различий
	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)	
	1	2	3	
ИБС	0 (0)	3 (8,57)	0 (0)	p1-2=0,022 p2-3=0,126
АГ	7 (11,67)	2 (5,71)	0 (0)	p1-2=0,138 p1-3=0,067 p2-3=0,284
СД2	3 (5)	3 (8,57)	0 (0)	p1-2=0,496 p1-3=0,245 p2-3=0,121
ИБС + АГ	6 (10)	8 (22,86)	7 (26,92)	p1-2=0,082 p1-3=0,047 p2-3=0,727
АГ + СД2	4 (6,67)	0 (0)	2 (7,69)	p1-2=0,195 p1-3=0,882 p2-3=0,096
ИБС + СД2	0 (0)	3 (8,57)	2 (7,69)	p1-2=0,064 p1-3=0,022 p2-3=0,904
ИБС + АГ + СД2	3 (5)	3 (8,57)	5 (19,23)	p1-2=0,499 p1-3=0,034 p2-3=0,112
Отсутствие сопутствующей патологии	37 (61,67)	13 (37,14)	10 (38,46)	p1-2=0,028 p1-3=0,041 p2-3=0,949

Примечание - p - значимость различий между группами рассчитана с использованием критерия хи-квадрат.

3.2 Оценка фармакологического вмешательства на амбулаторном и стационарном этапе лечения

Анализ терапии, проводимой на амбулаторном этапе лечения у пациентов с SARS-CoV-2 различной степени тяжести, представлен в таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Терапия на амбулаторном этапе

Группа препаратов	1 группа n=60	2 группа n=35	3 группа n=26	Значимость различий
	абс.(%)	абс.(%)	абс.(%)	
	1	2	3	
ГКС	3 (5)	0 (0)	0 (0)	p1-2=0,178 - p2-3=0,245
АБ	12 (20)	3 (8,57)	0 (0)	p1-2=0,144 p2-3=0,126 p1-3=0,012
ГКС+АБ	7 (11,67)	0 (0)	0 (0)	p1-2=0,031 - p1-3=0,060
ГКС+АК	2 (3,33)	3 (8,57)	2 (7,69)	p1-2=0,272 p2-3=0,966 p1-3=0,371
АБ+АК	2 (3,33)	4 (11,43)	0 (0)	p1-2=0,048 p2-3=0,074 p1-3=0,340
ГКС+АБ+АК	13 (21,67)	20 (57,14)	14 (53,85)	p1-2<0,001 p2-3=0,724 p1-3=0,003
Без терапии	21 (35)	5 (14,29)	10 (38,46)	p1-2=0,028 p2-3=0,033 p1-3=0,751

Примечание - p - значимость различий между группами проводили с использованием критерия хи-квадрат.

Как следует из данных таблицы 3.3, в 1-й группе по сравнению со 2-й и 3-й гораздо чаще использовались антибактериальные препараты в качестве монотерапии, а также в комбинации с препаратами глюкокортикоидов. Комбинация антибактериальных препаратов, ГКС и антикоагулянтных препаратов чаще применялась у пациентов 3-й группы. Наибольшее количество пациентов, не получавших медикаментозную терапию на амбулаторном этапе зарегистрировано в 1-й группе исследуемых.

Анализ терапии, проводимой на стационарном этапе лечения у больных SARS-CoV-2-поражением лёгких различной степени тяжести, представлен в таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Терапия на стационарном этапе

Группа препаратов	1 группа n=60	2 группа n=35	3 группа n=26	Значимость различий
	абс.(%)	абс.(%)	абс.(%)	
	1	2	3	
ФВП+АБ+АК +ГКС+анти-ИЛ6	11 (18)	14 (20)	19 (70)	$p_{1-2}=0,015$ $p_{2-3}=0,011$ $p_{1-3}<0,001$
ФВП+АБ+АК +ГКС+JAK	6 (10)	5 (14)	1 (4)	$p_{1-2}=0,528$ $p_{2-3}=0,173$ $p_{1-3}=0,330$
ФВП+АК +ГКС+анти-ИЛ6	2 (3)	0 (0)	0 (0)	-
ФВП+АБ +АК+ГКС	11 (18)	6 (17)	6 (22)	$p_{1-2}=0,882$ $p_{2-3}=0,567$ $p_{1-3}=0,663$
ФВП+АК+ГКС + JAK	1 (2)	0 (0)	0 (0)	- - -

Продолжение таблицы 3.4

Группа препаратов	1	2	3	Значимость различий
ФВП+ГКС+АК	9 (15)	3 (9)	1 (4)	$p_{1-2}=0,366$ $p_{2-3}=0,468$ $p_{1-3}=0,131$
АБ+АК+ГКС +анти-ИЛ6	3 (5)	7 (20)	0 (0)	$p_{1-2}=0,022$ $p_{2-3}=0,016$ $p_{1-3}=0,241$
АБ+АК+ГКС	7 (12)	0 (0)	0 (0)	$p_{1-2}=0,034$ - $p_{1-3}=0,036$
АК+ГКС +анти- ИЛ6	3 (5)	0 (0)	0 (0)	$p_{1-2}=0,173$ - $p_{1-3}=0,178$
АК+ГКС	7 (12)	0 (0)	0 (0)	$p_{1-2}=0,034$ - $p_{1-3}=0,036$

Примечание р - значимость различий между группами проводили с использованием критерия хи-квадрат;

Из данных, представленных в таблице 3.4 следует, что комбинированную терапию ФВП+АБ+АК+ГКС+анти-ИЛ6 чаще получали пациенты 3-й группы. Комбинация АБ+АК+ГКС+анти-ИЛ6 в большей степени использовалась у пациентов с тяжелым течением и благоприятным исходом.

3.3 Лабораторная и инструментальная характеристика больных SARS-CoV-2 различной степени тяжести

Результаты лабораторных и инструментальных исследований больных SARS-CoV-2-поражением лёгких различной степени тяжести отображены в таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Лабораторных и инструментальных исследований больных SARS-CoV-2-поражением лёгких различной степени тяжести

Признаки	1 группа (n = 60)	2 группа (n = 35)	3 группа (n = 26)	Значимость различий
	1	2	3	
Прокальцитонин, нг/мл	0,04 [0,02;0,1]	0,16 [0,06;0,67]	0,49 [0,08;0,90]	p1-2 < 0,001 p1-3 < 0,001
Д-димер, нг/мл	578,50 [334,0;1204,0]	2360,00 [1226,0;3970,0]	810,00 [572,0;2300,0]	p1-2 < 0,001 p2-3 < 0,002
СОЭ, мм/час	28,5 [21,0;40,0]	30,0 [27,0;47,0]	28,5 [22,0;47,0]	-
Общий белок, г/л	66,0 [62,0;71,0]	58,0 [58,0;59,0]	58,0 [52,0;67,3]	p1-2 < 0,001 p1-3 < 0,001
Альбумин, г/л	45,0 [44,0;47,0]	37,0 [36,0;38,0]	39,60 [38,0;42,70]	p1-2 < 0,001 p1-3 < 0,001 p2-3 < 0,006
Поражение лёгких по данным КТ, %	30,0 [20,0;50,0]	70,0 [50,0; 75,0]	70,0 [40,0; 80,0]	p1-2 < 0,001 p1-3 < 0,001
Фибриноген, г/л	4,75 [3,91;5,7]	3,90 [2,60;5,70]	3,02 [2,90;5,3]	p1-2 < 0,008 p1-3 < 0,05 p2-3 < 0,05
АЧТВ, сек	23,5 [20,35;28,5]	27,0 [23,4;34,6]	38,15 [26,6;52,5]	p1-2 < 0,012 p1-3 < 0,001 p2-3 < 0,001
Протромбиновое время, сек	11,30 [10,2;14,25]	14,20 [11,5;15,6]	15,7 [12,8;17,7]	p1-2 < 0,012 p1-3 < 0,001 p2-3 < 0,001
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	211,00 [178,00;288,00]	192,00 [169,00;230,00]	201,0 [184,00;247,00]	-
Показатели лейкоцитарной формулы				
Признаки	1 группа (n = 60)	2 группа (n = 35)	3 группа (n = 26)	Значимость различий
	1	2	3	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	5,85 [4,3;8,5]	9,3 [5,6;10,6]	10,60 [6,8;14,7]	p1-2 < 0,01 p1-3 < 0,001

Продолжение таблицы 3.5

Признаки	1	2	3	Значимость различий
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	1,14 [0,74;1,55]	0,78 [0,39;0,95]	0,54 [0,31;0,88]	p1-2 < 0,001 p1-3 < 0,001
Лимфоциты, %	18,00 [10,0;28,5]	9,00 [4,0;10,0]	6,5 [3,0;10,0]	p1-2 < 0,001 p1-3 < 0,001
Сегментоядерные нейтрофилы, $10^9/\text{л}$	3,83 [2,42;6,28]	6,88 [2,74;8,97]	8,16 [4,15;12,49]	p1-2 < 0,002 p1-3 < 0,001
Сегментоядерные нейтрофилы, %	64,0 [55,0;74,0]	76,0 [66,0;83,0]	77,0 [66,0;88,0]	p1-2 < 0,001 p1-3 < 0,01
Палочкоядерные нейтрофилы, $10^9/\text{л}$	0,41 [0,21;0,828]	0,848 [0,34;1,62]	0,93 [0,77;1,21]	p1-2 < 0,006 p1-3 < 0,001
Палочкоядерные нейтрофилы, %	6,50 [4,00;13,00]	8,00 [5,00;11,00]	10,00 [5,00;19,00]	-
Моноциты, $10^9/\text{л}$	0,34 [0,24;0,68]	0,47 [0,15;0,74]	0,34 [0,20;0,63]	-
Моноциты, %	6,00 [4,0;8,0]	4,00 [2,00;11,00]	3,50 [2,00;6,00]	p1-2 < 0,04 p1-3 < 0,002
НЛК	4,41 [2,14;8,05]	9,33 [7,72;23,50]	14,02 [8,40;31,30]	p1-2 < 0,001 p1-3 < 0,001
ИСЛМ	3,00 [1,73;5,16]	1,71 [1,28;2,75]	2,00 [1,00;2,667]	p1-2 < 0,014 p1-3 < 0,001
ИСНМ	10,56 [7,12;16,87]	17,28 [7,43;38,86]	21,08 [10,73;44,50]	p1-2 < 0,001 p1-3 < 0,001
ЛИИ Рейса	3,42 [1,66;4,55]	5,66 [3,95;15,66]	8,09 [5,25;15,66]	p1-2 < 0,001 p1-3 < 0,001

Примечание - р* – различия между подгруппами по количественным признакам выявлены с использованием критерия Манна – Уитни.

По результатам обследования в день поступления в инфекционное отделение был выявлен более высокий уровень маркеров провоспалительного ответа у пациентов 2 и 3 групп. Так показатель СРБ был выше в группах с тяжелым течением и летальным исходом ($p_{1-2} < 0,03$; $p_{1-3} < 0,05$), уровень ферритина был значительно повышен в группе с летальным исходом, по сравнению с 1-й и 2-й группами ($p_{1-3} < 0,01$; $p_{2-3} < 0,04$). Показатель прокальцитонина был достоверно выше в группах с тяжелым течением и

летальным исходом ($p_{1-2} < 0,001$; $p_{1-3} < 0,001$). Показатели общего белка и альбумина были выше у группы среднетяжелых пациентов ($p_{1-2} < 0,001$; $p_{1-3} < 0,001$).

Уровень Д-димера был выше в группе с тяжелым течением ($p_{1-2} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,002$), показатели в 1 и 3 группах значительно не отличались. Значения протромбинового времени и АЧТВ были выше в группах 2 и 3 ($p_{1-2} < 0,012$; $p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,001$). Содержание фибриногена было значительно ниже во 2 и 3 группах ($p_{1-2} < 0,008$; $p_{1-3} < 0,05$).

Исследование общего анализа крови показало значительное повышение количества лейкоцитов за счёт сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов в группах с тяжелым течением, а также в группе с летальным исходом ($p_{1-2} < 0,01$; $p_{1-3} < 0,001$). Уровень лимфоцитов был ниже во 2 и 3 группах ($p_{1-2} < 0,001$; $p_{1-3} < 0,001$). Показатели лейкоцитарных индексов (НЛК, ИСЛМ, ИСНМ, ЛИИ Рейса) значительно отличались в 1 и 2, а также 1 и 3 группах, достоверных различий между 2 и 3 группами выявлено не было ($p_{1-2} < 0,001$; $p_{1-3} < 0,001$). Количество тромбоцитов было примерно одинаковым во всех исследуемых группах.

По данным КТ, в группах с тяжелым течением и летальным исходом процент поражения лёгочной ткани был значительно выше ($p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$).

3.4 Взаимосвязь между изучаемыми клиническими и лабораторными параметрами у пациентов с SARS-CoV-2 различной степени тяжести

Для уточнения возможных взаимосвязей нами был проведен корреляционный анализ между отдельными клиническими и лабораторно-инструментальными показателями у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких (Таблица 3.6).

Зарегистрирована умеренная прямая корреляционная связь между уровнем СРБ и прокальцитонина во всех клинических группах пациентов с новой

коронавирусной инфекцией, поступающих на госпитальный этап лечения (1-я группа – $r=0,461$, 2-я группа – $r=0,539$, 3-я группа – $r=0,411$, $p<0,01$).

Таблица 3.6 – Корреляционные взаимосвязи между изучаемыми клиническими и лабораторными параметрами

		1 группа (n=60)	
Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
Степень поражения (КТ)	ИМТ	0,312	$p<0,01$
Степень поражения (КТ)	СРБ	0,266	$p<0,01$
Температура тела в день поступления	Абсолютное количество палочкоядерных нейтрофильных гранулоцитов	0,274	$p<0,01$
Фибриноген	СРБ	0,498	$p<0,01$
Прокальцитонин	СРБ	0,461	$p<0,01$
СОЭ	СРБ	0,418	$p<0,01$
Альбумин	СРБ	-0,319	$p<0,01$
СРБ	Абсолютное количество палочкоядерных нейтрофильных гранулоцитов	0,437	$p<0,01$
СРБ	Абсолютное количество нейтрофильных гранулоцитов	0,295	$p<0,01$
Степень поражения (КТ)	Фибриноген	0,407	$p<0,01$
Степень поражения (КТ)	Прокальцитонин	0,283	$p<0,01$

Продолжение таблицы 3.6

Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
Степень поражения (КТ)	СОЭ	0,275	p<0,01
Степень поражения (КТ)	Общий белок	0,288	p<0,01
Степень поражения (КТ)	Альбумин	0,278	p<0,01
Ферритин	Фибриноген	0,293	p<0,01
Ферритин	Абсолютное количество палочкоядерных нейтрофильных гранулоцитов	0,317	p<0,01
Прокальцитонин	СОЭ	0,316	p<0,01
2 группа (n=35)			
Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
Степень поражения (КТ)	ИМТ	0,246	p<0,01
Степень поражения (КТ)	СРБ	0,113	p<0,01
Степень поражения (КТ)	Д-димер	0,410	p<0,01
Степень поражения (КТ)	Тромбоциты	0,363	p<0,01
Степень поражения (КТ)	Общий белок	-0,506	p<0,01
СРБ	Прокальцитонин	0,539	p<0,01

Продолжение таблицы 3.6

Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
СРБ	Альбумин	-0,350	p<0,01
Фибриноген	ИМТ	0,484	p<0,01
Фибриноген	Прокальцитонин	-0,384	p<0,01
Фибриноген	Д-димер	-0,414	p<0,01
Фибриноген	Лейкоциты	0,431	p<0,01
Фибриноген	Абсолютное количество палочкоядерных нейтрофильных гранулоцитов	0,676	p<0,01
Фибриноген	Абсолютное количество нейтрофильных гранулоцитов	0,349	p<0,01
Фибриноген	Абсолютное количество лимфоцитов	-0,635	p<0,01
Фибриноген	Абсолютное количество моноцитов	-0,515	p<0,01
3 группа (n=26)			
Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
ИМТ	СРБ	0,447	p<0,01
ИМТ	СОЭ	0,538	p<0,01
ИМТ	Общий белок	-0,514	p<0,01

Продолжение таблицы 3.6

Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
ИМТ	Абсолютное количество палочкоядерных нейтрофильных гранулоцитов	0,508	p<0,01
Температура тела в день поступления	Абсолютное количество палочкоядерных нейтрофильных гранулоцитов	0,560	p<0,01
Температура тела в день поступления	Абсолютное количество лимфоцитов	0,472	p<0,01
СРБ	Общий белок	-0,459	p<0,01
СРБ	Альбумин	-0,649	p<0,01
СРБ	Абсолютное количество нейтрофильных гранулоцитов	0,494	p<0,01
СРБ	Прокальцитонин	0,411	p<0,01
Фибриноген	Ферритин	0,818	p<0,01
Фибриноген	Д-димер	0,487	p<0,01
Фибриноген	СОЭ	0,497	p<0,01
Фибриноген	Абсолютное количество нейтрофильных гранулоцитов	0,520	p<0,01
Ферритин	Д-димер	0,681	p<0,01
Ферритин	СОЭ	0,547	p<0,01
Прокальцитонин	Лейкоциты	0,645	p<0,01
Прокальцитонин	Альбумин	-0,547	p<0,01
Прокальцитонин	Абсолютное количество нейтрофильных гранулоцитов	0,674	p<0,01
Прокальцитонин	Абсолютное количество лимфоцитов	-0,576	p<0,01
Д-димер	СОЭ	0,443	p<0,01
Д-димер	Тромбоциты	0,536	p<0,01

Нами установлена сильная прямая корреляционная связь между показателями фибриногена и ферритина ($r=0,818$, $p<0,01$) и умеренная прямая корреляционная связь между показателями фибриногена и СОЭ ($r=0,497$, $p<0,01$) в группе пациентов с летальным исходом, что может свидетельствовать о взаимосвязи системного воспаления и нарушениях в системе гемостаза.

Как видно из данных, представленных в таблице 3.6, зарегистрирована умеренная прямая корреляционная связь между уровнем фибриногена и абсолютного количества нейтрофильных гранулоцитов в группах тяжёлых пациентов и пациентов с летальным исходом. Выявленные закономерности указывают на существующую связь между нарушениями в системе гемостаза и нейтрофильным компонентом локального воспаления.

Таким образом, клинико-лабораторными особенностями у больных SARS-CoV-2 с тяжелым течением и летальным исходом является более частое наличие миалгии, в сравнении с больными среднетяжелой формой заболевания. Сочетанная патология, а именно комбинация ИБС+АГ+СД2 значительно чаще встречалась у пациентов с тяжелым течением и летальным исходом. Более 25 % пациентов в каждой клинической группе на догоспитальном этапе лечения получали антибактериальную терапию в качестве монотерапии или в комбинации. На госпитальном этапе лечения комбинированную терапию ФВП+АБ+АК+ГКС+анти-ИЛ6 чаще получали пациенты 3-й группы. Комбинация АБ+АК+ГКС+анти-ИЛ6 в большей степени использовалась у пациентов с тяжелым течением и благоприятным исходом. В 1 группе исследуемых, по сравнению со 2-й и 3-й группами чаще применялась комбинация АБ+АК+ГКС, также, как и АК+ГКС.

Исследование общего анализа крови показало значительное повышение количества лейкоцитов за счёт сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов в группах с тяжелым течением, а также в группе с летальным исходом. Также в данных группах была более выражено снижение абсолютного количества лимфоцитов периферической крови, в сравнении с больными среднетяжелой формой заболевания. Наиболее значимым показателем, с точки зрения

определения дальнейшего прогноза пациентов, явился уровень ферритина плазмы крови. Он был значительно выше в группе с летальным исходом по сравнению с 1 и 2 группами, что безусловно является индикатором острого воспаления и возможного нарушения функции печени.

Установлена сильная прямая корреляционная связь между показателями фибриногена и ферритина ($r=0,818$, $p<0,01$) и умеренная прямая корреляционная связь между показателями фибриногена и СОЭ ($r=0,497$, $p<0,01$) в группе пациентов с летальным исходом, что свидетельствует о взаимосвязи системного воспаления и нарушениях в системе гемостаза при поступлении больных в инфекционный стационар.

ГЛАВА 4

УРОВЕНЬ КАТЕПСИНА G У ПАЦИЕНТОВ С SARS-COV-2 РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

4.1 Уровень катепсина G у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких

По данным литературы, в иммунном ответе организма на инфекцию SARS-CoV-2 одну из важнейших ролей играют нейтрофильные гранулоциты и клетки макрофагально-моноцитарного ряда [235]. Гиперактивация клеток иммунной системы и секреция данными клетками целого ряда протеаз приводит впоследствии к усиленной деструкции альвеолоцитов I типа и избыточной экспрессии провоспалительных цитокинов [202]. В связи с этим, большой интерес представляет анализ секретируемых иммунными клетками биологически активных веществ, способных как подавлять иммунный ответ, так и приводить к запуску провоспалительного иммунного каскада, называемого «цитокиновым штормом».

Гиперактивация клеток моноцитарно-макрофагального ряда и гранулоцитов отражается на состоянии протеолитических систем, а в частности уровне катепсина G, а также показателях маркеров системного воспаления, таких как СРБ и ферритин.

На данный момент в литературе нет данных о исследованиях концентрации уровня катепсина G в плазме крови у пациентов с новой коронавирусной инфекцией.

Результаты изучения уровня катепсина G и показателей системного воспаления у пациентов острым SARS-CoV-2-поражением лёгких различной степени тяжести представлены в таблице 4.1.

Как видно из данных, представленных в таблице 4.1, во всех клинических группах больных новой коронавирусной инфекцией, поступающих на стационарный этап лечения, выявлено достоверное повышение всех изучаемых параметров, что отражает состояние протеолитических систем и системного

воспаления у пациентов с вирусным SARS-CoV-2-поражением лёгких. Наивысшие показатели уровня катепсина G зафиксированы в 3-й группе.

Таблица 4.1 – Уровни катепсина G и маркеров системного воспаления у больных SARS-CoV-2-поражением лёгких различной степени тяжести

Показатель	1 группа (n=60)	2 группа (n=35)	3 группа (n=26)	Контрольная группа (n=20)	Значимость различий
	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	
	1	2	3	4	
CatG, нг/мл	0,880 [0,776; 0,976]	0,985 [0,880; 1,064]	1,190 [0,902; 1,238]	0,475 [0,287; 0,540]	p ₁₋₂ <0,001 p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001 p ₁₋₄ <0,001 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,001
СРБ, мг/л	38,0 [18,35; 57,85]	56,3 [34,9; 117,0]	45,25 [27,9; 80,0]	0,5 [0,3; 0,9]	p ₁₋₂ <0,001 p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001 p ₁₋₄ <0,001 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,001
Ферритин, мкг/л	223,0 [138,0; 386,0]	241,0 [112,0; 564,0]	493,0 [236,0; 797,0]	164,0 [111,0; 218,0]	p ₁₋₂ =0,115 p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001 p ₁₋₄ <0,001 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,001

Примечание - достоверность различий между группами рассчитана с помощью U-критерия Манна-Уитни.

4.2 Взаимосвязь между уровнем катепсина G и другими исследуемыми показателями

Для уточнения возможных взаимосвязей нами был проведен корреляционный анализ между уровнями катепсина G и другими изучаемыми

клиническими и лабораторными параметрами (Таблица 4.2).

Таблица 4.2 – Корреляционные взаимосвязи между катепсином G и другими изучаемыми клиническими и лабораторными параметрами

1 группа (n=60)			
Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
CatG	ИМТ	0,299	p<0,01
2 группа (n=35)			
Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
CatG	ЛСБ	0,655	p<0,01
CatG	Д-димер	0,387	p<0,01
CatG	Ферритин	0,427	p<0,01
CatG	Абсолютное количество нейтрофильных гранулоцитов	0,439	p<0,01
3 группа (n=26)			
Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
CatG	Ферритин	0,208	p<0,01

Продолжение таблицы 4.2

Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
CatG	Абсолютное количество нейтрофильных гранулоцитов	0,637	p<0,01
CatG	Прокальцитонин	0,596	p<0,01
CatG	Абсолютное количество лимфоцитов	-0,746	p<0,01

При проведении корреляционного анализа установлено наличие прямой корреляционной связи между концентрациями CatG и показателем нейтрофилов периферической крови ($r=0,399$, $p<0,05$) с сохранением данной закономерности во 2 ($r=0,439$, $p<0,05$) и 3 группах ($r=0,637$, $p<0,05$). В 3 клинической группе обнаружена отрицательная корреляционная связь между концентрациями CatG и показателем лимфоцитов периферической крови ($r=-0,746$, $p<0,05$).

Таким образом, во всех клинических группах больных новой коронавирусной инфекцией, поступающих на стационарный этап лечения, выявлено достоверное повышение концентрации катепсина G в плазме периферической крови, по сравнению с группой контроля ($p<0,001$). Наивысшие показатели катепсина G зафиксированы в 3-й группе, у пациентов с летальным исходом.

При проведении корреляционного анализа установлено наличие прямой корреляционной связи между концентрациями CatG и показателем нейтрофилов периферической крови ($r=0,399$, $p<0,05$) с сохранением данной закономерности во 2-й ($r=0,439$, $p<0,05$) и 3-й группах ($r=0,637$, $p<0,05$). В группе пациентов с летальным исходом была обнаружена отрицательная корреляционная связь между концентрациями CatG и показателем лимфоцитов периферической крови ($r=-0,746$, $p<0,05$).

ГЛАВА 5

ГУМОРАЛЬНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ЗВЕНЬЯ ЛИПОПОЛИСАХАРИД-СВЯЗЫВАЮЩИХ СИСТЕМ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ SARS-COV-2-ПОРАЖЕНИЕМ ЛЁГКИХ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

5.1 Системные гуморальные звенья липополисахарид-связывающих систем и маркеры системного воспаления у больных SARS-CoV-2

Данные изучения содержания липополисахарид-связывающего белка, пресепсина и маркеров системного воспаления представлены в Таблице 5.1.

Таблица 5.1 – Уровни липополисахарид-связывающего белка, пресепсина и показателей системного воспаления у пациентов острым SARS-CoV-2-поражением лёгких различной степени тяжести

Показатель	1 группа (n=60)	2 группа (n=35)	3 группа (n=26)	Контрольная Группа (n=20)	Значимость различий
	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	
	1	2	3	4	
ЛСБ, мкг/мл	29,3 [23,2; 58,1]	41,1 [28,2; 60,1]	73,5 [36,6; 85,0]	18,6 [15,5; 20,5]	p ₁₋₂ <0,001 p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001 p ₁₋₄ <0,001 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,001
sCD14-ST, пг/мл	2613 [1882; 2930]	3181 [2799; 3420]	3670 [3305; 4113]	218 [80; 292]	p ₁₋₂ <0,001 p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001 p ₁₋₄ <0,001 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,001

Продолжение таблицы 5.1

Показатель	1	2	3	4	Значимость различий
СРБ, мг/л	38,0 [18,35;57,85]	56,3 [34,9; 117,0]	45,25 [27,9; 80,00]	0,5 [0,3; 0,9]	p ₁₋₂ <0,001 p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001 p ₁₋₄ <0,001 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,001
Ферритин, мкг/л	223,0 [138,0;386,0]	241,0 [112,0;564,0]	493,0 [236,0;797,0]	164,0 [111,0;218,0]	p ₁₋₂ =0,115 p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001 p ₁₋₄ <0,001 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,001

Примечание - достоверность различий между группами рассчитана с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Из представленных в таблице 5.1 данных следует, что во всех клинических группах пациентов с SARS-CoV-2 уровень ЛСБ был повышен в сравнении с группой контроля. При сравнении показателей ЛСБ между группами было установлено, что самый высокий уровень ЛСБ зарегистрирован в группе у больных SARS-CoV-2 с летальным исходом ($p < 0,001$). Повышение уровня ЛСБ у больных SARS-CoV-2 может свидетельствовать о повышенной проницаемости кишечного барьера и увеличении циркулирующего в системном кровотоке эндотоксина.

Также выявлен повышенный уровень пресепсина (более чем в 10 раз) во всех исследуемых клинических группах по сравнению с группой практически здоровых лиц, что также может свидетельствовать о повышенном уровне циркулирующего в системном кровотоке эндотоксина и, к тому же, являться следствием гиперактивации клеток моноцитарно-макрофагального ряда.

Необходимо также отметить, что данные литературы позволяют взглянуть на выявленные изменения ЛСБ и sCD14-ST не только как факторы патогенеза острого воспаления у больных COVID-19, но и как на механизмы адаптации в условиях патологии. Так, высокая концентрация sCD14-ST и ЛСБ может

подавлять ответ на ЛПС за счет конкурентного удаления ЛПС из mCD14 на поверхности макрофагальных клеток [240]. Известна также возможность CD14 способствовать разрешению воспалительных процессов за счет вовлечения белка шаперона Grp78 из семейства белков теплового шока HSP70, который создает индуцибельный дефицит TLR4 за счет интернализации последнего внутрь клеток, тем самым подавляя выработку провоспалительных цитокинов [183].

Нами был проведен корреляционный анализ между уровнями ЛСБ, пресепсина и другими изучаемыми клиническими и лабораторными параметрами (Таблица 5.2.).

Таблица 5.2 – Корреляционные взаимосвязи между ЛСБ, пресепсином и другими изучаемыми клиническими и лабораторными параметрами

1 группа (n=60)			
Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
ЛСБ	ИМТ	0,304	p<0,01
ЛСБ	фибриноген	0,456	p<0,01
ЛСБ	ферритин	0,159	p<0,01
sCD14-ST	СРБ	0,292	p<0,01
sCD14-ST	ферритин	0,021	p<0,01
2 группа (n=35)			
Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
ЛСБ	sCD14-ST	0,523	p<0,01

Продолжение таблицы 5.2

Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
ЛСБ	ферритин	0,860	p<0,01
ЛСБ	ИМТ	0,594	p<0,01
ЛСБ	СРБ	0,550	p<0,01
sCD14-ST	ферритин	0,192	p<0,01
3 группа (n=26)			
Сравниваемые показатели		Коэффициент корреляции Спирмена, r	Статистический показатель, p
ЛСБ	sCD14-ST	0,855	p<0,01
ЛСБ	ферритин	0,315	p<0,01
ЛСБ	СРБ	-0,855	p<0,01
ЛСБ	Абсолютное содержание палочкоядерных нейтрофильных гранулоцитов	0,855	p<0,01
ЛСБ	Абсолютное содержание лимфоцитов	-0,739	p<0,01
sCD14-ST	ИМТ	0,518	p<0,01
sCD14-ST	ферритин	0,051	p<0,01
sCD14-ST	СРБ	-0,606	p<0,01

Как видно из данных, представленных в таблице 5.2, нами была обнаружена прямая корреляционная связь между концентрациями ЛСБ и ферритина ($r=0,354$, $p<0,05$) с сохранением данной закономерности в каждой клинической группе больных соответственно в 1 группе ($r=0,159$, $p<0,05$), во 2 группе ($r=0,860$, $p<0,05$), в 3 группе ($r=0,315$, $p<0,05$).

Примечательным является факт наличия прямой корреляционной связи показателей ЛСБ и индекса массы тела в 1 и 2 группах, что также является предпосылкой к рассмотрению участия избыточной массы тела и ожирения в патогенезе развития эндотоксинемии и воспалительного ответа при новой коронавирусной инфекции.

Таким образом, полученные нами результаты, свидетельствуют о вовлеченности эндотоксина грамотрицательной флоры и липополисахарид-связывающих систем в патогенез SARS-CoV-2-поражения лёгких.

5.2 Влияние антибиотикотерапии на показатели гуморальных эндотоксин-связывающих систем у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких

Исходя из литературных данных, следует, что одной из возможных причин повышения циркулирующего ЛПС в системном кровотоке может быть ранее и бесконтрольное применение антибактериальных препаратов на догоспитальном этапе лечения, что приводит к нарушению состава кишечного микробиома и увеличению кишечной проницаемости [110]. По данным метаанализа Langford и соавт. (2021), три четверти пациентов с SARS-CoV-2 получают антибиотики, а процент их назначения гораздо выше, чем предполагаемая распространенность сочетанной бактериальной инфекции [123]. Следующее за этим повышение транслокации ЛПС через кишечный барьер и уровня циркулирующего эндотоксина непосредственно отражается на состоянии основных липополисахарид-связывающих систем, к которым относится ЛСБ, а также изменению показателей системного воспаления, таких как СРБ и ферритин.

В таблице 5.3 представлены данные об исследовании уровней концентрации ЛСБ и маркеров системного воспаления у пациентов острым SARS-CoV-2-поражением лёгких на фоне применения антибактериальной терапии.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что уровень ЛСБ в подгруппе пациентов, принимавших антибактериальные препараты на амбулаторном этапе лечения был значительно выше, в сравнении с показателями подгруппы А и контрольной группы ($p < 0,001$). При сравнении показателей ферритина между подгруппами были зарегистрированы следующие закономерности: между подгруппой А и контрольной группой не было выявлено достоверных различий; в подгруппе В выявлено статистически значимое

повышение уровня ферритина по сравнению показателями больных подгруппы А и контрольной группы ($p < 0,001$). Также не было зарегистрировано достоверных различий в уровнях СРБ между подгруппой А и В ($p > 0,05$).

Таблица 5.3 – Уровни липополисахарид-связывающего белка и показателей системного воспаления у пациентов острым SARS-CoV-2-поражением лёгких на фоне применения антибактериальной терапии

Показатель	Подгруппа А (n=26)	Подгруппа В (n=34)	Контрольная группа (n=20)	Значимость различий
	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	
	1	2	3	
ЛСБ, мкг/мл	26,6 [2,3; 33,0]	37,3 [13,8; 50,4]	18,6 [15,5; 20,5]	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
СРБ, мг/л	36,1 [21,0; 51,0]	38,8 [15,7; 60,5]	0,5 [0,3; 0,9]	$p_{1-2} = 0,384$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
Ферритин, мкг/л	179,0 [103,0; 303,0]	276,0 [184,0; 463,0]	164,0 [111,0; 218,0]	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,266$ $p_{2-3} < 0,001$

Примечание - достоверность различий между группами рассчитана с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Высокий уровень ЛСБ и ферритина у пациентов острым SARS-CoV-2-поражением лёгких на фоне применения антибактериальной терапии может свидетельствовать о нарушении архитектоники микробиома кишечника, избыточной гибели грамотрицательной флоры и последующем повышении транслокации продуктов бактериального распада в системный кровоток.

Индукция провоспалительного ответа, опосредуемого ЛСБ, ассоциируется с повышением маркеров воспаления в системном кровотоке.

5.3 Избыточная масса тела, ожирение и уровни гуморальных эндотоксин-связывающих систем у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких

В качестве одного из важнейших факторов, потенцирующих действие вируса SARS-CoV-2 и влияющих на прогноз заболевания, по данным литературы, может выступать так называемая «метаболическая эндотоксинемия», описанная Cani и соавт., как состояние хронически повышенного уровня ЛПС в плазме крови на уровне в 10–50 раз ниже, чем при септических состояниях, и связанная с избыточной массой тела и ожирением [41]. Также известно, что TLR4, главный рецептор, опосредующий взаимодействие клеток хозяина и ЛПС, широко экспрессируется на клетках иммунной системы, гепатоцитах, адипоцитах и в скелетных мышцах [68, 204], тканях, играющих важную роль в регуляции углеводного и липидного обменов [163, 205]. В связи с этим нами было проведено исследование уровней маркеров эндотоксинемии на фоне данных метаболических расстройств. Показатели липополисахарид-связывающего белка, пресепсина и показателей системного воспаления у пациентов с острым SARS-CoV-2-поражением лёгких на фоне избыточной массы тела и ожирения представлены в таблице 5.4.

Из таблицы 5.4 следует, что наивысшие показатели ЛСБ и СРБ были зарегистрированы в подгруппе пациентов, страдающих ожирением 1-й степени. Показатели пресепсина и ферритина не различались в группах с ожирением и избыточной массой тела ($p > 0,05$). Было установлено, что показатели ферритина и sCD14-ST были достоверно выше в подгруппах пациентов с избыточной массой тела и пациентов с ожирением 1 степени, по сравнению с подгруппой С и группой контроля ($p < 0,05$). Различий между показателями СРБ между подгруппой С и подгруппой D выявлено не было ($p > 0,05$).

Таблица 5.4 – Уровни липополисахарид-связывающего белка, пресепсина и показателей системного воспаления у пациентов с острым SARS-CoV-2-поражением лёгких на фоне избыточной массы тела и ожирения

Показатель	Подгруппа С (n=10)	Подгруппа D (n=19)	Подгруппа E (n=26)	Контрольная группа (n=20)	Значимость различий
	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	
	1	2	3	4	
ЛСБ, мкг/мл	33,5 [8,3; 54,8]	48,3 [10,6; 60,0]	52,5 [31,16; 75,0]	18,6 [15,5; 20,5]	p1-2<0,001 p1-3<0,001 p2-3<0,001 p1-4<0,001 p2-4<0,001 p3-4<0,001
sCD14-ST, пг/мл	1310 [720; 2325]	2400 [1200; 2900]	2100 [1290; 3140]	218 [80; 292]	p1-2<0,001 p1-3<0,001 p2-3=0,204 p1-4<0,001 p2-4<0,001 p3-4<0,001
СРБ, мг/л	31,0 [9,3;51,05]	31,8 [15,7; 57,3]	40,5 [26,6; 60,0]	0,5 [0,3; 0,9]	p1-2=0,216 p1-3<0,001 p2-3<0,001 p1-4<0,001 p2-4<0,001 p3-4<0,001
Ферритин, мкг/л	204,0 [103,0; 292,0]	229,0 [127,0; 483,0]	220,0 [146,0; 382,0]	164,0 [111,0; 218,0]	p1-2<0,001 p1-3<0,001 p2-3=0,184 p1-4=0,001 p2-4=0,001 p3-4=0,001

Примечание - достоверность различий между группами рассчитана с помощью U-критерия Манна-Уитни.

5.4 Оценка уровней гуморальных эндотоксин-связывающих систем у пациентов с резистентным к инициальной терапии глюкокортикостероидами SARS-CoV-2-поражением лёгких

Инфекция SARS-CoV-2 способна вызывать жизнеугрожающее поражение лёгких, которое иммунологически схоже с респираторным дистресс-синдромом взрослых, и сопровождается усиленным провоспалительным ответом врожденной иммунной системы, проводящее к формированию синдрома так называемого «цитокинового шторма», что требует интенсивной противовоспалительной терапии препаратами глюкокортикостероидов, являющимися основной группой в данном случае, и биологической терапии (ингибиторами янус-киназ, интерлейкинов 6) [222, 43, 101, 146]. От исследования к исследованию данные об эффективности противовоспалительной терапии разнятся, что связано с большим количеством таких факторов, как пол, этническая принадлежность, наличие и отсутствие сопутствующих заболеваний [104].

В связи с тем, что в качестве одного из важнейших факторов, потенцирующих действие вируса SARS-CoV-2 и влияющих на результаты противовоспалительной терапии, по нашему мнению, может выступать ЛПС, который, по данным литературы, способен поддерживать оксидативный стресс, являющийся одной из причин резистентности к ГКС-терапии, нами был проведен анализ показателей эндотоксинемии у пациентов с резистентным к ГКС течением SARS-CoV-2 [95, 107]. Показатели липополисахарид-связывающего белка, пресепсина и показателей системного воспаления у пациентов с острым SARS-CoV-2-поражением лёгких резистентных к инициальной терапии глюкокортикостероидами представлены в таблице 5.5.

В подгруппе пациентов, у которых не был зарегистрирован положительный ответ на противовоспалительную терапию уровень ЛСБ, пресепсина, ферритина и СРБ был достоверно выше ($p < 0,01$), чем в подгруппе с положительным ответом на ГКС.

Таблица 5.5 – Уровни липополисахарид-связывающего белка, пресепсина и показателей системного воспаления у пациентов с острым SARS-CoV-2-поражением лёгких резистентных к инициальной терапии глюкокортикостероидами

Показатель	Подгруппа F (n=26)	Подгруппа G (n=34)	Контрольная группа (n=20)	Значимость различий
	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	
	1	2	3	
ЛСБ, мкг/мл	41,1 [23,2; 58,0]	60,1 [36,3; 73,5]	18,6 [15,5; 20,5]	p1-2=0,019 p1-3<0,001 p2-3<0,001
sCD14-ST, пг/мл	2613 [1882; 2930]	3181 [2799; 3420]	218 [80; 292]	p1-2<0,001 p1-3<0,001 p2-3<0,001
СРБ, мг/л	28,4 [11,3; 40,9]	74,3 [34,9; 108,0]	0,5 [0,3; 0,9]	p1-2<0,001 p1-3<0,001 p2-3<0,001
Ферритин, мкг/л	179,0 [103,0; 303,0]	276,0 [184,0; 463,0]	164,0 [111,0; 218,0]	p1-2=0,004 p1-3=0,312 p2-3<0,001

Примечание - достоверность различий между группами рассчитана с помощью U-критерия Манна-Уитни.

При проведении корреляционного анализа с использованием непараметрического коэффициента корреляции Спирмена (r) установлено наличие прямой корреляционной взаимосвязи между показателями СРБ и ферритина в подгруппе пациентов с положительным ответом на инициальную противовоспалительную терапию ($r=0,493$, $p<0,05$). В подгруппе G была выявлена сильная прямая корреляционная связь уровней пресепсина и ЛСБ ($r=0,709$, $p<0,05$), зависимость показателей ЛСБ и ферритина ($r=0,525$, $p<0,05$), а также отрицательная взаимосвязь уровня ЛСБ и СРБ ($r=-0,527$, $p<0,05$).

Таким образом, во всех группах пациентов с SARS-CoV-2 уровень ЛСБ и пресепсина был достоверно повышен в сравнении с группой контроля. Установлено, что самые высокие уровни зарегистрированы в группе у больных SARS-CoV-2 с летальным исходом ($p < 0,001$).

При корреляционном анализе была обнаружена сильная прямая связь между концентрациями ЛСБ и ферритина в группе пациентов с тяжелым течением ($r = 0,860$, $p < 0,05$) и группе пациентов с летальным исходом ($r = 0,315$, $p < 0,05$). В 1-й и 2-й клинических группах обнаружена прямая корреляционная связь между показателями ЛСБ и индекса массы тела, что подтверждает участие избыточной массы тела и ожирения в патогенезе развития эндотоксинемии и воспалительного ответа при новой коронавирусной инфекции.

У пациентов, у которых на амбулаторном этапе лечения применялись антибактериальные препараты, уровень ЛСБ был значительно выше, по сравнению с показателями контрольной группы и пациентов, не получавших антибактериальную терапию на догоспитальном этапе лечения ($p < 0,001$). У пациентов, страдающих ожирением 1-й степени, были зарегистрированы более высокие показатели ЛСБ, СРБ, пресепсина и ферритина, по сравнению с пациентами с ИМТ < 25 кг/м² ($p < 0,05$). У больных SARS-CoV-2, у которых не был зарегистрирован положительный ответ на инициальную противовоспалительную терапию ГКС, уровень ЛСБ, пресепсина, ферритина и СРБ был достоверно выше ($p < 0,01$), чем у пациентов с положительным ответом на ГКС.

5.5 Экспрессия TLR4 на моно- и полинуклеарах периферической крови больных SARS-CoV-2-поражением лёгких различной степени тяжести

Липополисахарид грамнегативной флоры опосредует своё провоспалительное воздействие посредством активации расположенного на мембране комплекса рецепторов CD14/TLR-4, который экспрессируется на моноцитах и макрофагах, в последующем приводящий к целому каскаду

провоспалительных реакций [13]. Активационный сигнал с рецептора CD14 передаётся внутрь клетки при участии TLR-4, что в дальнейшем сопровождается синтезом ряда провоспалительных цитокинов через активацию транскрипционного ядерного фактора NF-κB [73]. Индукция системного и локального воспаления, вызванная ЛПС и опосредованная TLR4 может принимать участие в патогенезе тяжелых форм новой коронавирусной инфекции [14].

В таблице 5.6 представлены полученные данные об экспрессии TLR-4 на моноцитах и гранулоцитах в периферической крови больных новой коронавирусной инфекцией различной степени тяжести и контрольной группы.

Во всех клинических группах уровень экспрессии TLR-4 на моноцитах и гранулоцитах периферической крови был повышен в сравнении с показателем контрольной группы ($p < 0,001$). Нами отмечено, что уровень экспрессии TLR-4 на гранулоцитах периферической крови у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких варьировался в зависимости от степени тяжести заболевания, а наивысший показатель был зарегистрирован в группе пациентов с летальным исходом.

Уровень экспрессии толл-подобных рецепторов 4-го типа на моноцитах периферической крови у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких также отличался в зависимости от тяжести течения заболевания, однако не было выявлено достоверных различий между результатами в группе пациентов с тяжелым течением и группе с летальным исходом.

При проведении корреляционного анализа зарегистрирована прямая связь между показателями экспрессии TLR4 на гранулоцитах и уровнем катепсина G во 2-й ($r=0,592$, $p < 0,05$) и 3-й ($r=0,716$, $p < 0,05$) исследуемых группах. Между показателями ЛСБ и уровнем экспрессии TLR4 на гранулоцитах периферической крови выявлена прямая корреляционная связь во 2-й ($r=0,512$, $p < 0,05$) и 3-й группах ($r=0,607$, $p < 0,05$).

Таблица 5.6 - Экспрессия TLR-4 на моноцитах и гранулоцитах периферической крови

Показатель	1 группа (n=23)	2 группа (n=18)	3 группа (n=11)	Контрольная группа (n=12)	Значимость различий
	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	Me [Q ₁ ;Q ₃]	
	1	2	3	4	
TLR-4 на моноцитах, MFI	2,82 [2,24;2,98]	2,97 [2,56;3,14]	3,04 [2,54;3,18]	1,10 [0,95;1,36]	p1-2<0,05 p1-3<0,05 p2-3=0,121 p1-к<0,001 p2-к<0,001 p3-к<0,001
TLR-4 на гранулоцитах, MFI	2,81 [2,25;2,93]	2,96 [2,43;3,12]	3,15 [2,48;3,37]	2,44 [2,02;2,85]	p1-2<0,05 p1-3<0,05 p2-3<0,05 p1-к<0,001 p2-к<0,001 p3-к<0,001

Примечание - достоверность различий между подгруппами рассчитана с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Таким образом, у пациентов с SARS-CoV-2 при поступлении на госпитальный этап лечения выявлено значительное увеличение уровня экспрессии толл-подобных рецепторов 4-го типа на моноцитах и гранулоцитах периферической крови, по сравнению с группой здоровых людей ($p < 0,001$). Наивысшие показатели экспрессии толл-подобных рецепторов 4-го типа на моноцитах и гранулоцитах периферической крови зарегистрированы у пациентов с тяжёлым течением и летальным исходом SARS-CoV-2-поражения лёгких.

Уровень экспрессии TLR4 на гранулоцитах у пациентов с летальным исходом был значительно выше, чем в группах с тяжёлым и среднетяжёлым

SARS-CoV-2-поражением лёгких ($p < 0,05$). Достоверных различий по экспрессии TLR4 на моноцитах между пациентами с тяжёлым течением и летальным исходом SARS-CoV-2-поражения лёгких не выявлено ($p > 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то, что с начала пандемии новой коронавирусной инфекции прошло уже более 2 лет, лечение и прогнозирование течения SARS-CoV-2 индуцированного поражения лёгких до сих пор является важной глобальной проблемой. Исследование в этом направлении развивается стремительно, и каждый день появляются публикации, раскрывающие всё больше информации о возможных дополнительных механизмах патогенеза SARS-CoV-2. Появляются новые препараты, тестируются новые вакцины, появляются данные о причастности новых рецепторов к развитию различных осложнений новой коронавирусной инфекции. Однако, к сожалению, это не позволяет полностью контролировать течение болезни. В связи с этим наша работа была направлена на поиск и исследование возможных агонистов вирусной инфекции SARS-CoV-2 и дополнительных, мало упоминаемых в литературе участников патогенетических процессов, сопровождающих повреждение лёгких.

Выбор исследуемых молекул был основан на данных предшествующих и уже имеющихся в литературе исследованиях. Исходя из данных литературы, ЛПС является молекулой, способной так или иначе принимать участие во многих звеньях патогенеза индуцированного SARS-CoV-2 поражения лёгких, так как способен увеличивать генерацию АФК, приводить к дезактивации eNOS и снижать биодоступность NO секретируемого эндотелием [78], что в последующем приводит к развитию эндотелиальной дисфункции. Разрушение монослоя сурфактанта, возникающее при взаимодействии ЛПС с белками сурфактантов также может влиять на развитие таких осложнений как ОРДС при SARS-COV-2 [40, 224]. Взаимодействие растворимой фракции рецептора CD14 (sCD14-ST) с комплексом ЛПС+ЛСБ запускает каскад провоспалительных реакций, приводя к дисфункции эпителиальных и эндотелиальных клеток [137]. Запуск транскрипционного фактора NF-κB опосредованно через рецепторы TLR4 приводит увеличению продукции ИЛ-6 и ряда молекул адгезии, таких как ICAM-1, VCAM-1 и E-селектин [78]. К тому же существуют данные, подтверждающие

возможность ЛПС непосредственно связываться с Spike-белком SARS-CoV-2 и увеличивать активацию NF-κB в клетках моноцитарно-макрофагального ряда [179]. Повышение кишечной транслокации ЛПС и следующее за этим увеличение уровня циркулирующего в системном кровотоке эндотоксина отражается на уровне основных гуморальных липополисахарид-связывающих систем, к которым относятся ЛСБ и CD14 (пресепсин, sCD14-ST) [74], а также маркерах системного воспаления, таких как СРБ и ферритин.

Известно, что среди иммунцитов именно нейтрофильные гранулоциты и макрофаги являются одними из основных участников иммунного ответа при SARS-CoV-2 [235]. Состояние повышенной активации данных клеток, направленных на уничтожение атакующего антигена в альвеолярном пространстве, приводит впоследствии к дополнительной, патологической деструкции альвеолоцитов I типа и экспрессии ряда провоспалительных цитокинов [202]. В связи с этим, большой интерес представляет анализ секретируемых нейтрофилами сериновых протеаз, обладающих целым спектром патологических свойств. Повышение активации клеток моноцитарно-макрофагального ряда и гранулоцитов отражается на уровне циркулирующего в кровотоке и локального катепсина G, а также маркерах системного воспаления, таких как С-реактивный белок (СРБ) и ферритин.

Учитывая все вышеизложенное, целью нашего исследования являлось изучение роли катепсина G и дисбаланса липополисахарид-связывающих систем в патогенезе острого периода инфекции SARS-CoV-2.

В процессе диссертационного исследования был обследован 121 пациент с диагнозом новой коронавирусной инфекции, находившихся на стационарном лечении и 20 практически здоровых человека из группы контроля. Все пациенты были разделены на три клинические группы: 1-я группа – больные с SARS-CoV-2-поражением лёгких средней тяжести (60 человек), 2-я группа – больные с тяжелым SARS-CoV-2-поражением лёгких (35 человек), 3-я группа – 26 больных SARS-CoV-2-поражением лёгких с летальным исходом; контрольную группу составили 20 практически здоровых человек.

При изучении клинико-функциональной характеристики пациентов было установлено, что у пациентов с тяжёлым течением новой коронавирусной инфекции чаще регистрировались жалобы на миалгии, в то время как сухой кашель встречался реже, чем в 1-й группе, а различия в частоте встречаемости симптомов со стороны органов ЖКТ выявлено не было.

Также было установлено, что сочетание SARS-CoV-2 и сопутствующей коморбидной патологии, а именно АГ, ИБС и СД2, проявлялось более тяжелым течением заболевания, которое характеризовалось большей выраженностью клинических и лабораторных проявлений. Так, сочетание SARS-CoV-2 и комбинации АГ+ИБС+СД2 было выявлено у 19,23% пациентов с летальным исходом, что достоверно выше, чем в 1-й и 2-й исследуемых группах.

При анализе терапевтического вмешательства на амбулаторном этапе лечения нами было установлено, что антибактериальная терапия применялась у 20% пациентов 1-ой группы, что на фоне отсутствия объективных признаков бактериальной инфекции ставит под сомнение целесообразность данного подхода к терапии. Данный результат согласуется с общемировой тенденцией, описанной в метаанализе Langford и соавт., в котором проанализировано 7469 исследований, и истории 30623 пациентов, распространенность назначения антибиотиков составляла 74,6% (95% ДИ 68,3 - 80,0%), в то время как расчетная бактериальная коинфекция составила 8,6% (95% ДИ 4,7 - 15,2%) из 31 исследования [123].

Анализ терапевтического вмешательства на стационарном этапе лечения показал, что комбинация ФВП+АБ+АК+ГКС+анти-ИЛ6 применялась у пациентов с летальным исходом достоверно чаще, чем у пациентов с среднетяжелым и тяжелым течением инфекции. Что во многом объясняется тяжестью симптоматики и попыткой нивелирования воздействия «цитокинового шторма» и воздействовать на патогенетические звенья мультиорганного поражения при SARS-CoV-2.

По результатам лабораторных исследований был выявлен более высокий показатель СРБ во 2-й и 3-й группах ($p_{1-2} < 0,03$; $p_{1-3} < 0,05$), уровень ферритина был значительно выше у пациентов из группы с летальным исходом, по

сравнению с 1-й и 2-й группами ($p_{1-3} < 0,01$; $p_{2-3} < 0,04$). Показатель прокальцитонина был достоверно выше в группах с тяжелым течением и летальным исходом ($p_{1-2} < 0,001$; $p_{1-3} < 0,001$), что скорее всего может быть связано с присоединением вторичной инфекции у этой части больных. Показатели синтетической функции печени, а именно общего белка и альбумина были гораздо ниже у пациентов с тяжелым течением и летальным исходом ($p_{1-2} < 0,001$; $p_{1-3} < 0,001$), что можно объяснить как влиянием самого вируса на гепатоциты, так и влияния лекарственных препаратов.

Данные показателей коагулограммы были представлены достаточно вариабельно, так уровень Д-димера был выше в группе с тяжелым течением ($p_{1-2} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,002$), в то время как показатели в 1-й и 3-й группах достоверно между собой не отличались. Показатели протромбинового времени и АЧТВ были выше во 2-й и 3-й исследуемых группах ($p_{1-2} < 0,012$; $p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,001$). Уровни фибриногена были достоверно ниже во 2-й и 3-й группах ($p_{1-2} < 0,008$; $p_{1-3} < 0,05$).

При проведении корреляционного анализа была установлена сильная прямая корреляционная связь между показателями фибриногена и ферритина ($r=0,818$, $p < 0,01$) и умеренная прямая корреляционная связь между показателями фибриногена и СОЭ ($r=0,497$, $p < 0,01$) в группе пациентов с летальным исходом, что может свидетельствовать о взаимосвязи системного воспаления и нарушениях в системе гемостаза. Также, зарегистрирована умеренная прямая корреляционная связь между уровнем СРБ и прокальцитонина во всех клинических группах (1-я группа – $r=0,461$, 2-я группа – $r=0,539$, 3-я группа – $r=0,411$, $p < 0,01$).

При исследовании общего анализа крови было обнаружено значительное повышение количества лейкоцитов за счёт сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов во 2-й и 3-й группах, по сравнению с пациентами со среднетяжелым течением ($p_{1-2} < 0,01$; $p_{1-3} < 0,001$). Также нами была проведена оценка показателей лейкоцитарных индексов (НЛК, ИСЛМ, ИСНМ, ЛИИ Рейса). Было показано значительное отличие данных индексов у пациентов 1-й и 2-й, а также 1-й и 3-й исследуемых группах ($p_{1-2} < 0,001$; $p_{1-3} < 0,001$). В то же время достоверный

различий между показателями в группах с тяжелым течением и летальным исходом выявлено не было ($p_{2-3} > 0,05$). Количество тромбоцитов было примерно одинаковым во всех исследуемых группах.

Данные визуализирующих исследований показали, что во 2-й и 3-й группах процент поражения лёгочной ткани был значительно выше по сравнению с группой со средней тяжестью заболевания ($p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$).

В связи с тем, что исходя из литературных данных, нейтрофилы и клетки макрофагально-моноцитарного ряда играют одну из самых главных ролей в иммунном ответе при новой коронавирусной инфекции [235], а также доказано усиление деструкции альвеолоцитов I типа на фоне повышенной активации данных клеток, направленных на элиминацию чужеродного антигена в альвеолярном пространстве [202], нами был проведен анализ секретируемых иммунными биологически активных веществ, а именно уровня сериновой протеазы – катепсина G. Во всех клинических группах больных SARS-CoV-2, поступающих на стационарный этап лечения, выявлено достоверное повышение уровня катепсина G, по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). Наивысшие показатели катепсина G были зарегистрированы в группе пациентов с летальным исходом 1,190 [0,902; 1,238], что было достоверно выше, чем в 1-й - 0,880 [0,776; 0,976] и 2-й - 0,985 [0,880; 1,064] группах ($p < 0,05$). При проведении корреляционного анализа установлено наличие прямой корреляционной связи между концентрациями CatG и показателем нейтрофилов периферической крови ($r=0,399$, $p < 0,05$) с сохранением данной закономерности во 2 ($r=0,439$, $p < 0,05$) и 3 группах ($r=0,637$, $p < 0,05$). В 3 клинической группе обнаружена отрицательная корреляционная связь между концентрациями CatG и показателем лимфоцитов периферической крови ($r=-0,746$, $p < 0,05$).

Выявленные изменения концентрации катепсина G в плазме пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких в целом соотносятся с тенденцией, описанной в литературе. Так, ранее уже отмечалась роль CatG в патогенезе ОРДС [241], а в недавнем исследовании уровня катепсина G в эндотрахеальных аспиратах, Seren с соавт. (2021) зарегистрировали повышение концентрации катепсина G в образцах,

полученных от больных с ОРДС на фоне новой коронавирусной инфекции [197]. Также в исследовании Akgun и соавт. (2020), при изучении образцов из носоглотки, полученных от пациентов с SARS-CoV-2, было описано значительное увеличение уровня экспрессии катепсина G (более чем в 3 раза, $p < 0,05$), что авторы объясняют аномальным накоплением нейтрофилов в носоглотке.

Наличие SARS-CoV-2 и связанное с данной инфекцией поражение естественных барьеров для ЛПС, каковыми являются кишечник и печень, создает благоприятные условия для проявления патологических эффектов ЛПС [12]. Дисфункция данных барьеров может быть обусловлена как влиянием вируса на паренхиму данных органов, так и, возможно, ранним, нерациональным применением антибактериальных препаратов, которые приводят к гибели грамотрицательной флоры кишечника [110]. Так, в нашем исследовании, по данным катамнеза, антибактериальную терапию на амбулаторном этапе лечения получало большинство больных с тяжелым течением и летальным исходом.

В проведенных нами исследованиях было установлено значительное возрастание концентрации ЛСБ у пациентов с новой коронавирусной инфекцией по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$), находящееся в прямой зависимости от степени тяжести течения заболевания, а наибольший уровень ЛСБ зарегистрирован в группе больных, у которых госпитализация завершилась летальным исходом.

ЛСБ также используется в качестве маркера кишечной проницаемости для ЛПС, что может являться отражением вирус-индуцированной дисфункции кишечного-гематологического барьера при тяжелой инфекции SARS-CoV-2 [127, 231, 244]. Так, Noel H. и соавт. (2021) сообщил о повышенном уровне ЛСБ у пациентов с SARS-CoV-2. Наибольшие уровни ЛСБ были зарегистрированы у пациентов с поражением сердца и коррелировали с уровнем NT-pro-BN, ИЛ-18 и ИЛ-1 [91].

Ряд исследований уровней пресепсина у пациентов с SARS-CoV-2, доказывает важность данного биомаркера в идентификации пациентов, у которых возможно более тяжелое, затяжное течение заболевания, а также имеющих более

высокий риск летального исхода [239, 35]. Однако, на данный момент данные противоречивы, и по результатам исследований других авторов, пресепсин не являлся прогностически важным маркером [114].

Полученные в нашем исследовании данные свидетельствуют о повышении уровня пресепсина в плазме крови пациентов с новой коронавирусной инфекцией, которое находится в прямой зависимости от тяжести течения SARS-CoV-2 и от концентрации ЛСБ. Изменения концентрации данных молекул свидетельствуют о том, что при среднетяжёлом и тяжёлом течении инфекции SARS-CoV-2 регистрируется повышенная транслокация эндотоксина из тонкого кишечника в системный кровоток, которая приводит к образованию тройного комплекса, состоящего из ЛПС, ЛСБ и рецептора CD14. Данный комплекс, также как и вирус, воздействует на TLR4 рецепторы макрофагов, что завершается активацией ядерного фактора NF- κ B, с последующим синтезом целого спектра провоспалительных цитокинов и развитию так называемого «цитокинового шторма». К тому же, растворимая форма CD14 (sCD14-ST) совместно с ЛСБ способствуют запуску провоспалительного ответа эндотелия сосудов на ЛПС, однако, прямая активация рецепторов TLR4 возможна и при воздействии высоких доз ЛПС без участия CD14 рецепторов [134], а также ЛСБ способствует активации других ЛПС связывающих рецепторов на эндотелиальных клетках [62].

Воздействие ЛПС на эндотелиальные клетки может привести к развитию эндотелиальной дисфункции, которая заключается в вазодилатации за счет повышения индуцибельной синтазы оксида азота и повышении концентрации NO [154], увеличению сосудистой проницаемости за счет нарушения структуры актина и миозина, что приводит к ретракции эндотелиоцитов и расщеплению соединительных белков [237]; ЛПС способен увеличивать экспрессию на эндотелиоцитах молекул клеточной адгезии E-селектина, интегринов [219], изменять смещение баланса системы гемостаза в прокоагулянтную сторону за счет снижения экспрессии таких антикоагулянтных молекул как тромбомодулин и повышения уровня тканевого тромбопластина [177].

Также в нашей работе нашла отражение мысль о том, что дисфункция

кишечного барьера и транслокация эндотоксина может потенцировать системное воспаление [37]. У пациентов была выявлена значимая функциональная взаимосвязь между липополисахарид-связывающими системами и уровнем ферритина, несмотря на то что корреляционные связи между повышенными уровнями ЛСБ, пресепсина и СРБ были достаточно неоднозначны. Повышение в крови концентрации ферритина у пациентов с SARS-CoV-2 может быть связано, с одной стороны, с его активной секрецией макрофагами и клетками печени при остром воспалительном процессе, так с гибелью данных клеток из-за пироптоза и ферроптоза [53, 174]. Также вирус-ассоциированное и ЛПС-индуцированное поражение печени, безусловно, отражается на состоянии как уровней ЛСБ и пресепсина, так и на уровне ферритина, т.к. печень является важнейшим барьером, элиминирующим ЛПС из портального кровотока.

Стоит также отметить, что данные литературы позволяют взглянуть на зарегистрированные в данном исследовании изменения уровней эндотоксин-связывающих систем не только как факторы, отражающие острое воспаление у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких, но и как на механизмы адаптации в условиях патологии. Повышенное содержание циркулирующих sCD14-ST и ЛСБ может подавлять провоспалительный ответ на ЛПС за счет конкурентного удаления ЛПС из mCD14 на поверхности макрофагов [240]. Также CD14 может способствовать разрешению воспаления за счет активации белка-шаперона Grp78, который индуцирует дефицит TLR4 за счет интернализации последнего внутрь клеток, тем самым подавляя выработку провоспалительных цитокинов [183]. При проведении корреляционного анализа нами была обнаружена прямая корреляционная связь между концентрациями ЛСБ и ферритина ($r=0,354$, $p<0,05$) с сохранением данной закономерности в каждой клинической группе больных, соответственно в 1 группе ($r=0,159$, $p<0,05$), во 2 группе ($r=0,860$, $p<0,05$), в 3 группе ($r=0,315$, $p<0,05$). Также была выявлена прямая корреляционная взаимосвязь между концентрацией sCD14-ST и ферритином в 1 группе ($r=0,021$, $p<0,05$), во второй группе ($r=0,192$, $p<0,05$), в третьей группе ($r=0,051$, $p<0,05$).

Примечательным является факт наличия прямой корреляционной связи

показателей ЛСБ и индекса массы тела в 1 и 2 группах, что также явилось предпосылкой к рассмотрению участия избыточной массы тела и ожирения в патогенезе развития эндотоксинемии и воспалительного ответа при новой коронавирусной инфекции.

Данные, полученные при изучении влияния антибактериальной терапии на уровень ЛСБ и системного воспаления, свидетельствуют о том, что в подгруппе пациентов, получавших антибактериальные препараты на амбулаторном этапе лечения, зарегистрирован достоверно более высокий уровень ЛСБ - 37,3 [13,8; 50,4], по сравнению с подгруппой А и группой контроля ($p < 0,05$). Показатели ферритина плазмы были выше в подгруппе В - 276,00 [184,00; 463,00] по сравнению с подгруппой А - 179,00 [103,00; 303,00] и группой контроля 164,00 [111,00; 218,00] ($p < 0,05$), соответственно. У пациентов, не получавших антибактериальные препараты, уровень ферритина достоверно не отличался от показателей контрольной группы ($p > 0,05$). Достоверных различий в уровнях СРБ между подгруппами А и В найдено не было ($p > 0,05$). Все это согласуется с публикациями, в которых экспериментально была доказана возможность влияния лечения антибактериальными препаратами на уровень циркулирующего в системном кровотоке эндотоксина [126, 221]. Так, в исследовании Morrison и соавт. (1996) было доказано переменное влияние различных групп антибактериальных препаратов на кишечную транслокацию ЛПС [155]. Авторы отметили, что имипенем вызывает относительно низкое высвобождение эндотоксина, по сравнению с другими препаратами [155]. Jacobs и соавт. (2020) сообщили о умеренном, но постоянном во времени значительном увеличении высвобождения интерлейкина ИЛ-6, наблюдаемом в бронхоальвеолярном лаваже мышей, получавших антибиотики на фоне острого воспаления легких, вызванного ЛПС [97].

В связи с тем, что на данный момент есть информация о влиянии ожирения на течение и прогноз при SARS-CoV-2 [187, 199, 178], нами также было проведено исследование влияния избыточной массы тела и ожирения на состояние эндотоксин-связывающих систем и системного воспаления у пациентов

с среднетяжелым течением новой коронавирусной инфекции.

Наивысшие показатели ЛСБ и СРБ были зарегистрированы в подгруппе пациентов, страдающих ожирением 1-й степени. Показатели пресепсина и ферритина не различались в подгруппах с ожирением и избыточной массой тела ($p > 0,05$), однако были достоверно выше, по сравнению с подгруппой С и группой контроля ($p < 0,05$). Полученные нами результаты можно объяснить, исходя из уже имеющихся литературных данных. У здоровых людей эндотоксин присутствует в системном кровотоке в крайне малых концентрациях, однако, ряд исследований подтверждает влияние приема пищи с высоким содержанием липидов на увеличение уровня циркулирующего в крови ЛПС [85]. Так, в исследовании Pussinen и соавт. у пациентов с метаболическим синдромом и/или сахарным диабетом 2-го типа (СД2) были выявлены повышенные уровни ЛПС и ЛСБ [182]. Также известно о способности инъекций ЛПС провоцировать развитие инсулинорезистентности [17], а систематическое переедание связано с повышением уровня эндотоксина в плазме крови [118]. Также в литературе присутствуют свидетельства о повышении кишечной проницаемости для эндотоксина у лиц с метаболическими нарушениями, что сопровождается повышением уровня ЛСБ и белка, связывающего жирные кислоты (iFABP) [84].

Проблема неэффективности инициальной противовоспалительной терапии ГКС у ряда больных новой коронавирусной инфекцией [81] также натолкнула нас на исследование роли эндотоксина в данном аспекте.

Проанализировав состояние эндотоксин-связывающих систем и маркеров воспаления у пациентов двух подгрупп (F, G), мы зарегистрировали значительно более высокие уровни ЛСБ – 60,1 [36,3; 73,5], пресепсина – 3181 [2799; 3420], ферритина – 276,0 [184,0; 463,0] и СРБ – 74,3 [34,9; 108,0] у пациентов с отрицательным ответом на инициальную противовоспалительную терапию ГКС, по сравнению с подгруппой, в которой наблюдалась клиническая и лабораторная положительная динамика и группой контроля ($p < 0,05$).

Объяснением данных результатов, по нашему мнению, может служить несколько механизмов. Так, очень высока роль провоспалительных

транскрипционных факторов, а именно - ядерного фактора-кВ и белка-активатора-1 (AP-1). По данным литературы, чрезмерная активация AP-1 является одним из известных механизмов резистентности к глюкокортикоидам при бронхиальной астме, благодаря его возможности связывать рецепторы к глюкокортикостероидам и препятствовать его взаимодействию с другими транскрипционными факторами [16]. AP-1 может активироваться под действием провоспалительных цитокинов, таких как ФНО- α , действуя через с-Jun N-концевой киназный путь (JNK-путь) [28]. При новой коронавирусной инфекции, так же, как и при ХОБЛ и БА, стимуляция альвеолярных макрофагов запускает активацию NF-кВ и других транскрипционных факторов для осуществления ацетилирования гистонов и последующей транскрипции генов кодирующих провоспалительные агенты (ФНО- α , ИЛ-8, гранулоцит-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF)) путем активации ацетилтрансферазы гистонов [28]. Этот процесс может быть обращен вспять применением кортикостероидов. ГКС связываются с глюкокортикоидными рецепторами и активируя гистоновую деацетилазу-2 (HDAC2), прекращают начатое ранее ацетилирование гистонов, и выключают активированные гены воспаления [28]. Окислительный стресс способен подавлять активность HDAC2, усиливая воспалительный ответ на активацию NF-кВ, а также снижая терапевтический эффект ГКС, поскольку HDAC2 теперь не в состоянии обратить вспять ацетилирование гистонов [28].

Описанные при SARS-CoV-2 механизмы развития оксидативного стресса также способны влиять на HDAC2 [55], что приводит к нарушению подавления NF-кВ и чрезмерной его активации. Не только сам вирус может обуславливать развитие окислительного стресса, но и воздействие индуктора TLR4-зависимого провоспалительного каскада – ЛПС. Через рецепторы TLR4 ЛПС приводит к запуску NF-кВ, что приводит к транскрипции генов провоспалительных цитокинов [78], дисбалансу провоспалительных цитокинов и усиленной активации AP-1. К тому же, в литературе достаточно детально задокументировано влияние ЛПС на увеличение образования биологически активных веществ,

повышающих активность перекисного окисления и развития оксидативного стресса, что может дополнительно влиять на активность HDAC2 с отрицательной стороны [95, 107].

Существуют данные о возможной роли TLR 4 в процессе проникновения вируса SARS-CoV-2 в клетку, а также запуске воспалительного ответа при взаимодействии с S-белком COVID-19 [45]. К тому же сообщается о наличии повышенной экспрессии гена TLR4 в моноцитах периферической крови у пациентов с SARS-CoV-2 инфекцией, по сравнению с показателями у здоровых людей [201]. Aboudounya и соавт. (2021) выдвинули гипотезу о том, что инфицирование COVID-19 альвеолоцитов II типа открывает внеклеточные сайты связывания TLR4 на эпителиальных клетках дыхательных путей [14]. Затем вирус взаимодействует с TLR4 на других эпителиальных клетках через свой S-белок, используя его, чтобы увеличить экспрессию ACE2, и, затем непосредственно проникнуть в клетку с помощью TLR4. Инфильтрация иммунцитов приводит к ап-регуляции TLR4 на этих клетках легких, и происходит активация TLR4, которая направлена на MyD88-зависимую сигнализацию, еще больше усиливающую воспаление [14]. Последующее инфицирование и разрушение альвеолоцитов приводит к снижению уровня легочного сурфактанта, и возникновению ОРДС.

Проведенное нами исследование экспрессии толл-подобных рецепторов 4 типа на моноцитах и гранулоцитах периферической крови пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких показало достоверное увеличение экспрессии TLR4 у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, поступающих на лечение в инфекционный стационар ($p < 0,001$). При этом наивысшие показатели экспрессии толл-подобных рецепторов 4-го типа на моноцитах периферической крови зарегистрированы у пациентов с тяжёлым течением (2,97 [2,56;3,14] MFI) и летальным исходом (3,04 [2,54;3,187] MFI) SARS-CoV-2-поражения лёгких ($p < 0,05$). Уровень экспрессии TLR4 на гранулоцитах у пациентов с летальным исходом был значительно выше (3,15 [2,48;3,37] MFI), чем в группах с тяжёлым (2,96 [2,43;3,12] MFI) и среднетяжёлым (2,81 [2,25;2,93] MFI) SARS-CoV-2-

поражением лёгких ($p < 0,05$).

Таким образом, данные, полученные нами при исследовании экспрессии TLR4 моноцитах и гранулоцитах периферической крови пациентов с новой коронавирусной инфекцией, согласуются с общемировыми данными и подтверждают роль TLR4-зависимых механизмов в патогенезе SARS-CoV-2 (Рисунок 6.1).

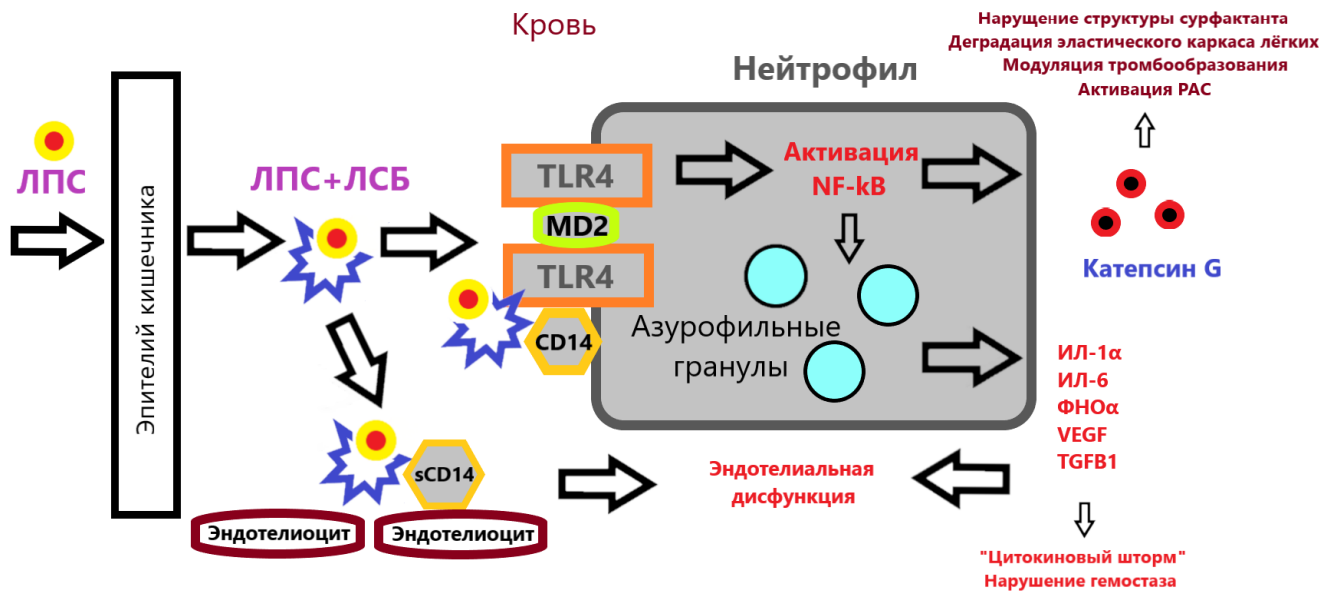


Рисунок 6.1 – Гиперактивация нейтрофильных гранулоцитов при избыточном поступлении липополисахарида.

Усиленная кишечная транслокация ЛПС в системный кровоток, индуцированная вирусом SARS-CoV-2 приводит к увеличению синтеза гепатоцитами ЛСБ и избыточному образованию комплексов ЛПС+ЛСБ. Данные соединения вступают во взаимодействие с рецепторным комплексом TLR4+MD2+CD14, запуская внутриклеточный каскад провоспалительных реакций, завершающийся активацией фактора NF-κB и последующей гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, что безусловно приводит к увеличению синтеза катепсина G, развитию эндотелиальной дисфункции, нарушениям системы гемостаза, дисбалансу в системе протеаз-антипротеаз, местной активации ренин-ангиотензиновой системы и запуску так называемого «цитокинового шторма».

Выводы

1. Основными клинико-лабораторными особенностями, характеризующими больных SARS-CoV-2 с тяжелым течением и летальным исходом, по сравнению с пациентами со средней тяжестью течения на момент поступления на госпитальный этап лечения были: достоверно более частое наличие миалгии ($p < 0,05$), повышение количества лейкоцитов за счёт сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов ($p < 0,05$) и снижение абсолютного количества лимфоцитов периферической крови ($p < 0,05$). Наиболее значимыми показателями, с точки зрения определения дальнейшего прогноза тяжести течения заболевания и риска летального исхода у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, явились показатели уровней ферритина, абсолютного количества нейтрофилов и лимфоцитов периферической крови.

2. Достоверное ($p < 0,001$) повышение концентрации катепсина G в плазме периферической крови зарегистрировано во всех клинических группах больных новой коронавирусной инфекцией, поступающих на стационарный этап лечения. Наивысшие показатели катепсина G зарегистрированы в 3-й группе, у пациентов с летальным исходом (1,190 [0,902; 1,238] нг/мл).

3. У пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких, поступающих на госпитальный этап лечения, выявлено достоверное ($p < 0,001$) повышение уровня липополисахарид-связывающего белка и пресепсина в плазме периферической крови. Самые высокие уровни липополисахарид-связывающего белка (73,5 [36,6; 85,0] мкг/мл) и sCD14-ST (3670 [3305; 4113] пг/мл) обнаружены в группе пациентов с летальным исходом ($p < 0,001$).

4. При SARS-CoV-2-поражении лёгких выявлено достоверное ($p < 0,001$) увеличение уровня экспрессии толл-подобных рецепторов 4-го типа на моноцитах и гранулоцитах периферической крови при поступлении пациентов в стационар. Наивысшие показатели экспрессии толл-подобных рецепторов 4-го типа на моноцитах периферической крови зарегистрированы у пациентов с тяжёлым течением (2,97 [2,56; 3,14] MFI) и летальным исходом (3,04 [2,54; 3,187] MFI)

SARS-CoV-2-поражения лёгких ($p<0,05$). Уровень экспрессии TLR4 на гранулоцитах у пациентов с летальным исходом был достоверно выше (3,15 [2,48;3,37] MFI), чем в группах с тяжёлым (2,96 [2,43;3,12] MFI) и среднетяжёлым (2,81 [2,25;2,93] MFI) SARS-CoV-2-поражением лёгких ($p<0,05$).

5. Применение антибактериальной терапии на догоспитальном этапе у пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких ассоциировалось с достоверным ($p<0,001$) повышением уровня липополисахарид-связывающего белка (37,3 [13,8; 50,4] мкг/мл), в сравнении с показателями пациентов, не получавших антибактериальную терапию на догоспитальном этапе лечения (26,6 [2,3; 33,0] мкг/мл).

6. У пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких с избыточной массой тела и ожирением выявлено достоверное ($p<0,001$) повышение показателей липополисахарид-связывающего белка, СРБ, пресепсина и ферритина, по сравнению с пациентами с нормальной массой тела. Регистрация у пациентов с новой коронавирусной инфекцией уровней липополисахарид-связывающего белка и пресепсина, равных 60,1 [36,3; 73,5] мкг/мл и 3181 [2799; 3420] пг/мл, соответственно, сопровождалась снижением эффективности инициальной противовоспалительной терапии ГКС ($p<0,01$).

7. При корреляционном анализе была обнаружена сильная прямая связь между концентрациями липополисахарид-связывающего белка и ферритина у пациентов с тяжёлым течением SARS-CoV-2 ($r=0,860$, $p<0,05$). Установлено наличие прямой корреляционной связи между концентрациями катепсина G и показателем нейтрофилов периферической крови в 3-й группе пациентов ($r=0,637$, $p<0,05$). Также выявлена умеренная прямая корреляционная связь между показателями катепсина G и липополисахарид-связывающего белка во 2-й клинической группе ($r=0,655$, $p<0,05$). В группе пациентов с летальным исходом была обнаружена отрицательная корреляционная связь между концентрациями катепсина G и показателем лимфоцитов периферической крови ($r=-0,746$, $p<0,05$).

Рекомендации

1. У пациентов с SARS-CoV-2-поражением лёгких целесообразно проведение исследования уровня катепсина G, ЛСБ, пресепсина и экспрессии TLR4 на моно- и полинуклеарных лейкоцитах периферической крови для оценки степени тяжести, прогноза течения заболевания и назначения персонализированной терапии.

2. Необходимо исключить нерациональную антибактериальную терапию на амбулаторном и госпитальном этапах у пациентов с новой коронавирусной инфекцией.

3. Для уменьшения числа нонреспондеров на инициальную противовоспалительную терапию ГКС у госпитализированных с SARS-CoV-2 больных рекомендуется дополнить диагностический протокол определением уровня ЛСБ и пресепсина, в связи с тем, что повышение уровня ЛСБ свыше 3 норм, а sCD14-ST свыше 10 норм ассоциировано с тяжелым течением и неблагоприятным исходом заболевания.

Перспективы дальнейшей разработки темы исследования

Учитывая полученные данные о дисбалансе гуморальных липополисахарид-связывающих систем у пациентов с острым SARS-CoV-2-поражением лёгких, целесообразным представляется дальнейшее изучение влияния генетических аспектов взаимодействия липополисахарида и клеток организма хозяина, а именно TLR4-опосредованного пути, в остром периоде инфекции SARS-CoV-2, а также в постковидном периоде.

Данные о повышенном уровне катепсина G в плазме периферической крови у пациентов с новой коронавирусной инфекцией дают предпосылки к изучению различных ингибиторов протеаз в лечении SARS-CoV-2-поражения лёгких, а также профилактике развития отдаленных последствий, а именно ремоделирования тканей лёгких.

Описанная в литературе возможность катепсина G и липополисахарида взаимодействовать с белками сурфактанта, нарушая его физико-химические свойства, приводя к развитию острого респираторного дистресс-синдрома, даёт основание для изучения применения препаратов сурфактанта у данной категории больных на этапах стационарного лечения и реабилитации.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АБ	– антибактериальные препараты
АГ	– артериальная гипертензия
АФК	– активные формы кислорода
АК	– антикоагулянты
АТМ	– М2-подобные макрофаги
АЧТВ	– активированное частичное тромбопластиновое время
БА	– бронхиальная астма
БЖТ	– белая жировая ткань
ГКС	– глюкокортикостероиды
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКТ	– желудочно-кишечный тракт
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
ИЛ	– интерлейкин
ИМТ	– индекс массы тела
ИСЛМ	– отношение лимфоцитов и моноцитов
ИСНМ	– индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов
ИФА	– иммуноферментный анализ
ИФН	– интерферон
КТ	– компьютерная томография
ЛИИ	– лейкоцитарный индекс интоксикации
ЛПВП	– липопротеины высокой плотности
ЛПНП	– липопротеины низкой плотности
ЛПС	– липополисахарид
ЛСБ	– липополисахарид-связывающий белок
НАДФН	– никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НАЖБП	– неалкогольная жировая болезнь печени
НЛК	– нейтрофильно-лимфоцитарный коэффициент

ОИТ	– отделение интенсивной терапии
ОПЛ	– острое повреждение лёгких
ОРДС	– острый респираторный дистресс синдром
РАС	– ренин-ангиотензиновая системы
РНК	– рибонуклеиновая кислота
РСВ	– респираторно-синцитиальный вирус
СД2	– сахарный диабет 2–го типа
СКВ	– системная красная волчанка
СОЭ	– скорость оседания эритроцитов
СРБ	– С-реактивный белок
ФВП	– фавипиравир
ФНО- α	– фактор некроза опухоли-альфа
ФЭ-CatG	– образованные под действием CatG фрагменты эластина
ХОБЛ	– хроническая обструктивная болезнь легких
ЧДД	– частота дыхательных движений
ЭКГ	– электрокардиография
ACE2	– ангиотензин-превращающий фермент 2
AP-1	– активирующий белок-1
BALF	– бронхоальвеолярная лаважная жидкость
BKB1R	– DAVK/брадикининовый рецептор B1
CatG	– катепсин G
COVID-19	– новая коронавирусная инфекция
CXCL5	– хемокин 5
DAVK	– дез-Arg ⁹ брадикинин
DAMPs	– ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны
DC	– дендритные клетки
EAE	– экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит
eNOS	– эндотелиальная синтаза оксида азота

G-CSF	– гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
GM-CSF	– гранулоцит-макрофагальный колониестимулирующий фактор
HDAC2	– гистоновая деацетилаза-2
HMGB1	– амфотерин
HSPs	– белки теплового шока
ICAM-1	– кластер дифференцировки 54
iFABP	– белок, связывающий жирные кислоты в кишечнике
iNKT	– инвариантные натуральные киллеры
IP10	– ИФН- γ -индуцированный протеин 10
JAK	– ингибиторы янус-киназ
MCP1	– моноцитарный хемоаттрактант протеин 1
MD-2	– лимфоцитарный антиген 96
MERS	– вирус ближневосточного респираторного синдрома
MFI	– mean fluorescence intensity
MIP2	– воспалительный белок макрофагов-2
MyD88	– ген первичного ответа миелоидной дифференцировки
NF- κ B	– транскрипционный фактор NF- κ B
NK	– натуральные киллеры
NLRP3	– Nod-подобный рецепторный белок 3
NT-proBN	– мозговой натрийуретический пептид
PAMPs	– патоген-ассоциированные молекулярные паттерны
PBS-T	– фосфатный буферный раствор
PI3K	– фосфоинозитид-3-киназа
PLTP	– белок переноса фосфолипидов
PR3	– протеиназа 3
PRR	– рецептор распознавания образов
ROS	– активные формы кислорода
SARS-CoV	– коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома

SARS-CoV-2	– новая коронавирусная инфекция
sCD14-ST	– пресепсин
SpO ₂	– сатурация
TLR	– толл-подобные рецепторы
TLR4	– толл-подобные рецепторы 4-го типа
TRAM	– адаптерная молекула толл-подобного рецептора
TRIF	– TIR-домен-содержащая адаптерная молекула 1
VCAM-1	– васкулярная молекула клеточной адгезии 1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гайдышев, И. Анализ и обработка данных [Текст] / И. Гайдышев. — СПб: Питер, 2001. — 752 с.
2. Гордиенко, А. И. Гордиенко Взаимосвязь между уровнями антител к липополисахариду и аутоантител к ДНК у больных вульгарной пузырчаткой [Текст] / А. А. Гордиенко, О. А. Притуло, В. А. Белоглазов, А. А. Бакова [и др.] // Иммунология та алергология. - 2002. - №4. – С. 67-72.
3. Заболотских, И. Б. Анестезиология-реаниматология. Клинические рекомендации [Текст] / И. Б. Заболотских, Е. М. Шифман – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 960 с.
4. Ивантер, Э. В. Основы биометрии: введение в статистический анализ биологических явлений и процессов [Текст] / Э. В. Ивантер, А. В. Коросов. – Петрозаводск: ПетрГУ. –1992. – 168 с.
5. Ипатов, А. И. О возможном прогностическом значении показателей антиэндотоксинового иммунитета при остром инфаркте миокарда [Текст] / А.И. Ипатов, И. Г. Новикова, Л. Л. Орлов, Н. В. Маркелова, М. Ю. Яковлев, И.М. Салахов // Клини. медицина. – 2000. - №4. – С. 33-38.
6. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : Учебник / под ред. В. В. Зверева, А. С. Быкова. – М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2016. – с. 700.
7. Петров, А. А. Генетический полиморфизм CD14, TNF α и FCGR2A у больных гриппом А H1N1 в Забайкальском крае / А. А. Петров, Н. Н. Страмбовская, А. В. Говорин, Ю. А. Витковский // Медицинская иммунология. – 2011. – Т.13. – №1. – С. 83-86.
8. Покусаева, Д. П. Прогностическая значимость показателей системной эндотоксинемии в атерогенезе / Д. П. Покусаева, И. А. Аниховская, Л. А. Коробкова // Физиология человека. — 2019. — Т. 45. — №5. — С. 543-551.
9. Сергиенко, В. И. Математическая статистика в клинических

исследованиях [Текст]/ Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. — М.: ГЕОТАР МЕДИЦИНА, 2000. — 256 с.

10. Шахмарданов, М. З. Эпидемиология COVID-19 / М. З. Шахмарданов, В. В. Никифоров, А. А. Скрябина [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2021. — Т. 26. — № 1. — С. 5-14.

11. Эндотоксин-связывающие системы крови [Текст] / А.А. Рудик и [др.] // 157 Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 1990. - №11. — С. 100-105.

12. Яковлев, М.Ю. Роль кишечной микрофлоры и недостаточности барьерной функции печени в развитии эндотоксинемии и воспаления [Текст] // Казан. мед. журн. — 1988. - №5. — С. 353 - 358.

13. Яковлев, М.Ю. Системная эндотоксинемия. Гомеостаз и общая патология. — М.: Наука; 2021.

14. Aboudounya, M. M. COVID-19 and Toll-Like Receptor 4 (TLR4): SARS-CoV-2 May Bind and Activate TLR4 to Increase ACE2 Expression, Facilitating Entry and Causing Hyperinflammation / M. M. Aboudounya, R. J. Heads // Mediators Inflamm. — 2021. — 2021. — P. 8874339.

15. Adamik, B. The importance of early detection of endotoxemia / B. Adamik, J. Smiechowicz, A. Kübler // Innate Immunity. — 2016. — Vol. 22. — №7. — P. 503-509.

16. Adcock, I. M. Abnormal glucocorticoid receptor-activator protein 1 interaction in steroid-resistant asthma / I. M. Adcock, S. J. Lane, C. R. Brown [et al.] // J Exp Med. — 1995. — Vol. 182. — №6. — P. 1951-1958.

17. Agwunobi, A. O. Insulin resistance and substrate utilization in human endotoxemia / A. O. Agwunobi, C. Reid, P. Maycock [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. — 2000. — Vol. 85. — P. 3770-3778.

18. Akgun, E. Proteins associated with neutrophil degranulation are upregulated in nasopharyngeal swabs from SARS-CoV-2 patients / E. Akgun, M. B. Tuzuner, B. Sahin, M. Kilercik [et al.] // PLoS One. — 2020. — Vol. 15. — №10. — P. e0240012.

19. Akira, S. Pathogen recognition and innate immunity / S. Akira, S. Uematsu, O. Takeuchi // *Cell*. — 2006. — Vol. 124. — №4. — P. 783-801
20. Alenina, N. ACE2 in Brain Physiology and Pathophysiology: Evidence from Transgenic Animal Models / N. Alenina, M. Bader // *Neurochem Res*. — 2019. — Vol. 44. — №6. — P.1323–1329.
21. Alexopoulou, L. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF- κ B by Toll-like receptor 3 / L. Alexopoulou, A. C. Holt, R. Medzhitov, R. A. Flavell // *Nature*. — 2001. — Vol. 413. — №6857. — P. 732–738.
22. Arner, P. Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues. / P. Arner // *Ann Med*. — 1995. — Vol.27. — №4. — P. 435-438.
23. Arpino, V. The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis / V. Arpino, M. Brock, S. E. Gill // *Matrix Biology*. — 2015. — Vol. 44. — P. 247-254.
24. Arribas, S. M. Elastic fibres and vascular structure in hypertension. / S. M. Arribas, A. Hinek, M. C. González // *Pharmacol. Ther.* —2006. — Vol. 111. — № 3. — P. 771-791.
25. Ashburn, D. D. Pulmonary system and obesity / D. D. Ashburn, A. DeAntonio, M. J. Reed // *Crit Care Clin*. — 2010. — Vol. 26. — №4. — P. 597-602.
26. Aulakh, G.K. Neutrophils in the lung: "the first responders" / G. K. Aulakh // *Cell Tissue Res*. — 2018. — Vol. 371. — P. 577e88
27. Baldwin, A.K. Elastic fibres in health and disease / A. K. Baldwin, A. Simpson, R. Steer, S. A. Cain, C. M. Kielty // *Expert Rev. Mol. Med*. — 2013. — Vol. 15. — P. e8.
28. Barnes, P.J. Glucocorticosteroids / P. J. Barnes // *Handb Exp Pharmacol*. — 2017. — Vol. 237. — P. 93-115.
29. Barnes, P.J. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease / P. J. Barnes // *Pharmacol. Rev*. — 2004. — Vol. 56. — №4. — P. 515-548.
30. Ben-Ali, M. Toll-like receptor 2 Arg677Trp polymorphism is associated with susceptibility to tuberculosis in Tunisian patients / M. Ben-Ali, M. R. Barbouche,

S. Bousnina, A. Chabbou, K. Dellagi // Clin. Diagn. Lab. Immunol. — 2004. — Vol.11. — P. 625–626.

31. Bertola, A. Identification of adipose tissue dendritic cells correlated with obesity-associated insulin-resistance and inducing Th17 responses in mice and patients / A. Bertola, T. Ciucci, D. Rousseau [et al.] // Diabetes. — 2012. — Vol. 61. — №9. — P. 2238-2247.

32. Bhattacharyya, S. TLR4-dependent fibroblast activation drives persistent organ fibrosis in skin and lung / S. Bhattacharyya, W. Wang, W. Qin [et al.] // JCI Insight. — Vol. 3. — №13. — P. e98850.

33. Biancardi, V. C. The interplay between angiotensin II, TLR4 and hypertension / V. C. Biancardi, G. F. Bomfim, W. L. Reis, S. al-Gassimi, K. P. Nunes // Pharmacological Research. — 2017. — Vol. 120. — P. 88–96.

34. Blanco-Melo, D. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19 / D. Blanco-Melo, B. E. Nilsson-Payant, W. C. Liu, S. Uhl, D. Hoagland, R. Moller [et al.] // Cell. — 2020. — Vol. 181. — №5. — P. 1036–45.e9.

35. Bowman, E.R. Levels of Soluble CD14 and Tumor Necrosis Factor Receptors 1 and 2 May Be Predictive of Death in Severe Coronavirus Disease 2019 / E. R. Bowman, C. M. A. Cameron, A. Avery [et al.] // J Infect Dis. — 2021. — Vol.223. — №5. — P. 805-810.

36. Brehm, A. Cathepsin G degradation of phospholipid transfer protein (PLTP) augments pulmonary inflammation / A. Brehm, P. Geraghty, M. Campos, I. Garcia-Arcos [et al.] // FASEB J. — 2014. — Vol. 28. — № 5. — P. 2318-2331.

37. Brenchley, J.M. Microbial translocation across the GI tract / J. M. Brenchley, D. C. Douek // Annu Rev Immunol. — 2012. — Vol. 30. — P. 149-173.

38. Bufler, P. Surfactant protein A and D differently regulate the immune response to nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa* and its lipopolysaccharide / P. Bufler, B. Schmidt, D. Schikor, A. Bauernfeind [et al.] // Am J Respir Cell Mol Biol. — 2003. — Vol. 28. — P. 249-256.

39. Burster, T. Cathepsin G: roles in antigen presentation and beyond / T. Burster, H. Macmillan, T. Hou, B. O. Boehm, E. D. Mellins // Mol Immunol. — 2010.

—Vol.47. — P. 658–65.

40. Canadas, O. Bacterial lipopolysaccharide promotes destabilization of lung surfactant-like films. / O. Canadas, K. M. Keough, C. Casals // *Biophys.* — 2011. — Vol. 100. — P. 108-116.

41. Cani, P. D. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance / P. D. Cani, J. Amar, M. A. Iglesias [et al.] // *Diabetes.* — 2007. — Vol.56. — P. 1761-1772.

42. Cantan, B. Influenza infections and emergent viral infections in intensive care unit / B. Cantan, C. E. Luyt, I. Martin-Loeches // *Semin Respir Crit Care Med.* — 2019. — Vol.40. — P. 488–497.

43. Cantini, F. Beneficial impact of Baricitinib in COVID-19 moderate pneumonia; multicentre study / F. Cantini, L. Niccoli, C. Nannini // *The Journal of infection.* — 2020. — Vol.81. — № 4. — P. 647–679.

44. Chehimi, M. Pathogenic Role of IL-17-Producing Immune Cells in Obesity, and Related Inflammatory Diseases / M. Chehimi, H. Vidal, A. Eljaafari // *J Clin Med.* — 2017. — Vol. 6. — № 7. — P. 68.

45. Choudhury, A. In silico studies on the comparative characterization of the interactions of SARSCoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs / A. Choudhury, S. Mukherjee // *Journal of Medical Virology.* — 2020. — Vol. 92. — № 10. — P. 2105–2113.

46. Chow, J. C. Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide induced signal transduction / J. C. Chow, D. W. Young, D. T. Golenbock, W. J. Christ, F. Gusovsky // *The Journal of Biological Chemistry.* — 1999. — Vol. 274. — № 16. — P. 10689–10692.

47. Ciesielska, A. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced proinflammatory signaling / A. Ciesielska, M. Matyjek, K. Kwiatkowska // *Cell Mol Life Sci.* — 2021. — Vol. 78. — № 4. — P. 1233-1261.

48. Clementi, N. Viral Respiratory Pathogens and Lung Injury / N. Clement, S. Ghosh, M. De Santis, M. Castelli [et al.] // *Clin Microbiol Rev.* — 2021. — Vol. 34. — № 3. — P. e00103-20.

49. Cox, A. J. Increased intestinal permeability as a risk factor for type 2 diabetes / A. J. Cox, P. Zhang, D. W. Bowden [et al.] // *Diabetes and Metabolism*. — 2017. — Vol. 43. — P. 163-166.
50. d’Hennezel, E. Total Lipopolysaccharide from the Human Gut Microbiome Silences Toll-Like Receptor Signaling / E. d’Hennezel, S. Abubucker, L. O. Murphy, T. W. Cullen // *mSystems*. — 2017. — Vol. 2. — № 6. — P. e00046-17.
51. da Silva, C. J. Lipopolysaccharide is in close proximity to each of the proteins in its membrane receptor complex transfer from CD14 to TLR4 and MD-2 / C. J. da Silva, K. Soldau, U. Christen [et al.] // *J Biol Chem*. — 2001. — Vol. 276. — № 24. — P. 21129-21135.
52. Dabek, M. Luminal cathepsin g and protease-activated receptor 4: a duet involved in alterations of the colonic epithelial barrier in ulcerative colitis / M. Dabek, L. Ferrier, R. Roka, K. Gecse [et al.] // *Am J Pathol*. — 2009. — Vol. 175. — № 1. — P. 207-14.
53. Dahan, S. Ferritin as a Marker of Severity in COVID-19 Patients: A Fatal Correlation / S. Dahan, G. Segal, I. Katz [et al.] // *Isr Med Assoc J*. — 2020. — Vol. 22. — № 8. — P. 494-500.
54. Dandona, P. Inflammation: The link between insulin resistance, obesity and diabetes / P. Dandona, A. Aljada, A. Bandyopadhyay // *Trends in Immunology*. — 2004. — Vol. 25. — P. 4-7.
55. Darenskaya, M. A. COVID-19: oxidative stress and the relevance of antioxidant therapy / M. A. Darenskaya, L. I. Kolesnikova, S. I. Kolesnikov // *Annals of the Russian academy of medical sciences*. — 2020. — Vol. 75. — № 4. — P. 318-325.
56. de Kleijn, D. Toll-like receptors in cardiovascular diseases / D. de Kleijn, G. Pasterkamp // *Cardiovascular Research*. — 2003. — Vol. 60. — № 1. — P. 58–67.
57. Di Lorenzo, F. Activation of Human Toll-like Receptor 4 (TLR4) Myeloid Differentiation Factor 2 (MD-2) by Hypoacylated Lipopolysaccharide from a Clinical Isolate of Burkholderiacenocepacia / F. Di Lorenzo, L. Kubik, A. Oblak [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. — 2015. — Vol. 290. — № 35. — P. 21305-21319.
58. Di Lorenzo, F. The Lipid A from *Rhodopseudomonas palustris* Strain

BisA53 LPS Possesses a Unique Structure and Low Immunostimulant Properties / F. Di Lorenzo, A. Palmigiano, S. Al Bitar-Nehme [et al.] // *Chemistry*. — 2017. — Vol. 23. — № 15. — P. 3637-3647.

59. Díaz, E. Impact of Obesity in Patients Infected With 2009 Influenza A (H1N1) / E. Díaz, A. Rodríguez, I. Martín-Loeches [et al.] // *Chest*. — 2011. — Vol. 139. — № 2. — P. 382-386.

60. Dillon, T.J. Plasma elastin-derived peptide levels in normal adults, children, and emphysematous subjects: physiologic and computed tomographic scan correlates / T. J. Dillon, R. L. Walsh, R. Scicchitano, B. Eckert [et al.] // *Am. Rev. Respir. Dis.* — 1992. — Vol. 146. — № 5. — P. 1143-1148.

61. Duffaut, C. Interplay between human adipocytes and T lymphocytes in obesity: CCL20 as an adipochemokine and T lymphocytes as lipogenic modulators / C. Duffaut, A. Zakaroff-Girard, V. Bourlier [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* — 2009. — Vol. 29. — № 10. — P.1608-1614.

62. Dunzendorfer, S. TLR4 is the signaling but not the lipopolysaccharide uptake receptor / S. Dunzendorfer, H. K. Lee, K. Soldau, P. S. Tobias // *J Immunol.* — 2004. — Vol. 173. — № 2. — P. 1166-1170.

63. Eriksson, O. Mannose-Binding Lectin is Associated with Thrombosis and Coagulopathy in Critically ill COVID-19 Patients / O. Eriksson, M. Hultström, B. Persson, M. Lipcsey [et al.] // *Thromb Haemost.* — 2020. — Vol. 120. — № 12. — P. 1720-1724.

64. Faraday, N. Cathepsin G-dependent modulation of platelet thrombus formation in vivo by blood neutrophils / N. Faraday, K. Schunke, S. Saleem, J. Fu [et al.] // *PLoS One*. — 2013. — Vol. 8. — № 8. — P. e71447.

65. Flegal, K. M. Trends in Obesity Among Adults in the United States, 2005 to 2014 / K. M. Flegal, D. Kruszon-Moran, M. D. Carroll [et al.] // *JAMA*. — 2016. — Vol. 315 — № 21. — P. 2284-2291.

66. Frantz, S. Toll4 (TLR4) expression in cardiac myocytes in normal and failing myocardium / S. Frantz, L. Kobzik, Y. D. Kim [et al.] // *The Journal of Clinical Investigation*. — 1999. — Vol. 104. — № 3. — P. 271–280.

67. Freeman, A. M. Viral pneumonia / A. M. Freeman A. M., T. R. Leigh // In StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island, FL Jr. 2020. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513286> (дата обращения: 05.03.2022)
68. Frost, R. A. Lipopolysaccharide regulates proinflammatory cytokine expression in mouse myoblasts and skeletal muscle / R. A. Frost, G. J. Nystrom, C. H. Lang // *Am J Physiol Integr Comp Physiol.* — 2002. — Vol. 283. — № 3. — P. R698-R709.
69. Gallo Marin, B. Predictors of COVID-19 severity: A literature review /B. Gallo Marin, G. Aghagoli, K. Lavine, L. Yang [et al.] // *Rev Med Virol.* — 2021. — Vol. 31. — №1. — P. 1-10.
70. Gao, F. Obesity Is a Risk Factor for Greater COVID-19 Severity / F. Gao, K. I. Zheng, X. B. Wang [et al.] // *Diabetes Care.* — 2020. — Vol. 43. — № 7. — P. e72-e74.
71. Gardai, S. J. By binding SIRPalpha or calreticulin/CD91, lung collectins act as dual function surveillance molecules to suppress or enhance inflammation / S. J. Gardai, Y. Q. Xiao, M. Dickinson, J. A. Nick [et al.] // *Cell.* — 2003. — Vol. 115. — P. 13-23.
72. Gastaldelli, A. Metabolic effects of visceral fat accumulation in type 2 diabetes / A. Gastaldelli, Y. Miyazaki, M. Pettiti [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* — 2002. — Vol. 87. — № 11. — P. 5098-5103.
73. Gioannini, T. L. Isolation of an endotoxin-MD-2 complex that produces Toll-like receptor 4-dependent cell activation at picomolar concentrations [Text] / T.L. Gioannini, A. Teghanemt, D. Zhang, N.P. Coussens [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* — 2004. — Vol. 101. — P. 4186–4191.
74. Gordienko, A. I. Humoral Anti-Endotoxin Immunity Imbalance as a Probable Factor in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases / A. I. Gordienko, V. A. Beloglazov, A. V. Kubyshkin [et al.] // *Hum Physiol.* — 2019. — Vol. 45. — № 3. — P. 337-341.
75. Gottlieb, J. Community-acquired respiratory viruses / J. Gottlieb // *Curr Opin Organ Transplant.* — 2019. — Vol. 24. — № 3. — P. 311-317.

76. Goutaki, M. The role of TLR4 and CD14 polymorphisms in the pathogenesis of respiratory syncytial virus bronchiolitis in greek infants / M. Goutaki, K. Haidopoulou, S. Pappa [et al.] // *Int J Immunopathol Pharmacol.* – 2014. – Vol. 27. – P. 563-572.
77. Gregor, M. F. Inflammatory mechanisms in obesity / M. F. Gregor, G. S. Hotamisligil // *Annu Rev Immunol.* – 2011. – Vol. 29. – P.415-445.
78. Grylls, A. Link between microbiota and hypertension: Focus on LPS/TLR4 pathway in endothelial dysfunction and vascular inflammation, and therapeutic implication of probiotics / A. Grylls, K. Seidler, J. Neil // *Biomedicine & Pharmacotherapy.* – 2021. – Vol. 137. – P. 111334.
79. Guan, W. J. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China / W. J. Guan, Z. Y. Ni, Y. Hu [et al.] // *N Engl J Med.* – 2020. – Vol. 382. – P. 1708.
80. Gudmann, N. S. Lung tissue destruction by proteinase 3 and cathepsin G mediated elastin degradation is elevated in chronic obstructive pulmonary disease / N. S. Gudmann, T. Manon-Jensen, J. M. B. Sand, C. Diefenbach [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2018. – Vol. 503. – № 3. – P. 1284-1290.
81. Guo, Y. Glucocorticoids Should Be Used With Caution in Patients With SARS-CoV-2 / Y. Guo, Y. Chen, Y. Li // *Front Med (Lausanne).* – 2021. – Vol. 8. – P. 564943.
82. Hadjadj, J. Impaired type I interferone activity and inflammatory responses in severe Covid-19 patients / J. Hadjadj, N. Yatim, L. Barnabei, A. Corneau [et al.] // *Science.* – 2020. – Vol. 369. – № 6504. – P.718–24
83. Haeberle, H. A. Respiratory syncytial virus-induced activation of nuclear factor-kappaB in the lung involves alveolar macrophages and toll-like receptor 4-dependent pathways / H. A. Haeberle, R. Takizawa, A. Casola [et al.] // *The Journal of Infectious Diseases.* – 2002. – Vol. 186. – № 9. – P. 1199–1206.
84. Harte, A. L. Elevated endotoxin levels in non-alcoholic fatty liver disease / A. L. Harte, N. F. da Silva, S. J. Creely [et al.] // *Journal of Inflammation (London England).* – 2010. – Vol. 7. – P. 15.
85. Harte, A. L. High fat intake leads to acute postprandial exposure to

circulating endotoxin in type 2 diabetic subjects / A. L. Harte, M. C. Varma, G. Tripathi [et al.] // *Diabetes Care*. – 2012. – Vol. 35. – P. 375-382.

86. He, X. TLR4-Upregulated IL-1 β and IL-1RI Promote Alveolar Macrophage Pyroptosis and Lung Inflammation through an Autocrine Mechanism / X. He, Y. Qian, Z. Li [et al.] // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6. – № 1. – P. 31663.

87. He, Z. Lipopolysaccharide induces lung fibroblast proliferation through Toll-like receptor 4 signaling and the phosphoinositide3-kinase-Akt pathway / Z. He, Y. Gao, Y. Deng [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. – № 4. – P. e35926.

88. Heinz, A. The action of neutrophil serine proteases on elastin and its precursor / A. Heinz, M. C. Jung, G. Jahreis, A. Rusciani [et al.] // *Biochimie*. – 2012. – Vol. 94. – № 1. – P. 192-202.

89. Hirsch, H. H. Fourth European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-4) / H. H. Hirsch, R. Martino, K. N. Ward, M. Boeckh [et al.] // *Lancet Oncol*. – 2014. – Vol. 15. – № 8. – P. e327-40.

90. Hodinka, R. L. Respiratory RNA Viruses / R. L. Hodinka // *Microbiol Spectr*. – 2016. – Vol. 4. – № 4.

91. Hoel, H. Elevated markers of gut leakage and inflammasome activation in COVID-19 patients with cardiac involvement / H. Hoel, L. Heggelund, D. H. Reikvam [et al.] // *J Intern Med*. – 2021. – Vol. 289. – № 4. – P. 523-531.

92. Holmskov, U. Collections and ficolins: humoral lectins of the innate immune defense / U. Holmskov, S. Thiel, J. C. Jensenius // *Annu Rev Immunol*. – 2003. – Vol. 21. – P. 547-578.

93. Hotamisligil, G. S. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance / G. S. Hotamisligil, N. S. Shargill, B. M. Spiegelman // *Science*. – 1993. – Vol. 259. – № 5091. – P. 87-91.

94. Huang, C. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China / C. Huang, Y. Wang, X. Li, L. Ren, J. Zhao, Y. Hu [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395. – № 10223. – P. 497–506.

95. Huang, J. Upregulation of UCP2 Expression Protects against LPS-Induced Oxidative Stress and Apoptosis in Cardiomyocytes / J. Huang, W. Peng, Y. Zheng //

Oxid Med Cell Longev. – 2019. – Vol. 2019. – P. 2758262.

96. Imai, Y. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury / Y. Imai, K. Kuba, G. G. Neely [et al.] // Cell. – 2008. – Vol. 133. – № 2. – P. 235–249.

97. Jacobs, M. C. Effect of antibiotic gut microbiota disruption on LPS-induced acute lung inflammation / M. C. Jacobs, J. M. Lankelma, N. S. Wolff [et al.] // PLoS One. – 2020. – Vol. 15. – № 11. – P. e0241748.

98. Jiang, X. Expression of plasma phospholipid transfer protein mRNA in normal and emphysematous lungs and regulation by hypoxia / X. Jiang, J. d'Armiento, R. K. Mallampalli, J. Mar [et al.] // J. Biol. Chem. – 1998. – Vol. 273. – № 25. – P. 15714-15718.

99. Jin, X. Global burden of upper respiratory infections in 204 countries and territories, from 1990 to 2019 / X. Jin, J. Ren, R. Li, Y. Gao [et al.] // EClinicalMedicine. – 2021. – Vol. 37. – P. 100986.

100. Johansson, A. Polymorphonuclear leukocyte degranulation induced by leukotoxin from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* / A. Johansson, R. Claesson, L. Hånström, G. Sandström, S. Kalfas // J Periodontal Res. – 2000. – Vol. 35. – № 2. – P. 85-92.

101. Kalil, A. C. Baricitinib plus Remdesivir for Hospitalized Adults with Covid-19 / A. C. Kalil, T. F. Patterson // N Engl J Med. – 2021. – Vol. 384. – № 9. – P. 795-807.

102. Kallio, K. A. E. Endotoxemia, nutrition, and cardiometabolic disorders / K. A. E. Kallio, K. A. Hätönen, M. Lehto [et al.] // Acta Diabetol. – 2015. – Vol. 52. – № 2. – P. 395-404.

103. Kang, T. J. Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepromatous leprosy patients / T. J. Kang, G. T. Chae // FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 2001. – Vol. 31. – P. 53–58.

104. Karan, A. COVID-19 and ethnicity: Does reduced responsiveness to glucocorticoids explain the more aggressive nature of disease among minorities? / A. Karan, K. Ali, K. Rambaran // Med Hypotheses. – 2020. – Vol. 144. – P. 110220.

105. Karpova, T. Blockade of Toll-like receptor 4 (TLR4) reduces oxidative stress and restores phosphor-ERK1/2 levels in Leydig cells exposed to high glucose / T. Karpova, A. A. de Oliveira, H. Naas [et al.] // *Life Sciences*. – 2020. – Vol. 245. – P. 117365.
106. Kazazian, N. Lupus Autoimmunity and Metabolic Parameters Are Exacerbated Upon High Fat Diet-Induced Obesity Due to TLR7 Signaling / N. Kazazian, Y. Wang, A. Roussel-Queval [et al.] // *Front Immunol*. – 2019. – Vol. 10. – P. 2015.
107. Khan, M. S. Anthocyanins protect against LPS-induced oxidative stress-mediated neuroinflammation and neurodegeneration in the adult mouse cortex / M. S. Khan, T. Ali, M. W. Kim // *Neurochem Int*. – 2016. – Vol. 100. – P. 1-10.
108. Khodir, A. E. A novel role of nifuroxazide in attenuation of sepsis-associated acute lung and myocardial injuries; role of TLR4/NLPR3/IL-1 β signaling interruption / A. E. Khodir, Y. A. Samra, E. Said // *Life Sciences*. – 2020. – Vol. 256. – P. 117907.
109. Kielty, C.M. Catabolism of intact fibrillin microfibrils by neutrophil elastase, chymotrypsin and trypsin / C. M. Kielty, D. E. Woolley, S. P. Whittaker, C. Shuttleworth // *FEBS Lett*. – 1994. – Vol. 351. – № 1. – P. 85-89.
110. Kim, H. S. Do an Altered Gut Microbiota and an Associated Leaky Gut Affect COVID-19 Severity? / H. S. Kim // *mBio*. – 2021. – Vol. 12. – № 1. – P. e03022-20.
111. Kim, J. S. Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19 / J. S. Kim, J. Y. Lee, J. W. Yang, K. H. Lee [et al.] // *Theranostics*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 316-329.
112. Kissebah, A. H. Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity / A. H. Kissebah, N. Vydelingum, R. Murray [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. – 1982. – Vol. 54. – № 2. – P. 254-260.
113. Kochumon, S. Elevated adipose tissue associated IL-2 expression in obesity correlates with metabolic inflammation and insulin resistance / S. Kochumon, A. Al Madhoun, F. Al-Rashed [et al.] // *Sci Rep*. – 2020. – Vol. 10. – № 1. – P. 16364.

114. Kocyigit, A. Circulating furin, IL-6, and presepsin levels and disease severity in SARS-CoV-2-infected patients / A. Kocyigit, O. Sogut, E. Durmus [et al.] // *Sci Prog.* – 2021. – Vol. 104. – № 2. – P. 368504211026119.
115. Kong, X. Activation of autophagy attenuates EtOH-LPS-induced hepatic steatosis and injury through MD2 associated TLR4 signaling / X. Kong, Y. Yang, L. Ren, [et al.] // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7. – № 1. – P. 9292.
116. Korkmaz, B. Neutrophil elastase, proteinase 3 and cathepsin G: physicochemical properties, activity and physiopathological functions / B. Korkmaz, T. Moreau, F. Gauthier // *Biochimie.* – 2008. – Vol. 90. – P. 227–42.
117. Kratz, M. Metabolic dysfunction drives an echanistically distinct proinflammatory phenotype in adipose tissue macrophages / M. Kratz, B. R. Coats, K. B. Hisert [et al.] // *Cell Metab.* – 2014. – Vol. 20. – № 4. – P. 614-625.
118. Krogh-Madsen, R. Effect of short-term intralipid infusion on the immuneresponse during low-dose endotoxemia in humans / R. Krogh-Madsen, P. Plomgaard, T. Akerstrom [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* –2008. – Vol. 294. – P. 371-379.
119. Kumar, A. SARS-CoV-2-specific virulence factors in COVID-19 / A. Kumar, P. Prasoon, C. Kumari, V. Pareek [et al.] // *J Med Virol.* – 2021. – Vol. 93. № 3. – P. 1343-1350.
120. Kunz, H. E. Adipose tissue macrophage populations and inflammation are associated with systemic inflammation and insulin resistance in obesity / H. E. Kunz, C. R. Hart, K. J. Gries [et al.] // *Am J Physiol Metab.* – 2021. –Vol. 321. – № 1. – P. E105-E121.
121. Kuzmich, N. N. TLR4 signaling pathway modulators as potential therapeutics in inflammation and sepsis / N. N. Kuzmich, K. V. Sivak, V. N. Chubarev, Y. B. Porozov [et al.] // *Vaccines.* – 2017. – Vol. 5. – № 4. – P. 34.
122. Landmann, R. Increased circulating soluble CD14 is associated with high mortality in gram-negative septic shock / R. Landmann, W. Zimmerli, S. Sansano [et al.] // *J Infect Dis.* – 1995. – Vol. 171. – № 3. – P. 639-644.
123. Langford, B. J. Antibiotic prescribing in patients with COVID-19: rapid

review and meta-analysis / B. J. Langford, M. So, S. Raybardhan, V. Leung [et al.] // *Clin Microbiol Infect.* – 2021. – Vol. 27. № 4 . – P. 520-531.

124. Lembo-Fazio, L. Bradyrhizobium Lipid A: Immunological Properties and Molecular Basis of Its Binding to the Myeloid Differentiation Protein-2/Toll-Like Receptor 4 Complex / L. Lembo-Fazio, J. M. Billod, F. Di Lorenzo [et al.] // *Frontiers in Immunology.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1888.

125. Lemieux, I. Metabolic Syndrome: Past, Present and Future / I. Lemieux, J. P. Després // *Nutrients.* – 2020. – Vol. 12. – № 11. – P. 3501.

126. Lepper, P. M. Clinical implications of antibiotic-induced endotoxin release in septic shock / P. M. Lepper // *Intensive Care Med.* – 2002. – Vol. 28. – № 7. – P. 824-33.

127. Leung, W. K. Enteric involvement of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection / W. K. Leung, K. F. To, P. K. Chan [et al.] // *Gastroenterology.* – 2003. – Vol. 125. – № 4. – P. 1011-7.

128. Li, X. X. Toll-like receptor 4 promotes fibrosis in bleomycin-induced lung injury in mice / X. X. Li, D. Y. Jiang, X. X. Huang, S. L. Guo [et al.] // *Genetics and Molecular Research.* – 2015. – Vol. 14. – № 4. – P. 17391–17398.

129. Li, Y. Roles of Toll-Like Receptors in Nitroxidative Stress in Mammals / Y. Li, S. L. Deng, Z. X. Lian, K. Yu // *Cells.* – 2019. – Vol. 8. – № 6. – P. 576.

130. Lighter, J. Obesity in patients younger than 60 years is a risk factor for Covid-19 hospital admission / J. Lighter, M. Phillips, S. Hochman [et al.] // *Clin Infect Dis.* – 2020. – Vol. 71. – № 15. – P. 896-897.

131. Liu, J. Genetic deficiency and pharmacological stabilization of mast cells reduce diet-induced obesity and diabetes in mice / J. Liu, A. Divoux, J. Sun [et al.] // *Nat Med.* – 2009. – Vol. 15. – № 8. – P. 940-945.

132. Liu, X. Lipopolysaccharide binding protein, obesity status and incidence of metabolic syndrome: A prospective study among middleaged and older Chinese / X. Liu, L. Lu, P. Yao [et al.] // *Diabetologia.* – 2014. – Vol. 57. – P. 1834-1841.

133. Liu, Y. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as an independent risk factor for mortality in hospitalized patients with COVID-19 / Y. Liu, X. Du, J. Chen, Y. Jin [et

al.] // *J Infect.* – 2020. – Vol. 81. – № 1. – P. e6-e12.

134. Lloyd-Jones, K. L. Varying importance of soluble and membrane CD14 in endothelial detection of lipopolysaccharide / K. L. Lloyd-Jones, M. M. Kelly, P. Kubes // *J Immunol.* – 2008. – Vol. 181. – № 2. – P. 1446-1453.

135. López-Boado, Y. S. Neutrophil serine proteinases cleave bacterial flagellin, abrogating its host response-inducing activity / Y. S. López-Boado, M. Espinola, S. Bahr, A. Belaouaj // *The Journal of Immunology.* – 2004. – Vol. 172. – № 1. – P. 509-515.

136. Louie, J. K. A Novel Risk Factor for a Novel Virus: Obesity and 2009 Pandemic Influenza A (H1N1) / J. K. Louie, M. Acosta, M. C. Samuel [et al.] // *Clinical Infectious Diseases.* – 2011. – Vol. 52. – № 3. – P. 301-312.

137. Lu, Y.C. LPS/TLR4 signal transduction pathway / Y. C. Lu, W. C. Yen, P. S. Ohashi // *Cytokine.* – 2008. – Vol. 42. – P. 145-151.

138. Lumeng, C. N. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization / C. N. Lumeng, J. L. Bodzin, A. R. Saltiel // *J Clin Invest.* – 2007. – Vol. 117. – № 1. – P. 175-184.

139. Luo, Y. P. Hemin inhibits NLRP3 inflammasome activation in sepsis-induced acute lung injury, involving heme oxygenase-1 / Y. P. Luo, L. Jiang, K. Kang [et al.] // *International Immunopharmacology.* – 2014. – Vol. 20. – № 1. – P. 24–32.

140. Luyt, C. E. Virus-induced acute respiratory distress syndrome: epidemiology, management, and outcome / C. E. Luyt, A. Combes, J. L. Trouillet, A. Nieszkowska, J. Chastre // *Presse Med.* – 2011. – Vol. 40. – P. e561–e568.

141. Mantovani, A. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity / A. Mantovani, M. A. Cassatella, C. Costantini, S. Jaillon // *Nat Rev Immunol.* – 2011. – Vol. 11. – P. 519–31.

142. Manzel, A. Role of «Western diet» in inflammatory autoimmune diseases / A. Manzel, D. N. Muller, D. A. Hafler [et al.] // *Curr Allergy Asthma Rep.* – 2014. – Vol. 14. – № 1. – P. 404.

143. Maretzky, T. ADAM10 mediates E-cadherin shedding and regulates epithelial cell-cell adhesion, migration, and beta-catenin translocation / T. Maretzky, K.

Reiss, A. Ludwig, J. Buchholz [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2005. – Vol. 102. – № 26. – P. 9182-7.

144. Martin, L. Heart in sepsis: molecular mechanisms, diagnosis and therapy of septic cardiomyopathy / L. Martin, M. Derwall, C. Thiemermann, T. Schürholz // Anaesthesist. – 2017. – Vol. 66. – № 7. – P. 479–490.

145. Maryanoff, B. E. Dual inhibition of cathepsin G and chymase is effective in animal models of pulmonary inflammation / B. E. Maryanoff, L. de Garavilla, M. N. Greco, B. J. Haertlein [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2010. – Vol. 181. – № 3. – P. 247-253.

146. McGonagle, D. The Role of Cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced Pneumonia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease / D. McGonagle, K. Sharif, A. O'Regan, C. Bridgewood // Autoimmun Rev. – 2020. – Vol. 19. – № 6. – P. 102537.

147. Mehta, P. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression / P. Mehta, D. F. McAuley, M. Brown, E. Sanchez [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 395. – № 10229. – P. 1033–4.

148. Meiler, C. Different effects of a CD14 gene polymorphism on disease outcome in patients with alcoholic liver disease and chronic hepatitis C infection / C. Meiler, M. Muhlbauer, M. Johann // World J Gastroenterol. – 2005. – Vol. 11. – P. 6031-7.

149. Molinaro, A. Chemistry of Lipid A: At the Heart of Innate Immunity / A. Molinaro, O. Holst, F. Di Lorenzo [et al.] // Chem A Eur J. – 2015. – Vol. 21. – № 2. – P. 500-519.

150. Molteni, M. The role of toll-like receptor 4 in infectious and noninfectious inflammation / M. Molteni, S. Gemma, C. Rossetti // Mediators of Inflammation. – 2016. – Vol. 2016. – P. 6978936.

151. Mongraw-Chaffin, M. Association of Visceral Adipose Tissue and Insulin Resistance with Incident Metabolic Syndrome Independent of Obesity Status: The IRAS Family Study / M. Mongraw-Chaffin, K. G. Hairston, A. J. G. Hanley [et al.] // Obesity. – 2021. – Vol. 29. – № 7. – P. 1195-1202.

152. Monte, S. V. Reduction in endotoxemia, oxidative and inflammatory stress, and insulin resistance after Roux-en-Y gastric bypass surgery in patients with morbid obesity and type 2 diabetes mellitus / S. V. Monte, J. A. Caruana, H. Ghanim [et al.] // *Surgery*. – 2012. – Vol. 151. – P. 587-593.

153. Moreira, A. P. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia / A. P. Moreira, T. F. Texeira, A. B. Ferreira [et al.] // *Br J Nutr*. – 2012. – Vol. 108. – № 5. – P. 801-809.

154. Morikawa, A. Augmentation of nitric oxide production by gamma interferon in a mouse vascular endothelial cell line and its modulation by tumor necrosis factor alpha and lipopolysaccharide / A. Morikawa, N. Koide, Y. Kato [et al.] // *Infect Immun*. – 2000. – Vol. 68. – № 11. – P. 6209-14.

155. Morrison, D. C. Evidence for antibiotic-mediated endotoxin release as a contributing factor to lethality in experimental gram-negative sepsis / D. C. Morrison, S. E. Bucklin // *Scand J Infect Dis Suppl*. – 1996. – Vol. 101. – P. 3-8.

156. Munford, R. S. Sensing Gram-Negative Bacterial Lipopolysaccharides: a Human Disease Determinant? / R. S. Munford // *Infection and Immunity*. – 2008. – Vol. 76. – P. 454-465.

157. Mussap, M. Soluble CD14 subtype presepsin (sCD14-ST) and lipopolysaccharide binding protein (LBP) in neonatal sepsis: new clinical and analytical perspectives for two old biomarkers / M. Mussap, A. Noto, M. Fravega, V. Fanos // *J Matern Fetal Neonatal Med*. – 2011. – Vol. 2. – P. 12-14.

158. Nagpal, R. Obesity-Linked Gut Microbiome Dysbiosis Associated with Derangements in Gut Permeability and Intestinal Cellular Homeostasis Independent of Diet / R. Nagpal, T. M. Newman, S. Wang [et al.] // *J Diabetes Res*. – 2018. – Vol. 2018. – P. 1-9.

159. Nara, N. Disruption of CXC motif chemokine ligand-14 in mice ameliorates obesity-induced insulin resistance / N. Nara, Y. Nakayama, S. Okamoto [et al.] // *J Biol Chem*. – 2007. – Vol. 282. – № 42. – P. 30794-30803.

160. Nawaz, A. CD206+ M2-like macrophages regulate systemic glucose metabolism by inhibiting proliferation of adipocyte progenitors / A. Nawaz, A.

Aminuddin, T. Kado [et al.] // *Nat Commun.* – 2017. – Vol. 8. – № 1. – P. 286.

161. Nguyen-Van-Tam, J. S. Risk factors for hospitalisation and poor outcome with pandemic A/H1N1 influenza: United Kingdom first wave (May–September 2009) /

J. S. Nguyen-Van-Tam, P. J. M. Openshaw, A. Hashim [et al.] // *Thorax.* – 2010. – Vol. 65. – № 7. – P. 645-651.

162. Nishimura, M. Tissue-specific mRNA expression profiles of human toll-like receptors and related genes / M. Nishimura, S. Nait // *Biological & Pharmaceutical Bulletin.* – 2005. – Vol. 28. – № 5. – P. 886–892.

163. Nishimura, S. CD8⁺ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity / S. Nishimura, I. Manabe, M. Nagasaki [et al.] // *Nat Med.* – 2009. – Vol. 15. – № 8. – P. 914-920.

164. Noris, M. The case of complement activation in COVID-19 multiorgan impact / M. Noris, A. Benigni, G. Remuzzi // *Kidney Int.* – 2020. – Vol. 98. – № 2. – P. 314-322.

165. Okorokov, P. L. Nutritional factors of inflammation induction or lipid mechanism of endotoxin transport / P. L. Okorokov, I. A. Anychovskaya, M. M. Yakovleva [et al.] // *Hum Physiol.* – 2012. – Vol. 38. – № 6. – P. 649-655.

166. Oliva, A. Low-Grade Endotoxemia and Thrombosis in COVID-19 / A. Oliva, V. Cammisotto, R. Cangemi, D. Ferro [et al.] // *Clin Transl Gastroenterol.* – 2021. – Vol. 12. – № 6. – P. e00348.

167. Oram, J.F. An amphipathic helical region of the N-terminal barrel of phospholipid transfer protein is critical for ABCA1-dependent cholesterol efflux / J. F. Oram, G. Wolfbauer, C. Tang, W. S. Davidson, J. J. Albers // *J. Biol.Chem.* – 2008. – Vol. 283. – № 17. – P. 11541-11549.

168. Ouchi, N. Adipokines in inflammation and metabolic disease / N. Ouchi, J. L. Parker, J. J. Lugus, K. Walsh // *Nat Rev Immunol.* – 2011. – Vol. 11. – № 2. – P. 85-97.

169. Owen, C. A. The cell biology of leukocyte-mediated proteolysis / C. A. Owen, E. J. Campbell // *J Leukoc Biol.* – 1999. – Vol. 65. – № 2. – P. 137-150.

170. Paik, J. High-fat diet-induced obesity exacerbates inflammatory bowel

disease in genetically susceptible *Mdr1a*^{-/-} male mice / J. Paik, Y. Fierce, P. M. Treuting [et al.] // *J Nutr.* – 2013. – Vol. 143. – № 8. – P. 1240-1247.

171. Pallach, M. Structure and inflammatory activity of the LPS isolated from *Acetobacterpasteurianus* CIP103108 / M. Pallach, F. Di Lorenzo, F. A. Facchini [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules.* – 2018. – Vol. 119. – P. 1027-1035.

172. Panda, A. K. CD14 (C-159T) polymorphism is associated with increased susceptibility to SLE, and plasma levels of soluble CD14 is a novel biomarker of disease activity: A hospital-based case-control study / A. K. Panda, R. Tripathy, B. K. Das // *Lupus.* – 2021. – Vol. 30. – № 2. – P. 219-227.

173. Park, B. S. The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex / B. S. Park, D. H. Song, H. M. Kim [et al.] // *Nature.* – 2009. – Vol. 458. – P. 1191-1195.

174. Park, E. ROS-mediated autophagy increases intracellular iron levels and ferroptosis by ferritin and transferrin receptor regulation / E. Park, S.W. Chung // *Cell Death Dis.* – 2019. – Vol. 10. – № 11. – P. 822.

175. Pati, A. A CD14 Polymorphism (C-159T rs2569190) Is Associated With SARS-CoV-2 Infection and Mortality in the European Population / A. Pati, S. Padhi, D. Panda, S. Suvankar, A. K. Panda // *J Infect Dis.* – 2021. – Vol. 224. – № 5. – P. 921-922.

176. Patra, M. C. Toll-like receptor-induced cytokines as immunotherapeutic targets in cancers and autoimmune diseases / M. C. Patra, M. Shah, S. Choi // *Seminars in Cancer Biology.* – 2020. – Vol. 64. – P. 61–82.

177. Pawlinski, R. Tissue factor, coagulation proteases, and protease-activated receptors in endotoxemia and sepsis / R. Pawlinski, N. Mackman // *Crit Care Med.* – 2004. – Vol. 32. – № 5. – P. S293-S297.

178. Petrakis, D. Obesity - a risk factor for increased COVID-19 prevalence, severity and lethality (Review) / D. Petrakis, D. Margină, K. Tsarouhas [et al.] // *Mol Med Rep.* – 2020. – Vol. 22. – № 1. – P. 9-19.

179. Petruk, G. SARS-CoV-2 Spike protein binds to bacterial

lipopolysaccharide and boosts proinflammatory activity / G. Petruk, M. Puthia, J. Petrlova, A. Strömdahl [et al.] // *Journal of Molecular Cell Biology*. – 2020. – Vol. 2. – № 12. – P. 916-932.

180. Popescu, C. M. Are community acquired respiratory viral infections an underestimated burden in hematology patients? / C. M. Popescu, A. L. Ursache, G. Feketea, C. Bocsan [et al.] // *Microorganisms*. – 2019. – Vol. 7. – № 11. – P. 521.

181. Popkin, B. M. Individuals with obesity and COVID-19: A global perspective on the epidemiology and biological relationships / B. M. Popkin, S. Du, W.D. Green [et al.] // *Obes Rev*. – 2020. – Vol. 21. – № 11. – P. e13128.

182. Pussinen, P. J. Endotoxemia is associated with an increased risk of incident diabetes / P. J. Pussinen, A. S. Havulinna, M. Lehto [et al.] // *Diabetes Care*. – 2011. – Vol. 34. – P. 392-397.

183. Qin, K. GRP78 Impairs Production of Lipopolysaccharide-Induced Cytokines by Interaction with CD14 / K. Qin, S. Ma, H. Li [et al.] // *Front Immunol*. – 2017. – Vol. 8. – P. 579.

184. Qiu, Q. Activation of NLRP3 inflammasome by lymphocytic microparticles via TLR4 pathway contributes to airway inflammation / Q. Qiu, Z. Yang, F. Cao [et al.] // *Experimental Cell Research*. – 2020. – Vol. 386. – № 2. – P. 111737.

185. Ramamoorthy, S. Corticosteroids: mechanisms of action in health and disease / S. Ramamoorthy, J. A. Cidlowski // *Rheumatic Diseases Clinics of North America*. – 2016. – Vol. 42. – № 1. – P. 15–31.

186. Ramkhelawon, B. Netrin-1 promotes adipose tissue macrophage retention and insulin resistance in obesity / B. Ramkhelawon, E. J. Hennessy, M. Ménager [et al.] // *Nat Med*. – 2014. – Vol. 20. – № 4. – P. 377-384.

187. Richardson, S. Presenting characteristics, comorbidities, outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City area / S. Richardson, J. S. Hirsch, M. Narasimhan, J. M. Crawford [et al.] // *JAMA*. – 2020. – Vol. 323. – P. 2052–9.

188. Rønnow, S. R. Specific elastin degradation products are associated with poor outcome in the ECLIPSE COPD cohort / S. R. Rønnow, L. L. Langholm, J. M. B.

Sand, J. Thorlacius-Ussing [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 4064.

189. Roos, A. Functional characterization of the lectin pathway of complement in human serum / A. Roos, L. H. Bouwman, J. Munoz // *Mol. Immunol.* – 2003. – Vol. 39. – P. 655-668.

190. Rosadini, C. V. Early innate immune responses to bacterial LPS / C. V. Rosadini, J. C. Kagan // *Current Opinion in Immunology.* – 2017. – Vol. 44. – P. 14–19.

191. Ruan, Q. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China / Q. Ruan, K. Yang, W. Wang, L. Jiang, J. Song // *Intensive Care Med.* – 2020. – Vol. 46. – № 5. – P. 846–8.

192. Rutting, S. Obesity alters the topographical distribution of ventilation and the regional response to bronchoconstriction / S. Rutting, S. Mahadev, K. O. Tonga [et al.] // *Journal of Applied Physiology.* – 2020. – Vol. 128. – № 1. – P. 168-177.

193. Ruuskanen, O. Viral pneumonia / O. Ruuskanen, E. Lahti, L. C. Jennings, D. R. Murdoch // *Lancet.* – 2011. – Vol. 377. – P. 1264–1275.

194. Schriver, E. E. Comparison of elastin peptide concentrations in body fluids from healthy volunteers, smokers, and patients with chronic obstructive pulmonary disease / E. E. Schriver, J. M. Davidson, M. C. Sutcliffe, B. B. Swindell, G. R. Bernard // *Am. Rev. Respir. Dis.* – 1992. – Vol. 145. – № 4. – P. 762-766.

195. Schumann, R.R. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein / R.R. Schumann, S.R. Leong, G.W. Flaggs [et al.] // *Science.* – 1990. – Vol. 249. – № 4975. – P. 1429-1431.

196. Segal, A. W. How neutrophils kill microbes / A. W. Segal // *Annu Rev Immunol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 197-223.

197. Seren, S. Proteinase release from activated neutrophils in mechanically ventilated patients with non-COVID-19 and COVID-19 pneumonia / S. Seren, L. Derian, I. Keleş, A. Guillon [et al.] // *Eur Respir J.* – 2021. – Vol. 57. – № 4. – P. 2003755.

198. Shirakawa, K. Presepsin (sCD14-ST): development and evaluation of one-step ELISA with a new standard that is similar to the form of presepsin in septic patients / K. Shirakawa, K. Naitou, J. Hirose [et al.] // *Clin Chem Lab Med.* – 2011. – Vol. 49. –

№ 5. – P. 937-939.

199. Simonnet, A. High prevalence of obesity in severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) requiring invasive mechanical ventilation / A. Simonnet, M. Chetboun, J. Poissy [et al.] // *Obesity*. – 2020. – Vol. 28. – № 7. – P. 1195-1199.

200. Sodhi, C. P. Attenuation of pulmonary ACE2 activity impairs inactivation of des-Arg bradykinin/BKB1R axis and facilitates LPS-induced neutrophil infiltration / C. P. Sodhi, C. Wohlford-Lenane, Y. Yamaguchi, T. Prindle [et al.] // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. – 2018. – Vol. 314. – № 1. – P. 17-31.

201. Sohn, K. M. COVID-19 patients upregulate toll-like receptor 4-mediated inflammatory signaling that mimics bacterial sepsis / K. M. Sohn, S. G. Lee, H. J. Kim [et al.] // *Journal of Korean Medical Science*. – 2020. – Vol. 35. – № 38. – P. e343.

202. Sokolowska, M. Immunology of COVID-19: Mechanisms, clinical outcome, diagnostics, and perspectives-A report of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) / M. Sokolowska, Z. M. Lukasik // *Allergy*. – 2020. – Vol. 75. – № 10. – P. 2445-2476.

203. Son, E. D. Cathepsin G increases MMP expression in normal human fibroblasts through fibronectin fragmentation, and induces the conversion of proMMP-1 to active MMP-1 / E. D. Son, H. Kim, H. Choi, S. H. Lee [et al.] // *J Dermatol Sci*. – 2009. – Vol. 53. – № 2. – P. 150-2.

204. Song, M. J. Activation of toll-like receptor 4 is associated with insulin resistance in adipocytes / M. J. Song, K. H. Kim, J. M. Yoon, J. B. Kim // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2006. – Vol. 346. – P. 739-745.

205. Stefanovic-Racic, M. Dendritic cells promote macrophage infiltration and comprise a substantial proportion of obesity-associated increases in CD11c+ cells in adipose tissue and liver / M. Stefanovic-Racic, X. Yang, M. S. Turner [et al.] // *Diabetes*. – 2012. – Vol. 61. – № 9. – P. 2330-2339.

206. Stoller, J. K. A review of α 1-antitrypsin deficiency / J. K. Stoller, L. S. Aboussouan // *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. – 2012. – Vol. 185. – № 3. – P. 246-259.

207. Swee, M.H. Developmental regulation of elastin production / M.H. Swee,

W.C. Parks, R.A. Pierce // *J. Biol. Chem.* – 1995. – Vol. 270. – № 25. – P. 14899-14906.

208. Tan, Y. A cross-disciplinary perspective on the innate immune responses to bacterial lipopolysaccharide / Y. Tan, J.C. Kagan // *Mol Cell.* – 2014. – Vol. 54. – № 2. – P. 212-223.

209. Tavener, S. A. Cellular and molecular mechanisms underlying LPS-associated myocyte impairment / S. A. Tavener, P. Kubes // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2006. – Vol. 290. – № 2. – P. H800–H806.

210. Teixeira, J. P. Kidney Injury in COVID-19: Epidemiology, Molecular Mechanisms and Potential Therapeutic Targets / J. P. Teixeira, S. Barone, K. Zahedi, M. Soleimani // *Int J Mol Sci.* – 2022. – Vol. 23. – № 4. – P. 2242.

211. Teixeira, P. C. Increased LPS levels coexist with systemic inflammation and result in monocyte activation in severe COVID-19 patients / P. C. Teixeira, G. P. Dorneles, P. C. Santana Filho, I. M. da Silva [et al.] // *Int Immunopharmacol.* – 2021. – Vol. 100. – P.108125.

212. The RECOVERY Collaborative Group. Dexamethasone in hospitalized patients with Covid-19 - preliminary report / RECOVERY Collaborative Group, P. Horby, W. S. Lim [et al.] // *N Engl J Med.* – 2021. – Vol. 384. – № 8. – P. 693-704.

213. Thompson, M. Increased cardiomyocyte intracellular calcium during endotox cardiac dysfunction in guinea pigs / M. Thompson, A. Kliewer, D. Maass [et al.] // *Pediatric Research.* – 2000. – Vol. 47. – № 5. – P. 669–676.

214. Timmermans, S. High fat diet exacerbates neuroinflammation in an animal model of multiple sclerosis by activation of the Renin Angiotensin system / S. Timmermans, J. F. Bogie, T. Vanmierlo [et al.] // *J Neuroimmune Pharmacol.* – 2014. – Vol. 9. – № 2. – P. 209-217.

215. Triplette, M. Emphysema and soluble CD14 are associated with pulmonary nodules in HIV-infected patients: implications for lung cancer screening / M. Triplette, K. M. Sigel, A. Morris [et al.] // *AIDS.* – 2017. – Vol. 31. – № 12. – P. 1715-1720.

216. Tsai, C.C. Extraction and partial characterization of a leukotoxin from a plaque-derived Gram-negative microorganism / C.C. Tsai, W. P. McArthur, P. C.

Baehni, B. F. Hammond, N. S. Taichman // *Infect Immun.* – 1979. – Vol. 25. – № 1. – P. 427-439.

217. Turner, N. A. Inflammatory and fibrotic responses of cardiac fibroblasts to myocardial damage associated molecular patterns (DAMPs) / N. A. Turner // *J Mol Cell Cardiol.* – 2016. – Vol. 94. – P. 189–200.

218. Twig, G. Body mass index and infectious disease mortality in midlife in a cohort of 2.3 million adolescents / G. Twig, N. Geva, H. Levine [et al.] // *International Journal of Obesity.* – 2018. – Vol. 42. – № 4. – P. 801-807.

219. Ulbrich, H. Leukocyte and endothelial cell adhesion molecules as targets for therapeutic interventions in inflammatory disease / H. Ulbrich, E.E. Eriksson, L. Lindbom // *Trends Pharmacol Sci.* – 2003. – Vol. 24. – № 12. – P. 640-647.

220. Van Gaal, L. F. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease / L. F. Van Gaal, I. L. Mertens, E. Christophe // *Nature.* – 2006. – Vol. 444. – P. 875-880.

221. Vianna, R. C. Antibiotic treatment in a murine model of sepsis: impact on cytokines and endotoxin release / R. C. Vianna, R. N. Gomes, F. A. Bozza, R. T. Amâncio [et al.] // *Shock.* – 2004. – Vol. 21. – № 2. – P. 115-20.

222. Villar, J. Rationale for prolonged corticosteroid treatment in the acute respiratory distress syndrome caused by coronavirus disease 2019 / J. Villar, M. Confalonieri // *Crit Care Explor.* – 2020. – Vol. 2. – № 4. – P. e0111.

223. Vuletic, S. PLTP regulates STAT3 and NF κ B in differentiated THP1 cells and human monocyte-derived macrophages. *Biochim* / S. Vuletic, W. Dong, G. Wolfbauer, C. Tang, J. Albers // *Biophys. Acta.* – 2011. – Vol. 1813. – № 10. – P. 1917-1924.

224. Wang, C. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): a national cross-sectional study / C. Wang, J. Xu, L. Yang, Y. Xu [et al.] // *Lancet.* – 2018. – Vol. 391. – P. 1706–1717.

225. Wang, J. Cathepsin G activity lowers plasma LDL and reduces atherosclerosis / J. Wang, S. Sjöberg, T. T. Tang, K. Öörni [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 2014. – Vol. 1842. – № 11. – P. 2174-83.

226. Wang, R. Angiotensin II induces apoptosis in human and rat alveolar epithelial cells / R. Wang, A. Zagariya, O. Ibarra-Sunga, C. Gidea [et al.] // *Am J Physiol.* – 1999. – Vol. 276. – P. L885–89.
227. Winer, S. Obesity predisposes to Th17 bias / S. Winer, G. Paltser, Y. Chan [et al.] // *Eur J Immunol.* – 2009. – Vol. 39. – № 9. – P. 2629-2635.
228. Wise, S.G. Tropoelastin: a versatile, bioactive assembly module / S.G. Wise, G.C. Yeo, M.A. Hiob, J. Rnjak-Kovacina [et al.] // *Acta Biomater.* – 2014. – Vol. 10. – № 4. – P. 1532-1541.
229. Wong, M. H. Differential response of primary alveolar type I and type II cells to LPS stimulation / M. H. Wong, M. D. Johnson // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8. – № 1. –P. e55545.
230. Wright, S.D. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein / S.D. Wright, R.A. Ramos, P.S. Tobias [et al.] // *Science.* – 1990. – Vol. 249. – № 4975. – P. 1431-1433.
231. Wu, Y. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples / Y. Wu, C. Guo, L. Tang [et al.] // *Lancet Gastroenterol Hepatol.* – 2020. – Vol. 5. – № 5. – P. 434-5.
232. Wu, Z. 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 / Z. Wu, J. M. McGoogan // *JAMA.* – 2020. – Vol. 323. – P. 1239–1242.
233. Yang, R. Toll-like receptor 4 contributes to a myofibroblast phenotype in cardiac fibroblasts and is associated with autophagy after myocardial infarction in a mouse model / R. Yang, Z. Song, S. Wu, Z. Wei, Y. Xu, X. Shen // *Atherosclerosis.* – 2018. – Vol. 279. – P. 23–31.
234. Yang S. C., Luteolin attenuates neutrophilic oxidative stress and inflammatory arthritis by inhibiting Raf1 activity / S. C. Yang, P. J. Chen, S. H. Chang, Y.T. Weng [et al.] // *Biochemical Pharmacology.* – 2018. – Vol. 154. – P. 384-396.
235. Ye, Q. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19 / Q. Ye, B. Wang, J. Mao // *J Infect.* – 2020. – Vol. 80. – № 6. – P. 607-613.

236. Yuan, F. F. High prevalence of the CD14-159CC genotype in patients infected with severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus / F. F. Yuan, I. Boehm, P. K. Chan [et al.] // *Clin Vaccine Immunol.* – 2007. – Vol. 14. – P. 1644-5.
237. Yuan S.Y. Protein kinase signaling in the modulation of microvascular permeability / S.Y. Yuan // *Vascul Pharmacol.* – 2002. – Vol. 39. – № 4-5. – P. 213-223.
238. Zamolodchikova, T. S. Human cathepsin G – multifunctional immunity protease / T. S. Zamolodchikova, S. M. Tolpygo, B. B. Shoibonov, A. V. Kotov // *Immunologiya.* – 2018. Vol. 39. – P. 151–7.
239. Zaninotto, M. Presepsin in risk stratification of SARS-CoV-2 patients / M. Zaninotto, M. M. Mion, C. Cosma [et al.] // *Clin Chim Acta.* – 2020. – Vol. 507. – P. 161-163.
240. Zanoni, I. Role of CD14 in host protection against infections and in metabolism regulation / I. Zanoni, F. Granucci // *Front Cell Inf Microbiol.* – 2013. – Vol. 3. – P. 32.
241. Zhang, J. [Serpins as important protective factors in the pathogenesis of acute lung injury/acute respiratory distress syndrome] / J. Zhang, C. Xu, G. Zhang, Y. Luo [et al.] // *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* – 2021. – Vol. 33. – № 3. – P. 368-372.
242. Zhao, J. Contribution of CD14-159C/T polymorphism to tuberculosis susceptibility: a meta-analysis / J. Zhao, G. Lin, W. H. Zhang, M. Ge, Y. Zhang // *Int J Tuberc Lung Dis.* – 2013. – Vol. 17. – P. 1472-8.
243. Zou, N. Critical role of extracellular heat shock cognate protein 70 in the myocardial inflammatory response and cardiac dysfunction after global ischemia-reperfusion / N. Zou, L. Ao, J. C. Cleveland [et al.] // *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology.* – 2008. – Vol. 294. – № 6. – P. H2805–H2813.
244. Zuo, T. Alterations in Gut Microbiota of Patients With COVID-19 During Time of Hospitalization / T. Zuo, F. Zhang, G. C. Y. Lui [et al.] // *Gastroenterology.* – 2020. – Vol. 159. – № 3. – P. 944-955.e8.