

Владивостокский филиал федерального государственного бюджетного научного
учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»
– Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и
восстановительного лечения

На правах рукописи



Лобова Татьяна Геннадьевна

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ИНФЛАММАСОМ-ОБУСЛОВЛЕННЫХ
МЕХАНИЗМОВ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ
БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19

3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки)

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель: д.б.н.,
профессор РАН Виткина Татьяна Исааковна

Благовещенск, 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Современные представления о патофизиологических механизмах бронхиальной астмы	14
1.2. Иммунологические механизмы развития нарушений у лиц, перенесших COVID-19	17
1.3. Системный воспалительный ответ у больных бронхиальной астмой, перенесших COVID-19	19
1.4. Современные представления о молекулярных механизмах формирования инфламмасом-обусловленного ответа.	26
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	35
2.1. Характеристика объекта исследования	35
2.2. Клиническая характеристика групп	36
2.3. Инструментальные методы исследования	38
2.4. Лабораторные методы исследования	38
2.5. Методы статистического анализа	40
ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ, БИОХИМИЧЕСКИХ И КОАГУЛОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО COVID-19	42
3.1. Морфофункциональный и цитокиновый статус у лиц, перенесших COVID-19 легкого течения	42
3.2. Характеристика параметров воспалительного процесса у больных бронхиальной астмой легкой степени тяжести	50

3.3.	Динамика маркеров воспаления в течение шести месяцев у больных бронхиальной астмой легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 в легкой форме	51
3.4.	Динамика показателей NLRP3 и гасдермина D у больных бронхиальной астмой легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 в легкой форме	57
3.5.	Взаимосвязь между гематологическими, коагулологическими показателями, маркерами воспаления у больных бронхиальной астмой легкой степени тяжести, перенесших COVID-19.	59

ГЛАВА 4 БИОМАРКЕРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19	71
ГЛАВА 5 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	76
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	89
ВЫВОДЫ	92
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	93
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	94
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	97

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Бронхиальная астма (БА) представляет собой серьезную глобальную проблему здравоохранения, которая затрагивает от 4% до 18% населения всех возрастных групп [96; 97]. Бронхиальная астма относится к хроническим заболеваниям легких; ее ключевые патогенетические признаки – хроническое воспаление дыхательных путей, избыточная выработка слизи, повышенная реактивность бронхов и их ремоделирование [7; 10; 97]. С появлением пандемии, вызванной SARS-CoV-2-инфекцией, пациенты с БА находятся в зоне пристального внимания [4; 104; 152]. В связи с тем, что при коронавирусной инфекции 2019 года (COVID-19) также поражаются органы дыхания, логично предположить, что больные БА наиболее уязвимы в отношении COVID-19 вследствие снижения противовирусной защиты и имеющихся изменений врожденного иммунитета.

Проблема, связанная с особенностями восстановления пациентов с астмой после перенесенной SARS-CoV-2-инфекции, до сих пор остается недостаточно изученной. По данным литературы, часть больных БА, перенесших COVID-19, страдает от длительно сохраняющейся одышки и слабости, которые сильно снижают качество жизни и требуют длительной реабилитации. Показано, что проявления постковидного синдрома (ПКС) в течение 4 недель после перенесенной инфекции у них встречаются чаще, чем у пациентов, не имеющих астму [94; 126; 144]. В литературе есть данные о том, что у больных астмой после перенесенного COVID-19 возможно ухудшение контроля над заболеванием [1; 53].

В то же время, в ряде исследований выдвинуто предположение, что больные БА имеют не только меньшую восприимчивость к коронавирусу, но у них и реже встречаются проявления постковидного синдрома в течение 3 месяцев после перенесенной инфекции [28; 38]. Противоречивые данные свидетельствуют о том, что вопрос рисков и прогноза для больных БА, перенесших COVID-19, является

актуальным и требует дальнейшего исследования патогенетических механизмов причин сохраняющихся симптомов.

Вопросы патофизиологии воспалительного процесса при БА и при COVID-19 активно обсуждаются в отечественной и зарубежной литературе [126; 163]. Исследования молекулярных механизмов данных патологий позволили детализировать роль различных звеньев иммунитета в формировании патогенеза этих заболеваний, однако это касается в основном форм тяжелого течения [8; 9; 25].

Известно, что в патогенезе воспалительной реакции при БА и COVID-19 участвует врожденный и адаптивный иммунитет, которые обеспечивают ответ организма на триггеры. Одним из ключевых звеньев молекулярных механизмов иммунного ответа является активация воспалительной инфламмосомы нуклеотид-связывающего домена олигомеризации (NOD)-подобного рецептора семейства пириновых доменов 3 (NLRP3) под действием вирусных белков, сигналов повреждения (DAMPs) и окислительного стресса, приводящая к высвобождению интерлейкинов (IL) IL-1 β и IL-18. Провоспалительные цитокины усиливают миграцию в очаг воспаления иммунных клеток, избыточная экспрессия которых может привести к усилению воспалительной реакции, замедлению процессов восстановления организма после инфекции. Активации NLRP3 отводится ключевая роль в развитии пироптоза, усугублении инфекционного процесса [9; 87; 107; 143].

Следует отметить, что механизмы воспалительного процесса при сочетанной патологии БА и COVID-19 легкого течения в научной литературе освещены недостаточно. В большинстве работ рассматриваются особенности воспаления течения астмы в острой фазе COVID-19, в то время как данные о патофизиологических механизмах течения БА в постковидном периоде немногочисленны.

Мало изучено влияние активации NLRP3 в острый период инфекции на долгосрочные изменения у больных БА легкой степени тяжести. Недостаточно освещена роль NLRP3 в постковидном периоде у больных БА. Выводы о влиянии

COVID-19 на течение БА носят противоречивый характер. В одних исследованиях подчеркивается безопасность инфекции для пациентов с БА, в других приводятся данные об устойчивом ухудшении течения заболевания и повышении потребности в ингаляционных кортикостероидах (ИГКС) [9; 96; 97; 111]. До настоящего времени отсутствуют исследования, содержащие комплексный анализ инфламмасом-обусловленных механизмов воспаления, системы гемостаза, морфологических характеристик иммунокомпетентных клеток (ИКК) на этапах выздоровления и в отдаленном периоде у больных астмой, перенесших SARS-CoV-2-инфекцию. Пристального внимания заслуживает контингент пациентов с легкой формой астмы, поскольку интенсификация воспалительного процесса может способствовать утяжелению течения заболевания. Отсутствие подобной информации является существенным пробелом в понимании течения заболевания после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции у данного контингента лиц. Актуальность и направление данного исследования продиктованы также необходимостью уточнения роли молекулярных маркеров инфламмасом-обусловленного воспаления в формировании нарушений иммунной системы у больных астмой, перенесших COVID-19, в отдаленном периоде.

Цель исследования – установить особенности патогенетических механизмов системного воспаления у больных бронхиальной астмой легкой степени тяжести, перенесших COVID-19, на основании оценки NLRP3-обусловленных процессов, морфологического состояния иммунокомпетентных клеток, коагуляционных характеристик периферической крови. Выделить биомаркеры для прогноза риска формирования пролонгированного системного воспаления у больных БА в постковидном периоде.

Для реализации поставленной цели последовательно решались следующие **основные задачи:**

1. Определить содержание маркеров, ассоциированных с течением SARS-CoV-2-инфекции (С-реактивного белка (СРБ), D-димера, нейтрофильных

внеклеточных ловушек (NETs), реактивных лимфоцитов, крупных тромбоцитов) в периферической крови у больных БА, перенесших COVID-19, в ранний период реконвалесценции, через 1, 3 и 6 месяцев после перенесенного заболевания.

2. Оценить концентрацию провоспалительных и пироптоических медиаторов (IL-1 β и IL-18, IL-6 и гасдермина D (GSDMD)) в сыворотке крови у больных БА, перенесших COVID-19, в ранний период реконвалесценции, через 1, 3 и 6 месяцев после перенесенного заболевания.

3. Изучить содержание инфламмасомной молекулы NLRP3 в периферической крови у больных БА, перенесших COVID-19, в ранний период реконвалесценции, через 1, 3 и 6 месяцев после перенесенного заболевания.

4. Установить особенности взаимодействий между параметрами системного воспалительного процесса у больных БА после перенесенного COVID-19.

5. Выделить биомаркеры пролонгированного системного воспаления и их референсные пределы у больных бронхиальной астмой, перенесших COVID-19.

Научная новизна работы

Впервые на основании комплексного исследования получены данные о состоянии морфологических, гематологических, биохимических, коагулологических параметров, цитокинового профиля у пациентов с COVID-19 и больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19, в периоде ранней реконвалесценции, через 1, 3, 6 месяцев.

Впервые получены данные о влиянии перенесенного COVID-19 легкого течения на активацию NLRP3 и GSDMD, приводящую к интенсификации воспалительного профиля с пиком в первые 3 месяца.

Установлена роль NLRP3 и GSDMD в механизмах системного воспаления, заключающаяся в активации процессов нетоза, пироптоза и гиперкоагуляции у больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 в легкой форме на разных сроках постковидного периода.

Впервые установлены маркеры пролонгированного течения воспалительного процесса (NLRP3, GSDMD) у больных БА легкой степени тяжести, в отдаленном периоде после перенесенного COVID-19.

Полученные данные являются основой для научного обоснования механизмов воспалительного ответа в постковидном периоде и диагностики риска формирования гипервоспалительного процесса у больных БА.

Теоретическое и практическое значение работы

Теоретическая значимость исследования заключается в раскрытии клеточно-молекулярных механизмов формирования системного воспалительного процесса у больных БА легкой степени тяжести, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию, в периоде ранней реконвалесценции и в динамике через 1, 3, 6 месяцев. Определена роль инфламмосомной молекулы NLRP3 и пироптоического медиатора GSDMD в развитии системного воспаления, заключающаяся в активации процессов нетоза, пироптоза и гиперкоагуляции у больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 в легкой форме, на разных сроках постковидного периода. Важное практическое значение имеет выделение биомаркеров пролонгированного системного воспаления NLRP3, GSDMD и установление их референсных пределов у больных БА, перенесших COVID-19. Выявленные уровни биомаркеров (NLRP3 > 0,04 нг/мл, GSDMD > 0,38 нг/мл) являются дополнительными диагностическими критериями оценки риска формирования пролонгированного воспалительного процесса при астме легкой степени тяжести после перенесенного COVID-19.

Материалы диссертационного исследования защищены 2 свидетельствами о государственной регистрации патентных продуктов РФ. Разработан и внедрен в научную, учебную и медицинскую практику способ прогнозирования на раннем этапе реконвалесценции риска развития пролонгированного воспалительного процесса у больных бронхиальной астмой легкой степени тяжести (Патент РФ № 2849269 от 23.11.2025).

Методология и методы исследования

Работа проводилась в дизайне открытого сравнительного исследования в рамках темы НИР Владивостокского филиала федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» - Научно-исследовательского института медицинской климатологии и восстановительного лечения «Патогенетические механизмы заболеваний респираторной системы и коморбидных состояний» (Рег. № 124040100032-3). Проводилась на базе лаборатории биомедицинских исследований Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИ МКВЛ.

При проведении исследования соблюдались правила надлежащей практики (Good Clinical Practice) и принципы Хельсинкской декларации (пересмотр 2024). Протокол клинического исследования одобрен этическим комитетом Владивостокского филиала ДНЦ ФПД - НИИ МКВЛ (протокол № 15 от 27.12.2021 г.). Пациенты включались в исследование после подписания добровольного информированного согласия.

В качестве объекта исследования рассматривался системный воспалительный процесс. Предметом исследования являлись инфламмасома NLRP3, GSDMD и их связь с цитокинами, клетками периферической крови (реактивные лимфоциты, крупные тромбоциты), NETs-ловушками у больных БА легкой степени тяжести частично контролируемого течения на разных сроках реконвалесценции после перенесенного COVID-19.

В качестве биоматериала для исследования использована периферическая кровь 104 больных бронхиальной астмой легкой степени тяжести и 36 пациентов без бронхолегочной патологии. Изучали морфологию лейкоцитов, определяли уровень D-димера, С-реактивного белка, иммуноглобулинов М и G (IgM, IgG) к SARS-CoV-2, гасдермина D, инфламмасомной молекулы NLRP3, провоспалительных цитокинов с использованием тест-систем для биохимического, коагулологического, гематологического, иммуноферментного анализа у больных

бронхиальной астмой и COVID-19, у пациентов с верифицированным диагнозом COVID-19 легкой степени тяжести и в контрольной группе. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили исследование биоматериала верхних дыхательных путей (мазок из носо- и ротоглотки) для качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2. Для обработки данных использована программа 1С ЛИС «Алиса». Исследования проведены в раннем периоде реконвалесценции, через 1, 3 и 6 месяцев после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы «Statistica 10.0 для Windows».

Положения, выносимые на защиту

1. Активация инфламмасом-обусловленных процессов, сопровождаемая изменениями морфологических показателей иммунокомпетентных клеток и реологических параметров крови, патогенетически значима в развитии системного воспаления в течение шести месяцев у пациентов с БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 в легкой форме.

2. Формирование устойчивого воспалительного фенотипа у больных бронхиальной астмой легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 в легкой форме, характеризуется возрастанием уровня цитокинов IL-1 β , IL-18, С-реактивного белка, скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и детерминировано активацией инфламмасомного пути (NLRP3) и механизмов пироптоза (повышение уровня гасдермина D).

3. Повышение содержания NLRP3 ($> 0,04$ нг/мл) и гасдермина D ($> 0,38$ нг/мл) у больных БА легкой степени тяжести, перенесших в легкой форме COVID-19, в раннем периоде реконвалесценции коррелирует с возрастанием уровня биомаркеров воспаления, коагулологических показателей крови, морфологическими нарушениями иммунокомпетентных клеток и служат предикторами риска развития пролонгированного воспалительного процесса.

Степень достоверности результатов и апробация работы

Достоверность результатов исследования подтверждается достаточным количеством наблюдений, однородностью выборки пациентов, соблюдением рекомендаций для проведения медицинских и биологических исследований на всех этапах работы, использованием современных высокоточных методов исследования, сертифицированного лабораторного оборудования и реактивов, проведением расчетов с помощью лицензированных программ. Выводы соответствуют поставленной цели и получены в результате комплексного анализа данных.

Основные положения исследования были доложены и обсуждены на Симпозиуме с международным участием «Современные инновационные технологии в медицине» в рамках XVIII Тихоокеанского медицинского Конгресса (2022, 2023) (г. Владивосток); XXVI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье» (2022) (г. Санкт-Петербург); X съезде врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока с международным участием (2023) (г. Новосибирск); X Юбилейном Конгрессе Евроазиатского общества по инфекционным болезням (2024) (г. Санкт-Петербург); XXI Тихоокеанском медицинском Конгрессе – «Междисциплинарные аспекты диагностики и терапии аллергических и иммуноопосредованных заболеваний в клинических рекомендациях» (2024 г) (г. Владивосток); XXII Тихоокеанском медицинском Конгрессе – «Молекулярная медицина: новые горизонты для клинической практики» (2025) (г. Владивосток).

Личный вклад автора

Личный вклад автора составляет более 70% и состоит в аналитической обработке современной научной литературы, организации научного исследования, выполнении клинических, биохимических, коагулологических, иммуноферментных, ПЦР исследований с использованием лабораторного

оборудования, обработке и интерпретации полученных данных, подготовке публикаций, оформлении текста диссертации в планировании научного исследования, разработки общей концепции и дизайна исследования, что автором осуществлялось совместно с научным руководителем.

Публикация результатов исследования

По результатам исследования опубликовано 20 печатных работ, из них 4 в журналах, определенных перечнем Высшей Аттестационной Комиссии Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Благодарности

Автор выражает благодарность сотрудникам клинического подразделения Владивостокского филиала федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» - Научно-исследовательского института медицинской климатологии и восстановительного лечения, сотрудникам Отделения (центра) лабораторной диагностики Медицинского комплекса Дальневосточного Федерального университета, заслуженному врачу РФ, пульмонологу Кудрявцевой В.А. за консультативную помощь и вклад в набор пациентов с БА.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 118 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, глав собственных исследований и обсуждения результатов исследования, выводов, списка сокращений и списка литературы. Диссертационное исследование содержит 31 рисунок, 3 таблицы. Список литературы включает 166 источников, из них 103 – зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о патофизиологических механизмах бронхиальной астмы

Распространенность бронхиальной астмы в настоящее время в разных странах мира колеблется от 1% до 18% [100; 151]. Согласно последним отчетам Global Burden of Disease (GBD) и экспертным оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), число людей, страдающих БА, в мире оценивается в диапазоне от 262 до 350 миллионов человек. [7; 113]. По данным официальной статистики в РФ зарегистрировано порядка 1,5 млн больных БА, однако, по результатам эпидемиологических исследований, число пациентов с БА может достигать 10 млн человек [154].

Известно, что БА – гетерогенное заболевание и характеризуется как хроническое воспаление дыхательных путей, сопровождающееся гиперсекрецией слизи, бронхоспазмом, наличием ограничения скорости воздушного потока на выдохе. На протяжении последних десятилетий наше понимание патогенеза БА претерпело значительную эволюцию. От узконаправленного взгляда на локальное воспаление в бронхах современная наука дошла до признания БА системным заболеванием, оказывающим комплексное влияние на весь организм [14; 46; 52; 55; 83; 96; 97; 104; 111; 145].

Установлено, что системное воспаление при бронхиальной астме тесно связано с дисбалансом субпопуляций Т-хелперов и продукцией определённых интерлейкинов. Ключевую роль в этом процессе играют Т-хелперные (Th) клетки 2 и 17 типа, а также цитокины, которые они продуцируют [13].

Известно, что интерлейкины играют центральную роль в развитии системного воспаления при БА, определяя фенотип заболевания, его тяжесть и ответ на лечение [130; 145; 159]. В патогенезе БА играют важную роль интерлейкины IL-1 β , IL-6 и IL-18, участвуя в развитии системного и локального воспаления и в регуляции иммунных ответов. IL-1 β активно продуцируется нейтрофилами и макрофагами, участвует в стимуляции синтеза других провоспалительных медиаторов, способствует выработке фактора некроза опухоли α , IL-6, низкомолекулярных медиаторов воспаления, а также хемокинов, которые рекрутируют нейтрофилы в зону воспаления, усиливает гранулоцитопоз и способствует высвобождению нейтрофилов из костного мозга [67; 107; 143; 155]. Он стимулирует макрофаги и дендритные клетки, что усиливает их способность представлять антигены Т-лимфоцитам, а также IL-1 β может усиливать дифференцировку CD4⁺ Т-клеток в Th17-клетки, особенно в присутствии IL-6. Установлено, что именно уровень IL-1 β коррелирует с тяжестью БА [27; 91; 96; 97].

IL-6 продуцируется макрофагами, моноцитами, Т- и В-лимфоцитами, фибробластами, эпителиальными и другими клетками. Его роль при БА включает участие в нейтрофильном воспалении. При неаллергической БА и нейтрофильном фенотипе заболевания отмечается повышенная спонтанная и индуцированная продукция IL-6 [57]. При аллергическом воспалении IL-6 стимулирует пролиферацию В-лимфоцитов и синтез IgE. Есть данные о том, что IL-6 может способствовать повреждению бронхолёчной ткани, что приводит к ремоделированию бронхов и потере эластичности эпителия [47]. Под действием IL-6 гепатоциты вырабатывают СРБ, фибриноген и другие белки. При тяжёлом течении БА альвеолярные макрофаги, которые играют ключевую роль в патогенезе, секретируют IL-6.

В развитии как Th2-, так и не-Th2-воспаления при БА участвует IL-18. Его роль заключается в способствовании хроническому воспалению дыхательных путей, гиперреактивности дыхательных путей и выделению слизи [63]. Есть данные

о способности IL-18 усиливать синтез как интерферона-гамма (IFN- γ), так и IL-4. IL-18 рассматривается как потенциальная терапевтическая мишень при тяжёлой астме, особенно в случаях, связанных с инфекциями или аутоиммунными реакциями дыхательных путей. IL-1 β , IL-6 и IL-18 часто действуют в синергии, усиливая воспалительный ответ [15; 135]. Например, IL-1 β и IL-6 могут совместно способствовать дифференцировке Th17-клеток, что приводит к усилению нейтрофильного воспаления. Эти цитокины активируют сигнальные пути (например, NF- κ B), которые контролируют экспрессию генов, связанных с воспалением [13; 109].

Доказано, что при утяжелении течения БА уровни вышеописанных цитокинов могут повышаться не только в дыхательных путях, но и в крови, что отражает генерализацию воспалительного процесса [58]. Их концентрация может коррелировать с тяжестью заболевания, частотой обострений и ответом на терапию.

Таким образом, IL-1 β , IL-6 и IL-18 играют значимую роль в поддержании воспаления при БА, влияя на клеточный состав инфильтрата, активацию иммунных клеток и ремоделирование дыхательных путей. Установлено, что воздействие триггеров на слизистую оболочку бронхов приводит к развитию воспаления, гиперреактивности, бронхоконстрикции и приступам удушья [20; 96; 97]. Показано, что хроническое воспаление способствует повышению сосудистой проницаемости, отеку слизистой оболочки, гиперсекреции слизи и стойкой гиперреактивности бронхов. Известно, что при БА важную роль играет нарушение мукоцилиарного клиренса, что создает условия для персистенции инфекционных агентов и воздействия irritantов [36]. В этих условиях воспалительные клетки (преимущественно нейтрофилы) активно высвобождают лизосомальные ферменты и агрессивные радикалы, создавая условия для хронического повреждения тканей бронхов. Дисбаланс вегетативной (симпатической и парасимпатической) иннервации дополнительно поддерживает воспалительный процесс, провоцируя гиперреактивность слизистой, бронхоконстрикцию и обструктивный синдром [8].

В результате сочетанного действия медиаторов на ткани (гистамина, простагландинов и лейкотриенов из тучных клеток, а также лейкотриенов и активных форм кислорода из эозинофилов) развиваются бронхоспазм и выраженное воспаление, что проявляется сужением просвета бронхов и отеком их слизистой оболочки (рисунок 1) [147].

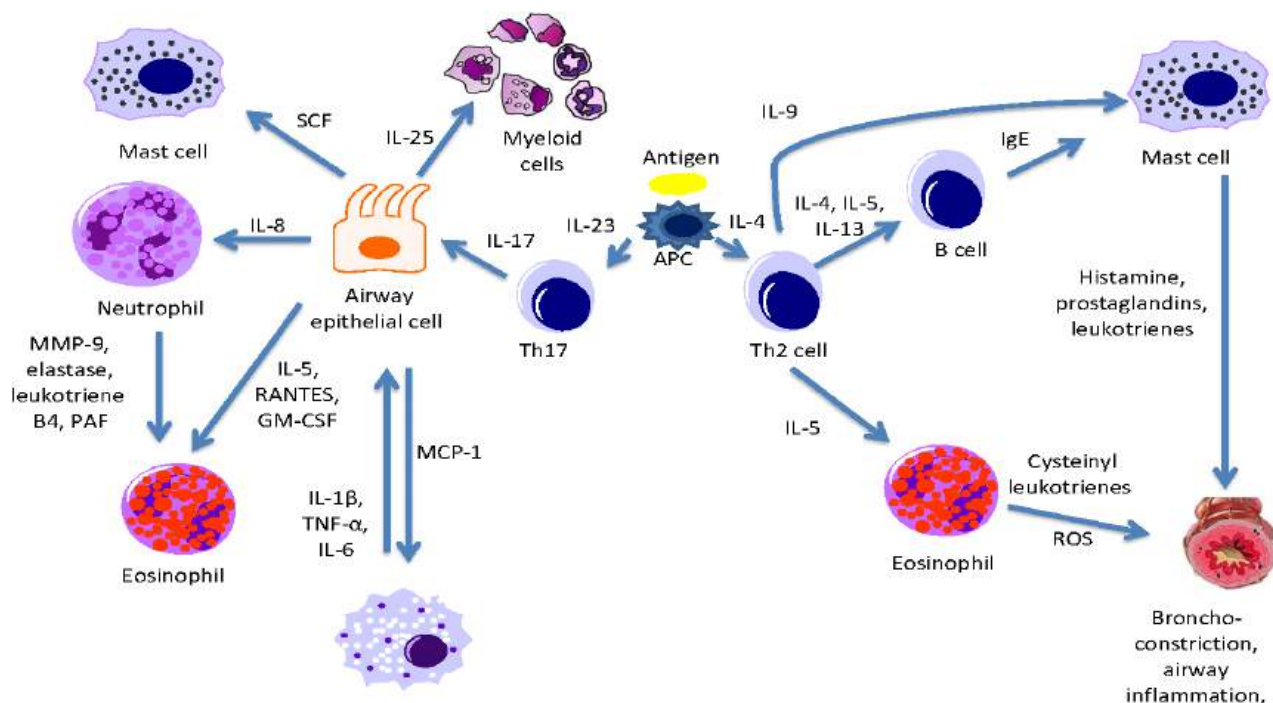


Рисунок 1 – Патогенетический процесс в дыхательных путях при астме [147]

Дисбаланс в популяциях иммунных клеток, повышение уровня цитокинов приводят к нарушению иммунного гомеостаза и снижению противовирусного иммунитета [31]. Вирусные инфекции респираторного тракта являются одними из основных триггеров обострений БА. При этом наблюдается нарушение активации интерферонового ответа и снижение эффективности элиминации вирусов [146; 148].

1.2. Иммунологические механизмы развития нарушений у лиц, перенесших COVID-19

COVID-19 за последние годы внес существенные изменения в представления о патогенезе инфекционных заболеваний. В связи с быстрым распространением этого вируса по всему миру и с большим количеством летальных исходов, Всемирная организация здравоохранения объявила COVID-19 глобальной пандемией [88; 92; 105; 142; 160].

В патогенезе COVID-19 выделяют этапы проникновения вируса в организм, адгезии и проникновения в клетку, внутриклеточной репликации вируса, ведущей к повреждению органелл. Ответ иммунной системы сопровождается выбросом цитокинов, ведущим к системному воспалению (дисфункции микроциркуляторного русла в виде системного васкулита, гиперкоагуляции с поражением внутренних органов), нарушению работы периферической и центральной нервной системы, приводящему к полиорганной недостаточности [109]. Взаимодействие вируса SARS-CoV-2 с соматической клеткой происходит за счет структурного S-белка находящегося на поверхности вируса и рецептора ACE2 клетки-мишени (рисунок 2).

Известно, что SARS-CoV-2 имеет характерные «шипы», содержащие поверхностный белок S. Белок S представляет собой гликопротеин, который взаимодействует с рецептором ACE2, расположенным на поверхности клеток хозяина. Через этот рецептор SARS-CoV-2 осуществляет свое проникновение внутрь клетки. Трансмембранная сериновая протеаза 2 (TMPRSS2) необходима для активации белка S путем его расщепления, облегчающего процесс проникновения вируса в клетку [101].

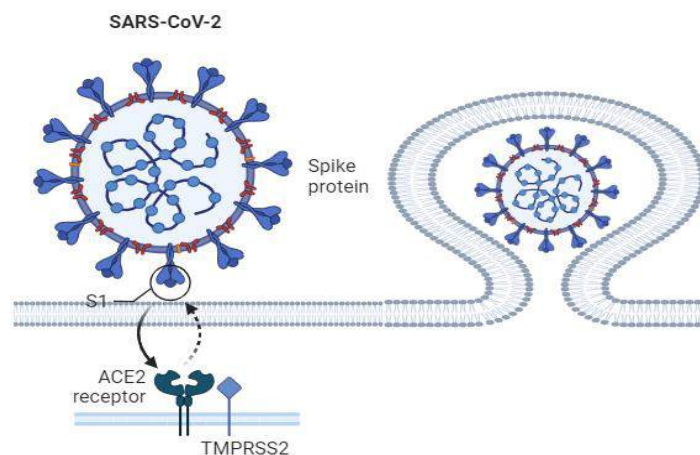


Рисунок 2 – Схема проникновения SARS-CoV-2 в клетку с помощью рецепторов: spike protein вируса и ACE2 клетки хозяина

Установлено, что высокая экспрессия рецептора ACE2 на разных типах клеток организма способствует успешному связыванию с белком S SARS-CoV-2, обеспечивая внедрение и последующую репликацию вируса. Дальнейшее попадание вируса в кровоток провоцирует иммунные клетки вырабатывать провоспалительные цитокины, избыток которых вызывает цитокиновый шторм, запускает активный процесс пироптоза [127; 141]. Цитокины и хемокины способствуют развитию локального воспаления, ухудшая общее состояние пациента. Клинические проявления COVID-19 определяются множеством факторов, включая структуру вируса, особенности его генома и возможные мутации, а также индивидуальные реакции иммунной системы [110].

В конце 2020 года возросло число сообщений о симптомах, характерных для постковидного синдрома: пациенты жаловались на общую слабость, одышку, ухудшение самочувствия и психоэмоциональные расстройства [5; 158]. Ряд исследований показал, что у 80-87% пациентов, выписанных из стационара, симптомы сохраняются. Наиболее распространенными среди них являются усталость (53%), одышка (43%), суставные боли (27%) и дискомфорт в груди (22%) [35; 39; 157]. Специалисты пришли к заключению, что указанные явления могут

свидетельствовать о формировании системных нарушений, известных как постковидный синдром. ПКС внесен в Международную классификацию болезней под кодом U09.9 «Состояние после COVID-19 неуточненное», который также включает постковидное состояние. Особое внимание уделяют пациентам с сопутствующей бронхолегочной патологией, поскольку у них наблюдается замедленное восстановление после перенесенной коронавирусной инфекции [42].

1.3. Системный воспалительный ответ у больных бронхиальной астмой, перенесших COVID-19

Актуальной проблемой остается малоизученный патогенетический механизм развития продолжительного системного воспалительного процесса у больных астмой, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию [40].

Согласно клиническим рекомендациям в период широкого распространения SARS-CoV-2 инфекции, пациенты с бронхолегочной патологией относятся к группе риска. Вопрос о том, как протекает выздоровление от инфекции на имеющемся фоне хронического прогрессирующего заболевания, такого как бронхиальная астма, остается открытым. Исследования показывают, что у данного контингента лиц наблюдаются негативные процессы в виде удлинения сроков выздоровления [64; 68; 73; 86; 87]. В систематическом обзоре «Post-COVID-19 Symptoms in Adults with Asthma» зафиксированы постковидные нарушения у лиц с БА в виде одышки при физической нагрузке (75,4%) и в покое (34,4%), кашля (2,1%), повышенная утомляемость (21,2-65,6%). По некоторым данным у астматиков риск таких нарушений в 1,5-2 раза выше, чем у людей без астмы [43].

Ряд исследователей высказывают предположение, что при БА слизь, выстилающая эпителий, может служить физическим барьером, блокирующим вторжение вируса; рибонуклеазы, высвобождаемые активированными эозинофилами, могут действовать на вирусный геном [132; 139]. Кроме того,

регулярное использование низких доз ингаляционных глюкокортикостероидов может ослабить воспаление дыхательных путей, вызываемое SARS-CoV-2 [122]. Тем не менее, накапливаются данные, свидетельствующие о том, что у больных БА имеет место тяжелое и длительное течение COVID-19, обусловленное воспалительной реакцией, затрагивающей не только бронхолегочный комплекс, но и другие системы организма [125].

Иммунная система играет центральную роль в патогенезе COVID-19. Причём в процесс вовлечены как врождённый, так и адаптивный (специфический), иммунитет (рисунок 3).

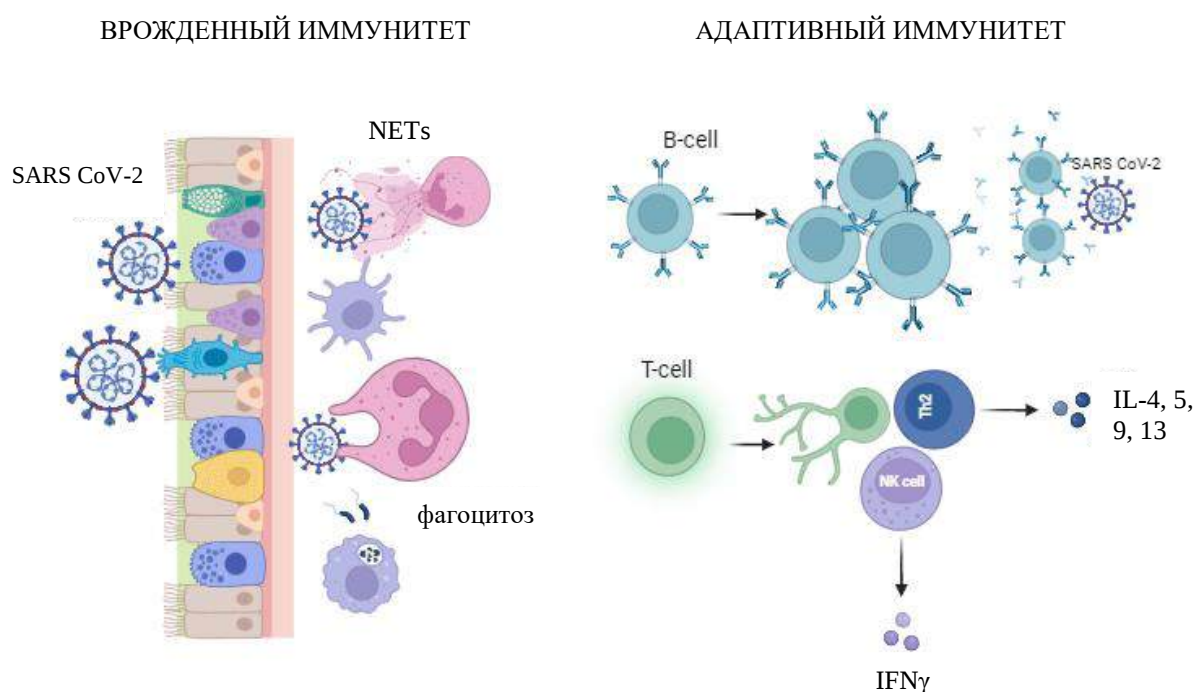


Рисунок 3 – Иммунный ответ организма на проникновение вируса SARS-CoV-2: роль врождённого и адаптивного звеньев иммунитета

Врожденный иммунитет обеспечивает немедленный, хотя и неспецифический ответ организма, быстро обезвреживая и устраняя патоген после попадания в организм. Это проявляется через активизацию фагоцитирующих клеток, образование нейтрофильных ловушек и стимулирование активности

лимфоцитов. Научные исследования показывают наличие изменений в работе иммунной системы у больных с бронхиальной астмой, инфицированных COVID-19 [156; 162]. Макрофаги, выступая первой линией защиты врожденного иммунитета, продуцируют разнообразные цитокины и хемокины [140]. Эти воспалительные молекулы активизируют нейтрофилы, способствуя выделению активных форм кислорода и формированию внеклеточных ловушек нейтрофилов (NET) и моноцитов (MET) [166]. Нейтрофильные экстрацеллюлярные ловушки представляют собой структурированные комплексы ядерных компонентов, цитоплазматического содержимого и гранул, содержащих мощные протеазы, предназначенные для нейтрализации микроорганизмов. Под микроскопом окрашенный препарат крови демонстрирует NET-ловушку в виде сети тонких розоватых волокон (рисунок 4).

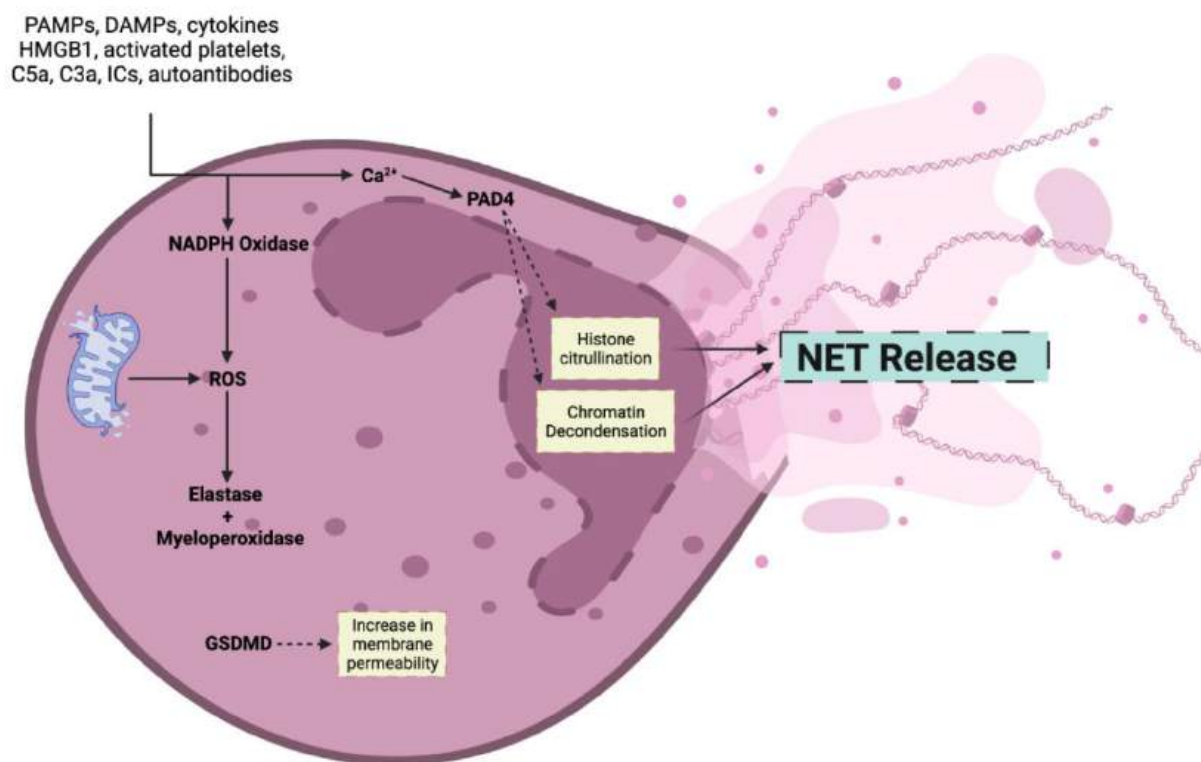


Рисунок 4 – Формирование нейтрофильной ловушки [66]

В последние годы внеклеточные нейтрофильные ловушки интересны не только как фактор врожденного иммунитета, их также изучают с позиции участия в патогенезе различных заболеваний [3]. Очевидно то, что неконтролируемое избыточное или недостаточное формирование NET ловушек может иметь серьезные последствия. Нейтрофилы выбрасывают клейкую сеть своей ДНК в процессе нетоза, тем самым создавая благоприятную среду для формирования микротромбов с заключёнными в них вирусными частицами и в норме скрытыми в клетке потенциальными аутоантигенами, с последующим развитием локальной ишемии, фиброза и аутоиммунного воспаления [19; 21; 54].

Процесс образования ловушек может быть вызван различными индукторами: микроорганизмами, бактериальными компонентами, активированными тромбоцитами, комплементарными пептидами, аутоантителами, IL-8 и т.д. [166]. Антимикробная функция внеклеточных нейтрофильных ловушек связана с уничтожением микроорганизмов, а также с предотвращением их распространения из точки входа (рисунок 5).

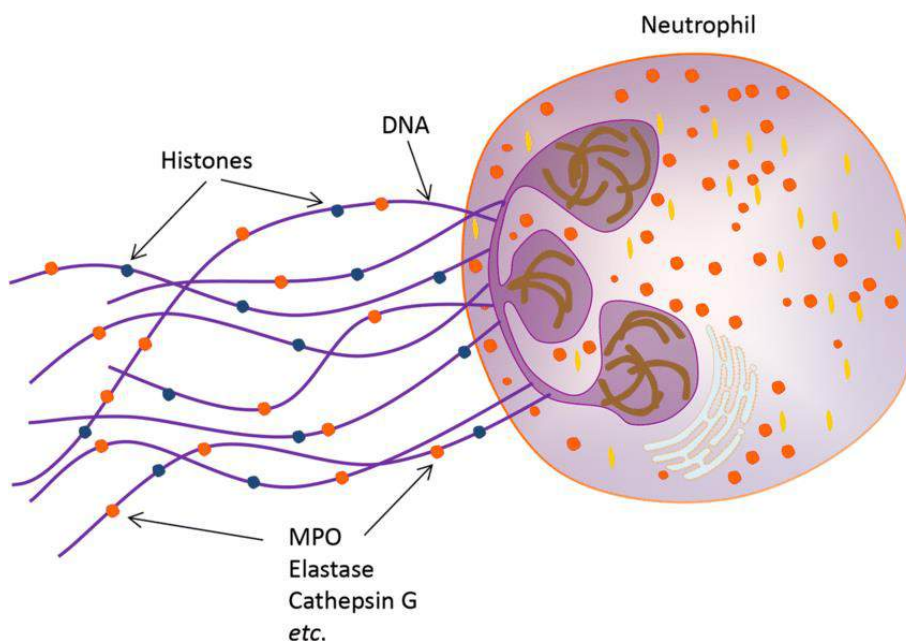


Рисунок 5 – Лейкоциты в крови образуют NET-ловушки, внеклеточные ловушки нейтрофилов для элиминации коронавируса [150]

Однако вирусы, продуцирующие нуклеазы, могут расщеплять ловушки и высвобождаться из них, что способствует распространению вируса за пределы места внедрения [166]. Показано, что появление значительного количества нейтрофильных и моноцитарных ловушек у пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию, ассоциировано с тяжестью течения инфекции [85].

Адаптивная система иммунитета действует медленно, но целенаправленно. Она формирует точный иммунный ответ на вирус SARS-CoV-2 посредством выработки антител и активации Т-клеток, одновременно создавая долговременную иммунную память. Клетки, активированные вирусом, стимулируют множественные воспалительные пути, производя большое количество цитокинов и хемокинов. Это приводит к гипервоспалению и цитокиновому шторму, который, с одной стороны, препятствует распространению вируса в организме, но также способствует повреждению тканей, вызывая острый дистресс-синдром и полиорганную недостаточность [48; 89]. Данные процессы в виде массовой гибели клеток крови лейкоцитарного ряда зачастую прослеживаются в периферической крови пациентов с SARS-CoV-2 инфекцией. Различные механизмы гибели клеток имеют характерные отличительные черты: меняется внешний вид и структура клетки, внутренние команды и белки, управляющие процессом «самоликвидации», итог для функционирования организма (защитный или является частью механизма развития патологии) (рисунок 6).

Известно, что одним из механизмов длительного воспалительного патологического процесса является пироптоз – особый тип клеточной гибели, ассоциированный с воспалением. В ходе пироптоза каспаза-1 запускает процесс деструкции клеточной мембраны путем формирования пор. Данный процесс сопровождается неконтролируемым выходом цитоплазматических факторов в межклеточный матрикс, что служит сигналом для активации иммунного ответа [50; 134].

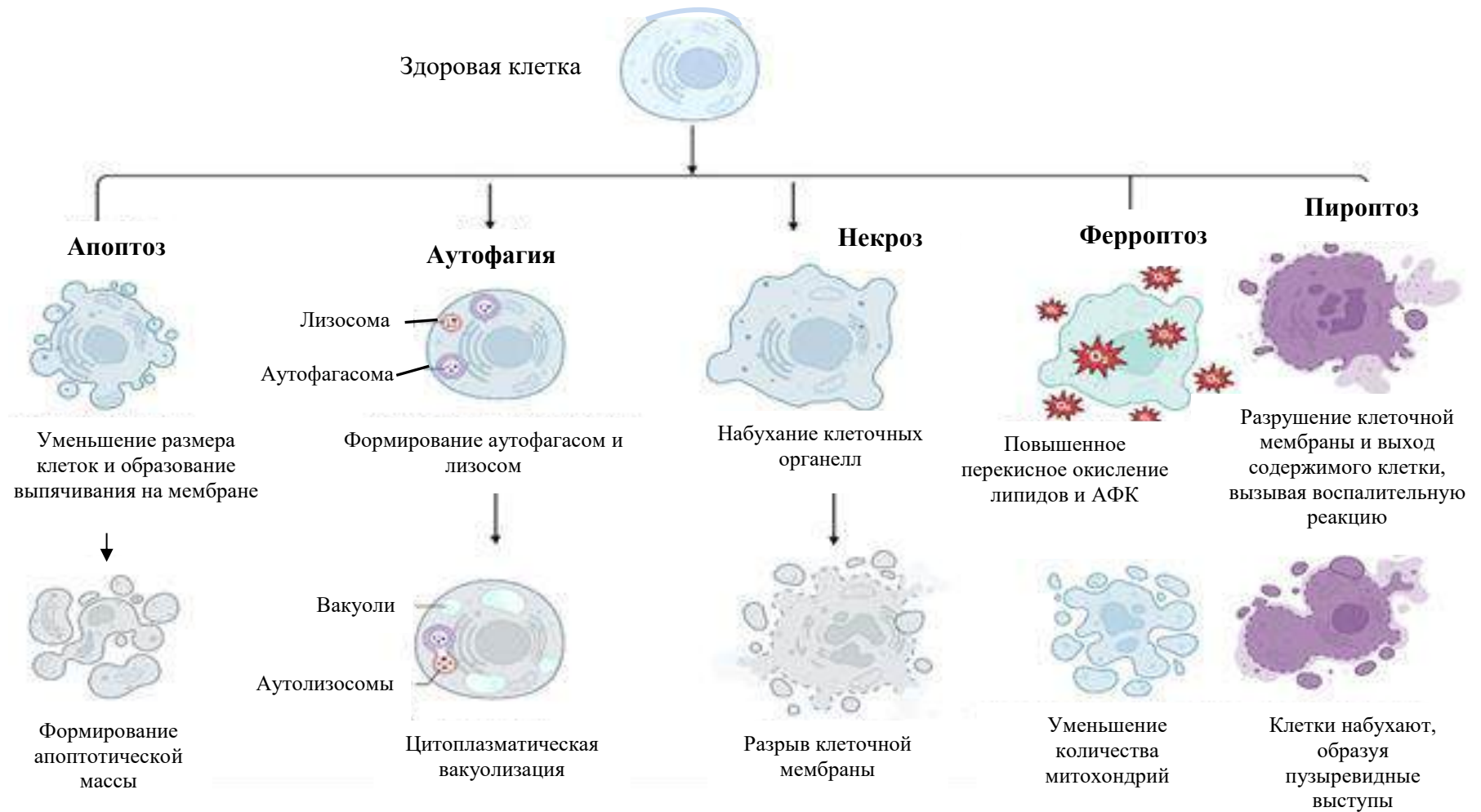


Рисунок 6 – Обзор различных механизмов гибели клеток и их ключевых характеристик [126]

Содержание нейтрофильных ловушек в периферической крови пациентов с COVID-19 сопровождается высоким содержанием интерлейкинов 1β , IL 6, IL18, и воспалительных маркеров, в частности СРБ. Каждый из интерлейкинов выполняет специфическую роль в регуляции воспалительных и иммунных процессов организма. Интерлейкин- 1β индуцирует синтез других провоспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухоли- α и IL-6, а также низкомолекулярных медиаторов воспаления – оксида азота и простагландинов [86]. Помимо этого, под влиянием IL- 1β нейтрофилы привлекаются в очаг воспаления. IL- 1β также играет роль в развитии и поддержании воспалительного ответа, участвуя в регуляции адаптивного противоинфекционного иммунитета [91]. IL-6 обладает выраженными плеiotропными свойствами, принимая участие, как в активации иммунного ответа, так и процессах регенерации тканей.

Он стимулирует пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, способствует созреванию плазматических клеток и продукции иммуноглобулинов, а также индуцирует синтез белков острой фазы, включая С-реактивный белок [60]. При хроническом воспалении его постоянная экспрессия может способствовать персистенции воспалительного процесса и развитию системных нарушений. IL-18 обладает плеiotропными свойствами и способен стимулировать широкий спектр клеточных популяций, участвующих в воспалении [63]. Внутри клетки IL-18 синтезируется в неактивной форме и подвергается процессингу с участием каспазы-1, что приводит к образованию зрелой биологически активной молекулы. Активированный IL-18 способствует индукции синтеза интерферона- γ , тем самым усиливая противоинфекционную защиту организма [6]. Совокупность функциональной активности IL- 1β , IL-6, IL-18 отражает их ключевое значение в координации врожденного и адаптивного иммунитета. Интерлейкины синтезируются клетками иммунной системы, и индуцируются разными патогенными стимулами

(pathogen-associated molecular patterns – PAMPs), активирующими Toll-подобные (TLR) цитозольные NOD-подобные рецепторы – NLR) [69].

Участие инфламмасомы в системном воспалении при астме и COVID-19 представляет значительный научный интерес. Механизмы ее участия в развитии пролонгированного воспалительного ответа у больных астмой легкой степени тяжести, перенесших COVID-19, мало изучены и требуют детального рассмотрения.

1.4 Современные представления о молекулярных механизмах формирования инфламмасом-обусловленного ответа

Инфламмасомы – это мультибелковые комплексы, которые активируются в ответ на сигналы повреждения (DAMPs) или патогенные сигналы (PAMPs) [33]. В состав инфламмасомы входит сенсор (NLRP/NOD-доменом), адаптер (ASC- apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) и прокаспаз-1 [69; 70]. Инфламмасомы содержат такие белки как каспаза- 1, PYCARD, каспаза-5, AIM2 (ALR-лектиновые) рецепторы [49]. Состав инфламмасомы зависит от активатора, который запустил ее образование (рисунок 7).

Процесс формирования и активации инфламмасомы:

1. Взаимодействие лиганда с NLRP3. Лиганд, который связывается с NLRP3. NLRP3 состоит из трёх ключевых доменов: leucine-rich repeat (LRR) – взаимодействует с патогенными структурами и запускает активацию рецептора; nucleotide-binding domain (NBD) – участвует в гидролизе АТФ, что важно для дальнейшей сборки инфламмасомы; pyrin domain (PYD) – обеспечивает связывание NLRP3 с белком ASC [70].

2. Сборка белкового комплекса. После активации NLRP3 происходит взаимодействие с белком apoptosis-associated speck-like protein containing (ASC): ASC содержит два домена: PYD связывается с NLRP3 и caspase activation (CARD)

обеспечивает связь с прокаспазой-1. Домены PYD и CARD работают как «адаптеры», объединяя NLRP3 и прокаспазу-1 в единый комплекс.

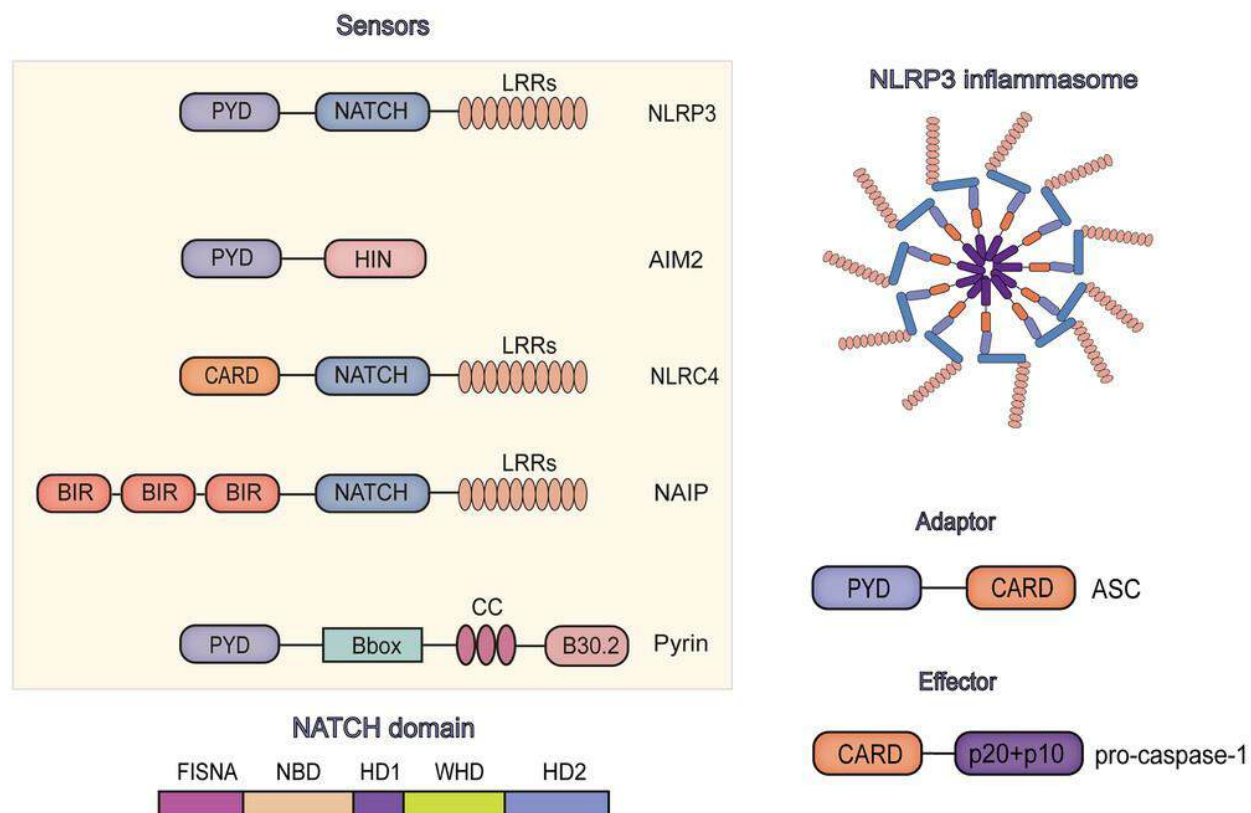


Рисунок 7 – Схематичное изображение инфламматомы NLRP3 [90]

Примечание: LRR, NBD, PYD – домены NLRP3; CARD – домен ASC, связывающий NLRP3 с прокаспазой-1; ASC – адаптерный белок (центральная часть «звезды»); ProCaspase-1 – неактивная форма фермента (в центре комплекса); Ligand – молекула, запускающая активацию NLRP3.

3. Формирование «звезды» инфламматомы. Множество молекул NLRP3 и ASC собираются в структуру, напоминающую «звезду»: молекулы NLRP3 располагаются по периферии. В центре – комплекс из ASC и прокаспазы-1. Такая организация обеспечивает высокую активность инфламматомы и ускоряет активацию каспазы-1.

4. Активация каспазы-1. В составе инфламматомы прокаспазы-1 (неактивная форма фермента) преобразуется в активную каспазу-1. Ключевая роль ASC –

удерживать прокаспазу-1 в нужном положении для её активации. После активации каспаза-1 способна расщеплять провоспалительные цитокины.

5. Образование провоспалительных цитокинов. Инфламмасома NLRP3 действует как «датчик» опасности: распознаёт патогены или стрессовые сигналы через лиганд; быстро формирует активный комплекс; запускает каскад реакций, приводящих к воспалению и уничтожению угрозы [109].

Активация инфламматомы – это многоступенчатая защитная реакция клетки, которая имеет несколько путей запуска (рисунок 8).

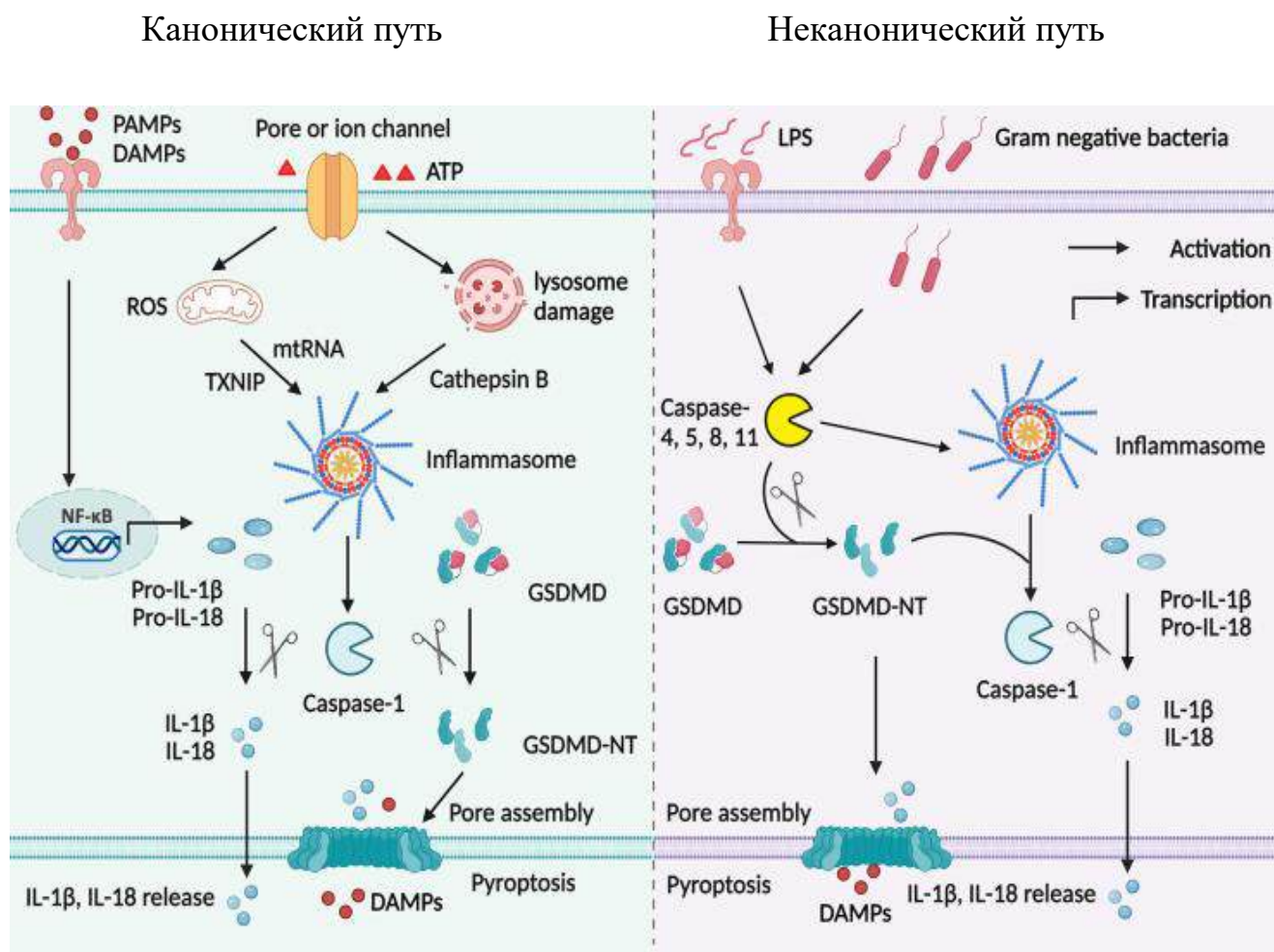


Рисунок 8 – Пути запуска NLRP3 инфламматомы [95]

При классическом пути активации инфламмасомы внешние сигналы в виде фрагментов патогенов или молекул поврежденных тканей связываются с TLR-рецепторами на поверхности клетки. Этот процесс через активацию белка NF- κ B индуцирует секрецию предшественников цитокинов про-IL-1 β и про-IL-18.

Известно, что внутренние сигналы опасности запускают сборку компонентов инфламмасомы в единый комплекс и активируют фермент каспазу-1. Активная каспаза-1 играет роль «молекулярных ножниц». Путем расщепления она формирует активную часть белка GSDMD – GSDMD-NT и превращает предшественники цитокинов в зрелые формы IL-1 β и IL-18. Фрагменты GSDMD встраиваются в оболочку клетки, образуя сквозные поры, через которые секретируются провоспалительные цитокины, сигнализируя об опасности другим клеткам [134].

Выделяют три главных триггера классического пути активации инфламмасомы. Во-первых, ионный дисбаланс, при котором внеклеточный АТФ активирует рецептор P2X7, что вызывает резкий отток калия из клетки, запуская сенсор NLRP3. Во-вторых, физическое повреждение мембраны лизосом (лизосомальный стресс) в случае, если лизосомы не справляются с поглощенными клеткой патогенами (кристаллы мочевой кислоты, амилоид). При этом из разрушенной лизосомы выделяется фермент катепсин В, который провоцирует сборку инфламмасомы. В-третьих, окислительный стресс, обусловленный накоплением активных форм кислорода (АФК) и выходом ДНК из поврежденных митохондрий и активирующий систему защиты.

Известно, что альтернативный (неканонический) путь короче и срабатывает в том случае, когда патогены уже проникли внутрь клетки. Они активируют специфический фермент каспазу-4, которая начинает расщеплять белок GSDMD, создавая мембранную пору. Одновременно с этим она активирует инфламмасому и каспазу-1. В итоге так же, как при классическом пути формируются поры в мембране, происходит выброс воспалительных молекул и гибель зараженной клетки (пироптоз) [50]. Независимо от того, была ли обнаружена угроза через рецепторы снаружи или

внутри клетки, всё сводится к активации каспаз, которые приводят к повреждению мембраны клетки с помощью белка GSDMD и выпускают наружу сигналы воспаления [109].

Адекватная физиологическая активация инфламмасом необходима для защиты от патогенов. Неадекватная гиперреактивная активация связана с развитием аутовоспалительных, сердечно-сосудистых заболеваний, метаболических нарушений, нейродегенеративных изменений, онкологических и инфекционных процессов, хронического воспаления [49; 109].

Инфламмасы в патогенезе бронхиальной астмы. Современные представления о патогенезе БА существенно расширились за последние десятилетия, включив в себя элементы врождённого иммунного ответа, системного воспаления и клеточной гибели [112]. Одним из ключевых молекулярных комплексов, связывающих эти процессы, являются инфламмасы. Их роль в воспалительных заболеваниях дыхательных путей, включая БА, в последние годы активно исследуется.

Установлено, что классический путь активации инфламмасы в легких начинается с воздействия внешних раздражителей (бактерии, вирусы, аллергены, пыль) на эпителий дыхательных путей. Наряду с физическим повреждением формируется ионный дисбаланс и окислительный стресс, каждый из которых участвует в активации инфламмасы NLRP3. В основе развития ионного дисбаланса лежит нарушение целостности клеточных мембран, снижение внутриклеточного уровня АТФ и нарушение работы АТФ-зависимых ионных каналов, активация рецептора P2X7 и выход ионов калия (K^+) из макрофагов в межклеточную жидкость. Физическое повреждение вызывает «лизосомальный стресс» в макрофагах, обусловленный нарушением целостности мембраны лизосомы, и катепсин В выходит в цитозоль. Развитие окислительного стресса связывают с воздействием табачного дыма, озона и смога, вызывающим интенсивное накопление активных форм

кислорода (АФК) в легких, что является прямым сигналом для активации NLRP3 [50]. Последняя активирует каспазу-1, запускающую расщепление GSDMD с последующим образованием пор в мембране клеток и выбросом IL-1 β и IL-18. IL-1 β вызывает интенсивный приток нейтрофилов в легкие. Также он вызывает бронхоспазм. IL-18 стимулирует выработку IgE и усиливает аллергический ответ [63].

Формирование пор в клетках эпителия дыхательных путей повышает проницаемость защитного барьера легких [102]. Через эти поры выходят дополнительные сигналы опасности (алармины), которые привлекают еще большее число иммунных клеток. Клетки эпителия гибнут, обнажая нервные окончания, что делает бронхи гиперчувствительными к любому раздражителю, будь то холодный воздух или запахи [59].

Альтернативный путь активации инфламмасомы при астме через каспазу-11/4/5 включается во время бактериальных обострений, вирусных инфекций. При попадании в дыхательные пути бактерий и вирусов, их токсины напрямую активируют каспазы внутри клеток [41]. Это приводит к массивному пироптозу и развитию тяжелого воспаления при БА.

Таким образом, инфламмасома при астме может рассматриваться в качестве «переключателя» от легкого течения воспаления к тяжелому. Она ответственна за структурную перестройку бронхов, поддерживает гиперреактивность, ассоциирована с тяжёлым течением, частыми обострениями и сниженной чувствительностью к терапии [9; 102; 109], а также с повышенной частотой обострений, в том числе и на фоне вирусных инфекций.

Инфламмасомы в патогенезе COVID-19. Особый интерес вызывает взаимодействие механизмов активации инфламмасом с вирус-индуцированными воспалительными ответами, особенно в контексте пандемии COVID-19. Инфекция SARS-CoV-2 активирует инфламмасому NLRP3 в макрофагах и эпителиальных клетках дыхательных путей, что сопровождается повышенной продукцией IL-1 β , IL-

18, IL-6 и TNF- α . Исследователи отмечали у больных COVID-19 тяжёлого течения усиление экспрессии генов NLRP3, каспазы-1 и GSDMD в периферических моноцитах [93].

Гиперактивация NLRP3 рассматривается как одно из центральных звеньев патогенеза тяжёлого COVID-19 и развития острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) [151]. Активация инфламماسомы NLRP3 при COVID-19 инициируется несколькими факторами. Белок-шип SARS-CoV-2 (S-белок) и вирусные РНК-фрагменты распознаются рецепторами врождённого иммунитета сигнальных путей, стимулируя транскрипционный ядерный фактор (NF- κ B), регулирующий экспрессию компонентов инфламماسомы [115]. Дополнительный стимул для её активации создают митохондриальные активные формы кислорода, нарушение ионного гомеостаза и повреждение эндотелия, что приводит к сборке NLRP3-комплекса и активации каспазы-1 [50]. Результатом становится активная секреция IL-1 β и IL-18, которые усиливают приток нейтрофилов, экспрессию адгезионных молекул и секрецию других цитокинов (IL-6, TNF- α), формируя так называемый «цитокиновый шторм» [2].

Исследования показывают, что активация инфламмасом при COVID-19 тесно связана с повреждением альвеолоцитов, и развитием диффузного альвеолярного повреждения – морфологического субстрата ОРДС [151]. В лёгочной ткани пациентов, умерших от COVID-19, определялись признаки гиперактивации NLRP3 и повышенной экспрессии каспазы-1, вместе с инфильтрацией макрофагов и нейтрофилов (рис 7.). Это сопровождалось обширным пироптозом клеток эпителия, нарушением барьерной функции и развитием гипоксемии [81].

В плазме и бронхоальвеолярных смывах пациентов с тяжёлым течением COVID-19 фиксировались высокие концентрации IL-1 β и IL-18, уровень которых коррелировал с выраженной дыхательной недостаточностью и летальностью [65]. Эти

данные подтверждают ведущую роль инфламмасом-опосредованного воспаления в патогенезе ОРДС, формирующегося при COVID-19.

Роль инфламмасы NLRP3, и гасдермина D в поддержании молекулярных механизмов воспалительного процесса БА и COVID-19.

Анализ литературы показал, что исследования механизмов инфламмасом-обусловленного воспаления у больных БА, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию, ограничены. Фокус исследований сосредоточен на больных БА среднего и тяжелого течения. Выявлено, что перенесённый COVID-19 нередко сопровождается формированием воспалительного фона, который может сохраняться в течение нескольких месяцев после выздоровления и приводить к учащению обострений, усилению симптомов и снижению ответа на терапию [16; 62]. Предполагается, что вирус SARS-CoV-2 способен индуцировать активацию инфламмасом в клетках дыхательных путей и макрофагах и в последующем периоде. Остаточные вирусные белки и повреждённые митохондрии сохраняют потенциал стимуляции NLRP3 через нарушение ионного баланса, реактивные формы кислорода и высвобождение DAMPs [50]. Этот процесс сопровождается хронической активацией каспазы-1 и секрецией IL-1 β и IL-18, что поддерживает локальный воспалительный ответ в бронхиальном эпителии [102]. Исследования показали, что у больных астмой среднего и тяжелого течения наблюдается усиление экспрессии генов NLRP3, ASC и CASP1 в клетках крови и индуцированных макрофагах. Показано, что повышение уровня IL-1 β и IL-18 коррелирует с частотой обострений БА и увеличением уровня С-реактивного белка, ферритина и IL-6 [9; 20]. Это свидетельствует о продолжающемся инфламмасом-опосредованном воспалении даже при отсутствии активной вирусной репликации. При БА IL-18 рассматривается, как маркер активного пироптоического воспаления и перспективная терапевтическая мишень.

Взаимосвязь молекулярных путей БА и SARS-CoV-2 инфекции требует уточнения для оценки рисков формирования пролонгированного

гипервоспалительного процесса. Однако исследования больных БА в отдаленном периоде после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции малочисленны. Особого внимания заслуживает группа пациентов с легкой формой астмы, перенесшая SARS-CoV-2 инфекцию в легкой форме, так как системное воспаление после COVID-19 может провоцировать прогрессирование заболевания и повышение потребности в базисной терапии.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Характеристика объекта исследования

Работа выполнена в дизайне сравнительного исследования на базе лаборатории биомедицинских исследований Владивостокского филиала ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения.

В качестве объекта исследования выбран системный воспалительный процесс у больных частично контролируемой БА легкой степени тяжести, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию легкой степени тяжести.

Диагностика бронхиальной астмы осуществлялась в соответствии с критериями «Глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы» (GINA, 2023) и классификацией заболеваний согласно Международной классификации болезней десятого пересмотра (МКБ-10). Работа выполнялась в соответствии с требованиями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных исследований с участием человека» с поправками 2024 г. и правилами клинической практики в РФ (Приказ Министерства РФ № 200н от 01.04.2016 г.). Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИ МКВЛ (протокол №15/2021 от 27.12.2021 г.). Все участники предоставили письменное информированное согласие на участие в исследовании. Проводился сбор жалоб, анкетирование по разработанной исследователями анкете.

2.2. Клиническая характеристика групп

В исследовании принимали участие 140 человек в возрасте $39,0 \pm 5,6$ лет. Больные БА составили 104 человека, лица без хронической бронхолегочной патологии – 36 человек. Было сформировано четыре группы наблюдения (таблица 1). В первую (I) группу вошли лица без хронической бронхолегочной патологии, перенесшие COVID-19 (21 человек). Критерием включения пациентов явилась перенесенная SARS-CoV-2 инфекция, подтвержденная ПЦР-тестом. Критериями исключения являлись: наличие у больных БА, хронических заболеваний в стадии обострения, ожирения, сахарного диабета, онкологических заболеваний, вредных привычек, наличие острого воспалительного процесса не инфекционного характера.

Во вторую (II) группу вошли больные БА, не болевшие COVID-19 (41 человек). В третью (III) группу – больные БА, перенесшие COVID-19 (63 человека). До включения в исследование пациенты с верифицированным диагнозом БА легкой степени тяжести находились на диспансерном наблюдении не менее 1 года, регулярно получали базисную терапию (формотерол + будесонид 6+160 мкг/доза, 1-2 дозы 2 раза в сутки и по требованию).

Критериями включения пациентов являлось наличие у них БА легкой степени тяжести частично контролируемого течения, получение базисной терапии, положительный и отрицательный результат ПЦР-теста на SARS-CoV-2, легкая степень тяжести перенесенного COVID-19. Критериями исключения являлось наличие у обследуемых хронических заболеваний внутренних органов в стадии обострения, сахарного диабета, онкологических заболеваний, вредных привычек.

IV (Контрольная группа) состояла из 15 человек, без заболеваний бронхолегочной системы и не болевших COVID-19.

Критериями исключения являлись наличие у пациентов в анамнезе перенесенной SARS-CoV-2 инфекции, БА, хронических заболеваний в стадии

обострения, ожирения, сахарного диабета, онкологических заболеваний, вредных привычек, наличие острого воспалительного процесса не инфекционного характера.

Таблица 1 – Клиническая характеристика обследуемых групп

Критерии/Группы	I n=21	II n=41	III n=63	IV n=15
Возраст, лет	38±5,1	42±4,38	41,9±5,15	37±6,2
Пол (м/ж)	15/6	24,6/15,4	37,8/25,2	10/5
Курильщики на момент обследования	0/21	0/41	0/63	0/15
Бывшие курильщики	1/20	3/38	4/59	3/12
Длительность заболевания (БА)				
а) до 10 лет, %		25,8	39,5	
б) более 10 лет, %		15,17	19,53	
Хронический гастрит	1/20	2/39	3/60	1/14
Хронический тонзиллит	2/19	4/37	6/57	1/14
Эндокринные нарушения	0/21	0/41	0/63	0/15

Примечание: в ячейках таблицы указаны два значения через дробь: в числителе – число лиц, имеющих указанный признак; в знаменателе – число лиц без данного признака.

Обследование выполнено в разные временные периоды: 0 – ранний период (в течение 1-3-х недель после выздоровления и подтверждения отрицательного результата ПЦР-теста на SARS-CoV-2), далее через 1, 3, 6 месяцев. При первом визите участники отвечали на вопросы анкеты по течению и состоянию основного заболевания бронхиальной астмы, а также вопросы включающие сроки заражения SARS-CoV-2 инфекцией, описание состояния (жалобы), назначенных лекарственных

препаратов, аллергических реакций (при наличии). Контроль симптомов БА оценивали с помощью валидизированного опросника Asthma Control Questionnaire (ACQ -5 тест).

2.3. Инструментальные методы исследования

Больным БА для определения состояния функции внешнего дыхания (ФВД) проводили спирометрию на аппарате SPIROLAB III. Для оценки степени тяжести БА использовали следующие параметры: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1) и их расчетное соотношение индекс Тиффно (ОФВ1/ФЖЕЛ). Показатели регистрировались в абсолютных величинах и в процентном соотношении к должным величинам.

Поражение тканей легкого у пациентов определялось методом компьютерной томографии (Toshiba Aquilion 32) легких в двух проекциях, без внутривенного контрастного усиления, с толщиной слоя в 1мм, питч-фактором 0.84, пиковым напряжением 120кВ. Исследования проводились на базе Городского респираторного центра Владивостокской поликлиники № 3, Медицинского комплекса Дальневосточного федерального университета г. Владивосток.

2.4. Лабораторные методы исследования

Забор биологического материала у пациентов осуществлялся в утренние часы натощак с помощью набора для взятия крови из вены. Использовали вакуумные пробирки на 4,5 мл 13 x 75 мм (для гематологических исследований), пробирки с активатором свертывания (для биохимических и иммунологических исследований), пробирки (марка Acti-Fine), содержащие 3,2% цитрата натрия (для коагулологических

исследований). Проводился забор мазков из зева и носа в пробирки типа Eppendorf с транспортной средой для ПЦР тестирования.

Биохимические, гематологические, коагулологические исследования выполнялись непосредственно в день забора биоматериала. Для иммуноферментных исследований отобранная сыворотка крови хранилась при температуре -80°C не более 3 месяцев. Из исследования исключались пробы с гемолизом и высоким содержанием липидов.

Гематологические исследования. Гематологические параметры периферической крови определяли на анализаторе Mindray 6800 (Китай). Морфологические изменения клеток крови, в том числе макротромбоциты (P-LCR) реактивные лимфоциты, NETs-ловушки [16] определяли микроскопическим методом с помощью микроскопа Axioscope 5 (Carl Zeiss, Германия) с увеличением $\times 10$; 100 . Подсчет тромбоцитов проводился по методу Фонио. Фотографии выполняли с помощью камеры AxioCam ERc5s и программы ZEN 2011.

Биохимические исследования. Содержание С-реактивного белка определяли с использованием тест-систем Rendox FN3452 (Великобритания), CR 7950 на биохимическом анализаторе «Sapfir 500» (Япония).

Коагулологические исследования. Содержание D-димера определяли на анализаторе TS-190 (Россия) с использованием реагентов фирмы “Технология-Стандарт” (Россия).

Иммуноферментные исследования. В течение всего периода исследования проводилось тестирование на антитела класса М и G к SARS-CoV-2 иммуноферментным методом, с использованием наборов Вектор-БЕСТ (Россия), с помощью анализатора BEPP 2000, (SIEMENS, Германия). В исследовании использовались контрольные сыворотки, не содержащие Ig М к SARS-CoV-2. В сыворотке периферической крови определяли содержание инфламماسомы NLRP3 с использованием набора BIOMATIK ELISA Kit (Израиль), гасдермина D –Human

GSDMD Simple Step ELISA Kit Abcam (Великобритания), интерлейкинов IL-1 β , IL-6, IL-18 – Вектор-БЕСТ (Россия) на анализаторе BEPP 2000 (SIEMENS, Германия). Для измерения использовались две длины волн 450 нм, основной светофильтр и 620 отсекающий, вычисление по графику калибровочных значений с применением формулы logit-log для получения количественных показателей.

Молекулярно-биологические исследования. Наличие вируса SARS-CoV-2 определяли тест-системой «АмплиТест SARS-CoV-2» с использованием амплификатора «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), Rotor-Gene Q («Qiagen», Германия).

2.5. Методы статистического анализа

Статистическую обработку осуществляли с помощью программы Statistica 10.0 (Statsoft). Данные представляли в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (Q25; Q75). Статистическую значимость различий между группами оценивали по критерию Краскелла-Уоллиса, Фридмана. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимался при $p < 0,05$.

Для проверки совпадения распределения исследуемых количественных показателей с нормальным в группах пользовались критерием согласия Колмогорова-Смирнова, для проверки гомогенности дисперсии – критерием Левена. Для решения проблемы множественных сравнений использована поправка Бонферрони. Результаты исследования для наглядного представления нормировали относительно контрольной группы, значения которой приняты за 100 %.

Степень взаимосвязи между двумя переменными оценивали с помощью ранговой корреляции Спирмена (r). Определяли силу корреляционных связей, где $r = 0,3–0,5$ – связи слабой силы, $r = 0,51–0,6$ – связи умеренной силы, $r = 0,61–0,7$ – связи средней силы и $r = 0,71–0,95$ – связи высокой силы. Для интегральной оценки

проводился расчёт суммы статистически значимых корреляционных связей и их среднее значение для каждого исследуемого периода.

Расчёт показателя Дв(%), характеризующего внутрисистемную напряженность проводился по формуле:

$$Дв = \frac{\sum_i^n r}{\sum_i^N R} \times 100$$

где: Дв – показатель внутрисистемной напряженности (в %); n – количество корреляционных связей ($p < 0,05$); r - величина фактической корреляционной связи ($p < 0,05$); N – максимальное число предполагаемых корреляционных ячеек в матрице; R – максимальная величина корреляционной связи, равная 1,0.

С применением ROC-анализа находили разделяющий порог определяемых биомаркеров [17]. ROC-кривая (англ. receiver operating characteristic) - график, позволяющий оценить качество диагностического теста. Он отражает соотношение между долей истинно-положительных результатов теста [чувствительностью теста (Sensitivity, Se)] и долей ложноположительных результатов теста [специфичность теста (Specificity, Sp)] при варьировании разделяющего порога. Количественную интерпретацию ROC-кривой дает показатель AUC (англ. area under curve) - площадь, ограниченная ROC-кривой и осью доли ложных положительных результатов теста. Чем выше показатель AUC, тем качественнее классификатор, при этом значение 0,5 демонстрирует непригодность выбранного метода классификации.

ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ, БИОХИМИЧЕСКИХ И КОАГУЛОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО COVID-19

3.1. Морфофункциональный и цитокиновый статус у лиц, перенесших COVID-19 легкого течения

Патогенез инфекции COVID-19 связан со своеобразной вирус-индуцированной дисрегуляцией врожденного и приобретенного иммунитета, нарушенным ответом В-клеток, поражением эндотелия сосудов, что приводит к гиперпродукции широкого спектра цитокинов и других медиаторов воспаления [138].

У пациентов I группы после COVID-19 и подтверждения отрицательного результата ПЦР-теста на SARS-CoV-2, отмечено изменение морфологии лимфоцитов и моноцитов. Выявлены лимфоциты с широкой цитоплазмой, содержащей гранулы; появление в мазках крови нейтрофильных ловушек, остатков гранулоцитов. Такая морфологическая картина иммунокомпетентных клеток характерна при активной выработке ими цитокинов и поглощении фагоцитами микроорганизмов, а также остатков клеточной массы, возникшей в результате пироптоза (рисунок 9).

Гигантские тромбоциты часто (10-15 клеток х 100 лейкоцитов) встречаются в окрашенном гематологическом препарате. Макротромбоциты могут появляться в периферической крови вследствие вторичной тромбоцитемии [128], как следствие инфекционного заболевания и воспалительного процесса. Выявленные нарушения характеризуют сохраняющуюся высокую интенсивность воспалительного процесса и свидетельствуют о риске осложнений в этот период (рисунок 9).

Морфологическая картина в этой группе через один и три месяца после перенесенной инфекции продолжает сохранять тенденции, сходные с начальной временной точкой.

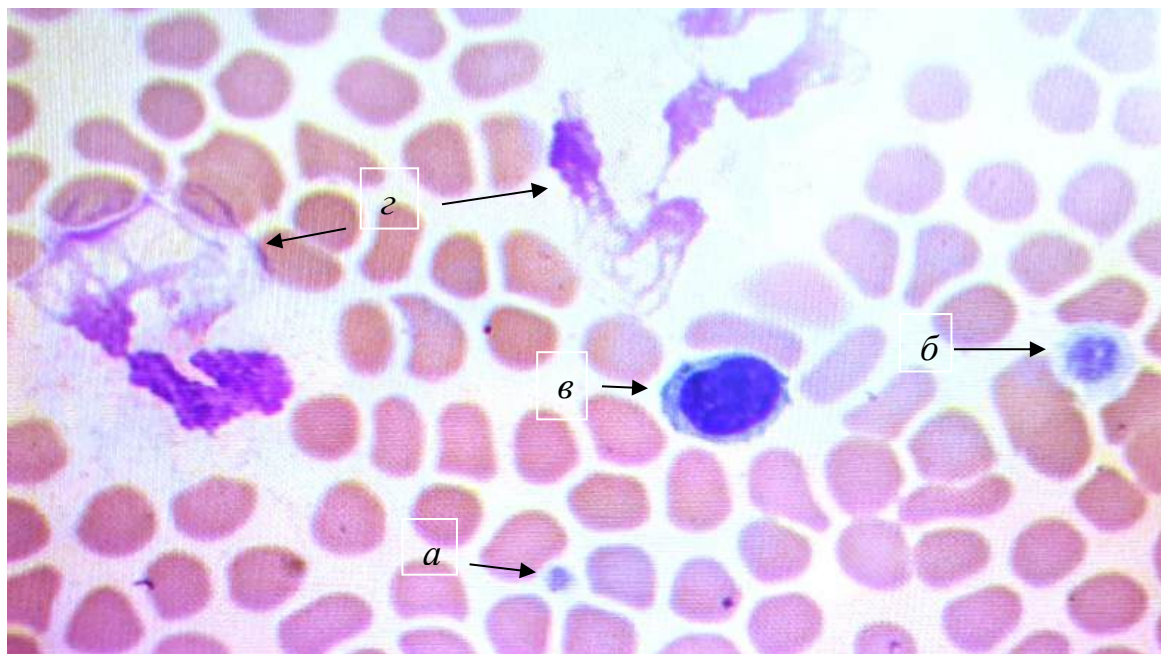


Рисунок 9 – Морфологическая картина клеток крови пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию

Примечание: на фото стрелками показаны гигантский тромбоцит (а), (б); реактивный лимфоцит (в); остатки гранулоцитов (г). Увеличение 100.

В гематологическом препарате фиксируется 5-10% реактивных лимфоцитов, 3-5% разрушенных гранулоцитов. Через шесть месяцев после выздоровления, наблюдается положительная тенденция, реже встречаются реактивные лимфоциты 1-3% х 100 лейкоцитов и практически не встречаются гигантские тромбоциты 0-2% х 100. Однако, несмотря на улучшение морфологической картины, встречающиеся через полгода после выздоровления от SARS-CoV-2 инфекции в периферической крови измененные клетки, могут указывать на вялотекущий процесс воспаления.

Динамика воспалительных маркеров у пациентов I группы на протяжении всего периода наблюдения представлена в таблице 2. Изменение исследуемых параметров

в раннем периоде реконвалесценции и через месяц после выздоровления от SARS-CoV-2 инфекции у пациентов I группы представлены на рисунке 10.

Таблица 2 – Динамика показателей у пациентов, перенесших COVID-19

Параметры	IV группа	I группа			
		ранний период	через 1 мес.	через 3 мес.	через 6 мес.
NLRP3, нг/мл	0,0141 (0,013-0,015)	0,041*** (0,039-0,046)	##0,022** (0,018-0,025)	0,018* (0,017-0,019)	0,015 (0,014-0,016)
GSDMD, нг/мл	0,0249 (0,019-0,026)	0,081*** (0,078-0,092)	##0,035** (0,028-0,041)	0,027* (0,025-0,033)	0,026 (0,025-0,027)
IL-1 β , пг/мл	1,25 (1,18-1,31)	2,56*** (2,32-2,89)	#1,75** (1,57-1,99)	1,44* (1,36-1,85)	1,31 (1,22-1,37)
IL-6, пг/мл	1,91 (1,45-2,05)	4,05*** (3,58-4,29)	#3,17** (2,88-3,32)	2,37 (2,00-2,99)	1,99 (1,50-2,04)
IL-18, пг/мл	152,5 (140,4-162,2)	244,0*** (205,9-277,0)	#176,9* (163,7-189,1)	168,6 (142,8-177,4)	154,9 (131,1-165,3)
NETs, %	0	7,7*** (4-11)	6,3** (1-10)	4,1* (0-7)	0
D-димер, мг/л	0,21 (0,17-0,28)	0,37* (0,29-0,45)	0,28 (0,19-0,34)	0,24 (0,16-0,30)	0,21 (0,18-0,29)
СРБ, мг/л	1,3 (0,99-1,75)	2,82*** (2,54-3,33)	#1,61 (1,03-2,41)	1,44 (1,04-2,43)	1,33 (1,16-2,32)
СОЭ, мм/час	6,0 (5,1-6,7)	9,0* (8,63-10,13)	#7,44 (6,54-8,21)	6,24 (5,88-7,33)	6,11 (4,77-6,35)
P-LCR, %	1 (0,5-1,36)	2,68* (1,98-2,87)	#1,65 (1,06-2,54)	1,29 (1,01-1,93)	1,05 (0,91-1,74)
Реактивные лимфоциты, %	0	7,7*** (4-10)	4,6** (1-6)	1,1* (0-2)	#0

Примечание: * обозначена статистическая значимость различий с контрольной группой; * - $p \leq 0,05$, ** - $p \leq 0,01$, *** - $p \leq 0,001$; # обозначена статистическая значимость различий относительно предыдущего периода; # - $p \leq 0,05$, ## - $p \leq 0,01$, ### - $p \leq 0,001$.

Так, в раннем периоде реконвалесценции у пациентов I группы определялось увеличение уровня D-димера на 76% ($p < 0,05$), СРБ на 117% ($p < 0,001$), СОЭ на 50% ($p < 0,05$), реактивных лимфоцитов на 39% ($p = 0,034$) (таблица 2, рисунок 10). Цитокиновый статус также характеризовался возросшим уровнем IL-1 β на 105% ($p < 0,001$), IL-18 на 60% ($p < 0,001$), IL-6 на 112% ($p = 0,004$). Количество P-LCR увеличивалось на 168%, нейтрофильных ловушек на 38%. Данная картина может указывать на активацию инфламмасомы остатками продуктов жизнедеятельности вируса и воспалительный процесс на раннем сроке восстановления после инфекции.

Через 1 месяц после выздоровления у пациентов I группы выявлено статистически значимое снижение содержания D-димера на 24,3% ($p = 0,004$) по сравнению с предыдущим периодом, что может быть связано с проводимой в остром периоде инфекции антикоагулянтной терапией, а также свидетельствовать о снижении процессов образования фибриновых сгустков и их лизисе (таблица 2, рисунок 10). Снижение реактивных лимфоцитов на 12% ($p = 0,034$) может указывать на снижение активации иммунной системы под влиянием вируса SARS-CoV-2. Уменьшение через один месяц уровня P-LCR на 83%, ($p = 0,019$), NETs на 20%, снижение СОЭ на 26% ($p = 0,027$) является положительным прогностическим признаком. Но наиболее информативно уменьшение уровня СРБ на 42,9% ($p = 0,003$), поскольку он является более специфичным показателем воспаления и его выработка стартуется раньше и снижается быстрее. При адекватной терапии уровень СРБ падает примерно на 6–10-й день, тогда как СОЭ – через 2 недели и позже. Через месяц после выздоровления у пациентов этой группы отмечалось снижение в сыворотке крови уровня IL-6 на 46% ($p = 0,002$), IL-1 β на 55% ($p = 0,004$), что показывает снижение воспаления. Следует отметить менее интенсивное по сравнению с другими исследуемыми цитокинами снижение IL-18 на 44% ($p = 0,005$).

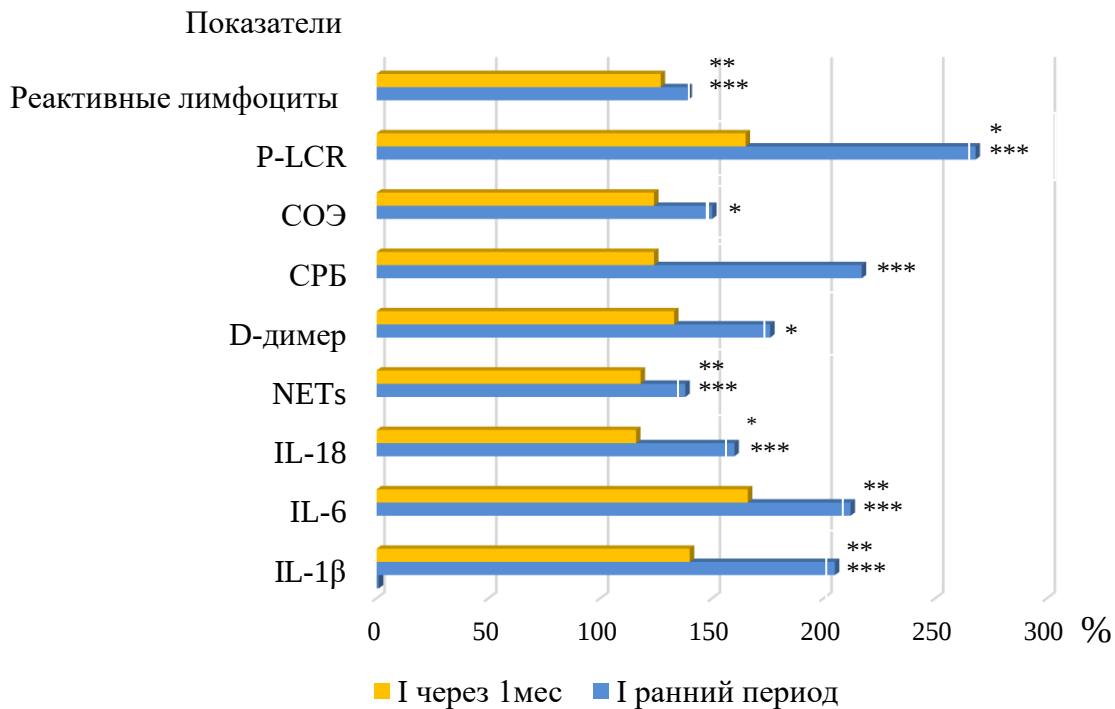


Рисунок 10 – Уровень показателей периферической крови у реконвалесцентов SARS-CoV-2 инфекции (группа I) в раннем периоде выздоровления и через 1 месяц

Картина снижения маркеров воспаления в периферической крови через месяц после начального периода реконвалесценции, свидетельствует об уменьшении воспалительного процесса и начале восстановления организма после инфекции.

Через 3 месяца у пациентов I группы наблюдалось дальнейшее снижение относительно показателей предыдущего периода уровня реактивных лейкоцитов на 16% ($p=0,03$), NETs на 9%, что свидетельствует об уменьшении воспалительной реакции (таблица 2, рисунок 11).

Сохраняющаяся тенденция к снижению числа P-LCR на 38% ($p=0,033$), D-димера на 19% ($p=0,024$) указывает на улучшение гемодинамики и уменьшение воспаления в сосудистом русле. Другие маркеры воспаления, такие как СРБ и СОЭ, снизились на 13% ($p=0,029$), и на 20% ($p=0,025$) соответственно, констатируя уменьшение остроты воспалительного процесса.

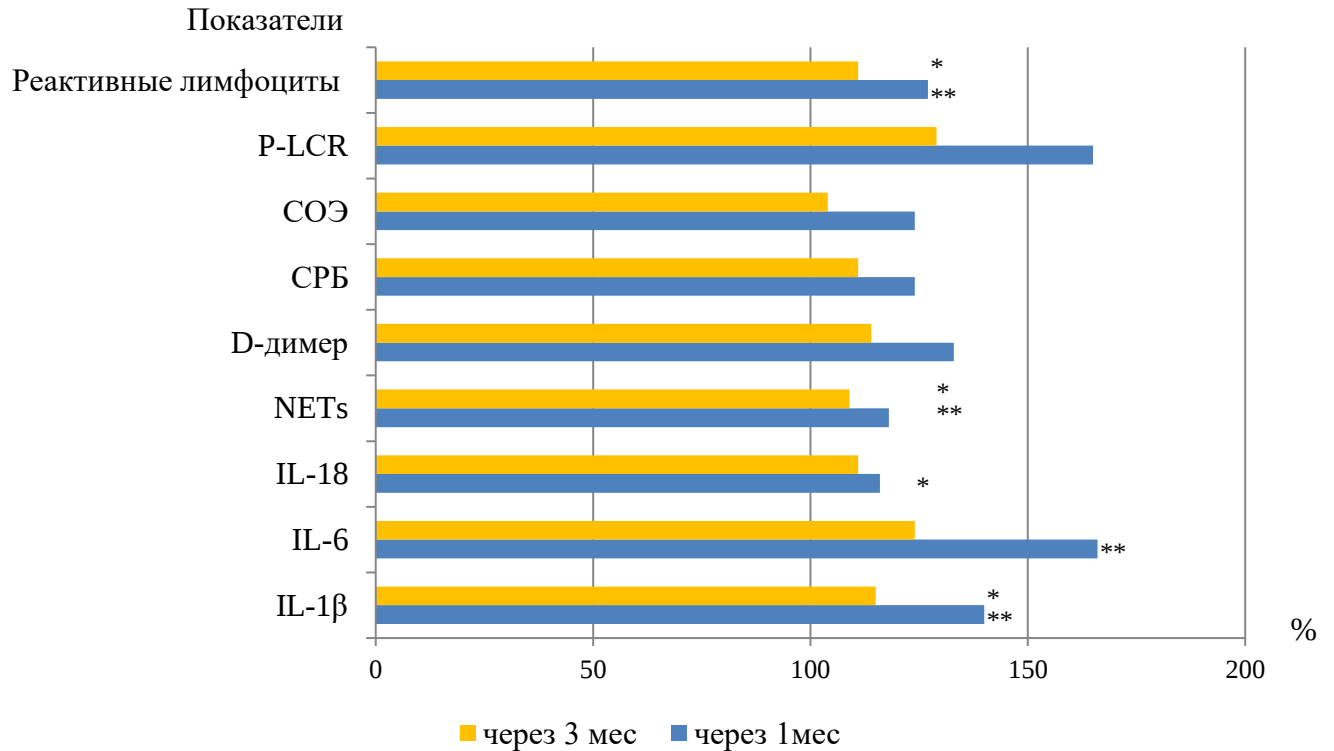


Рисунок 11 – Уровень показателей периферической крови у реконвалесцентов SARS-CoV-2 инфекции (группа I) через 1 и 3 месяца

Снижение уровня на 9% ($p=0,041$) для IL-18, на 10% ($p=0,032$) для IL-1 β , на 20% ($p=0,036$) для IL-6 также демонстрирует положительную тенденцию снижения активности воспалительной реакции.

Через три месяца после перенесенного заболевания, продолжалось снижение показателей воспалительных маркеров в периферической крови. Однако оставался высоким уровень IL-6, IL-1 β , CRP, P-LCR, что свидетельствует о более медленном восстановлении постковидных нарушений. Обращают на себя внимание высокие в этот период значения показателей гемостаза. Необходимость их контроля обусловлена рисками тромбоза, нарушения сосудистой микроциркуляции органов у пациентов, перенесших COVID-19.

Через шесть месяцев от начального периода выздоровления отмечалось снижение количества P-LCR на 14% ($p=0,02$), реактивных лимфоцитов на 4% ($p=0,03$),

NETs на 11%, СОЭ на 2%, СРБ на 9%, D-димер на 14% по сравнению с показателями предыдущего периода, что свидетельствует об уменьшении воспаления (таблица 2, рисунок 12).

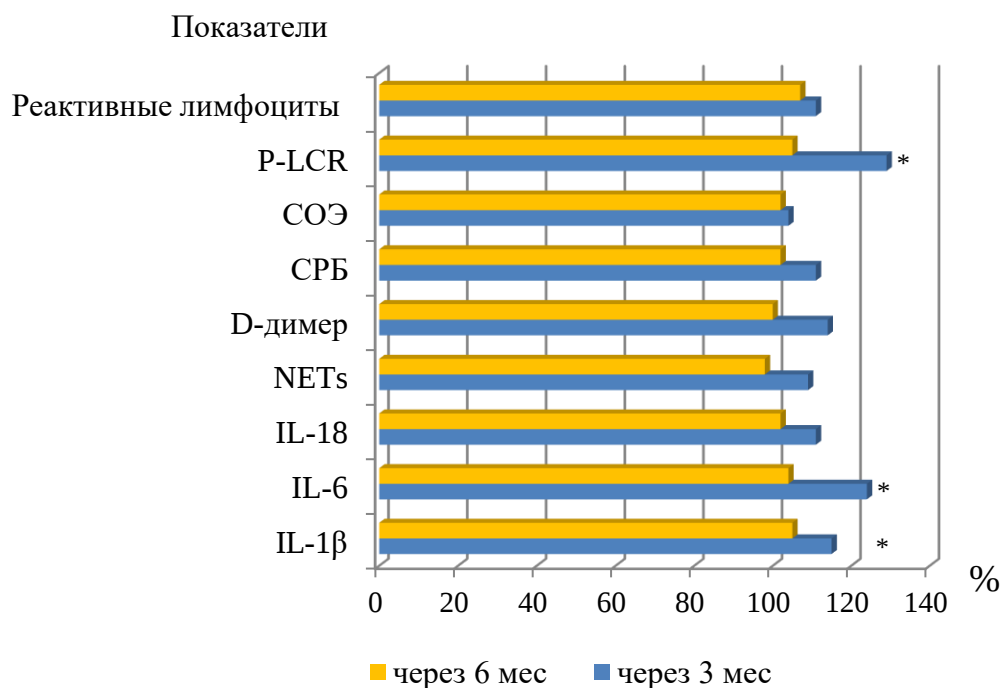


Рисунок 12 – Уровень показателей периферической крови у реконвалесцентов SARS-CoV-2 инфекции (группа I) через 3 и 6 месяца

Снижение через шесть месяцев количества IL-18 на 9% ($p=0,018$), IL-6 на 20% ($p=0,035$), IL-1 β на 10% ($p=0,032$) свидетельствует о значительном улучшении процесса восстановления, стихании синдрома воспаления.

Несмотря на значительное снижение параметров воспаления, только через 6 месяцев от начального периода реконвалесценции все исследуемые маркеры воспаления достигают уровня значений контрольной группы. К значимым показателям относятся гасдермин D, NLRP3. Их динамика в декретированные сроки представлена на рисунке 13.

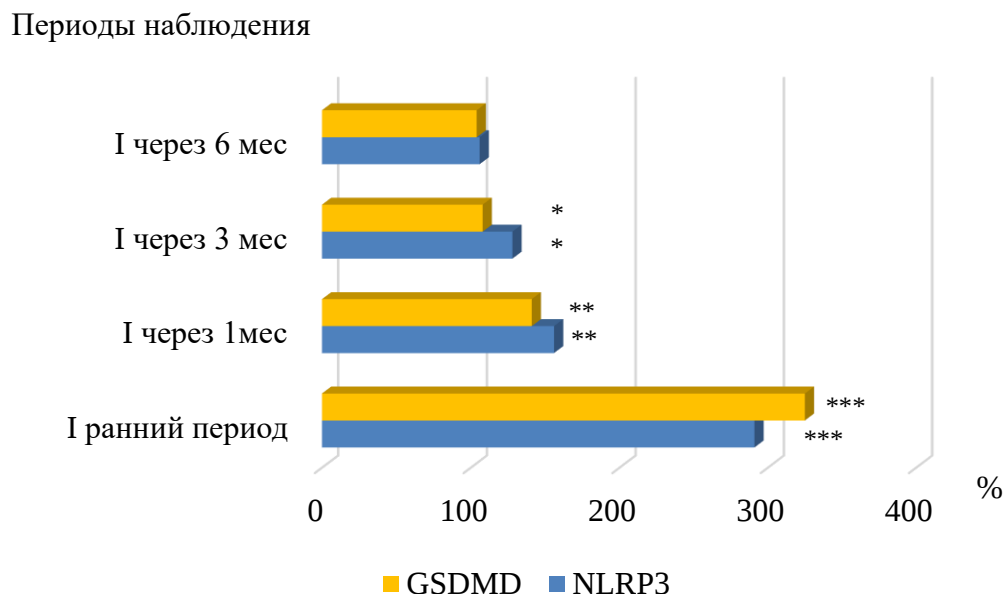


Рисунок 13 – Динамика уровня гасдермина D и NLRP3 у пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию (группа I), в течение полугода

После выздоровления наблюдалось значительное возрастание уровня гасдермина D – на 225% ($p < 0,001$) и NLRP3 – на 191% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Далее, через месяц от периода реконвалесценции, выявлено снижение уровня GSDMD на 56,8% ($p = 0,004$), через три месяца – на 33% ($p = 0,011$), через шесть месяцев – на 4% ($p = 0,026$). Содержание NLRP3 снижалось через месяц от периода реконвалесценции на 46,3% ($p = 0,003$), через три месяца – на 28% ($p = 0,012$), через шесть месяцев – на 22% ($p = 0,026$). Проведенный анализ говорит о том, что GSDMD имел тенденцию к снижению через 6 месяцев, но значительно более медленную по сравнению с другими маркерами воспаления.

Как показало исследование, такие показатели как гасдермин D, IL-1 β , P-LCR, реактивные лимфоциты, NLRP3 у пациентов I группы только через шесть месяцев достигли уровня значений контрольной группы, что указывает на продолжающийся до полугода процесс восстановления организма после перенесенной инфекции.

3.2. Характеристика параметров воспалительного процесса у больных бронхиальной астмой легкой степени тяжести

БА в легкой форме характеризуется наличием персистирующего субклинического воспаления. Для оценки глубины метаболических и структурных изменений клеток крови, нами было проведено сравнительное исследование параметров воспаления у больных БА (группа II) и здоровых добровольцев. Полученные данные позволяют выделить ключевые маркеры, отражающие функциональное состояние иммунной системы при астме.

У больных БА (II группа) наблюдалось увеличение СРБ на 15% ($p<0,05$), D-димера на 29% ($p<0,05$), СОЭ на 17% ($p<0,05$), моноцитов на 14% ($p<0,05$). Цитокиновый статус характеризовался повышенным уровнем IL-18 на 6% ($p<0,05$), IL-6 на 42% ($p<0,05$), IL-1 β на 16% ($p<0,05$) (рисунок 14).

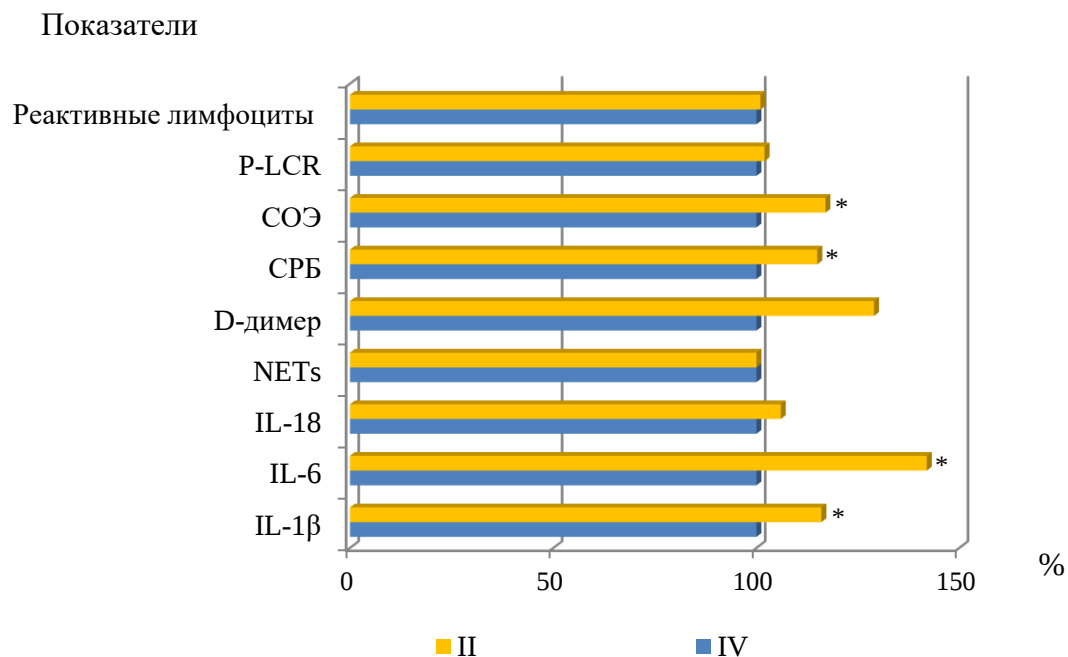


Рисунок 14 – Изменения уровня маркеров воспаления у больных БА (II группа) относительно контрольной группы

Увеличение содержания в периферической крови провоспалительных интерлейкинов свидетельствует о наличии системного воспалительного процесса у больных БА легкой степени тяжести.

3.3. Динамика маркеров воспаления в течение шести месяцев у больных бронхиальной астмой легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 в легкой форме

Сохраняет свою актуальность изучение нарушений, вызванных инфекцией SARS-CoV-2, сопровождающихся в отдельных случаях тяжелым течением и длительным выздоровлением. В группу риска входят пациенты с бронхиальной астмой.

У больных БА, перенесших COVID-19 (III группа), при микроскопии окрашенных клеток периферической крови выявлено в раннем периоде изменение морфологии лимфоцитов и моноцитов по сравнению с контрольной группой. Отмечается появление NETs от 3% до 15% на 100 нейтрофилов, крупных тромбоцитов, изменение сегментации ядра нейтрофилов (рисунок 15).

Через 1 месяц после перенесенного COVID-19 у больных БА морфологическая картина периферической крови не отличалась от таковой в раннем периоде реконвалесценции. Сохраняются внеклеточные нейтрофильные ловушки, макротромбоциты и aberrации сегментации ядер нейтрофилов. Характерно наличие ловушек, демонстрирующих фагоцитарную активность путем "захвата" сегментоядерных клеток (рисунок 16). Пик выраженности морфологических аномалий в окрашенных мазках крови приходится на период от 1-го до 3-х месяцев после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции.

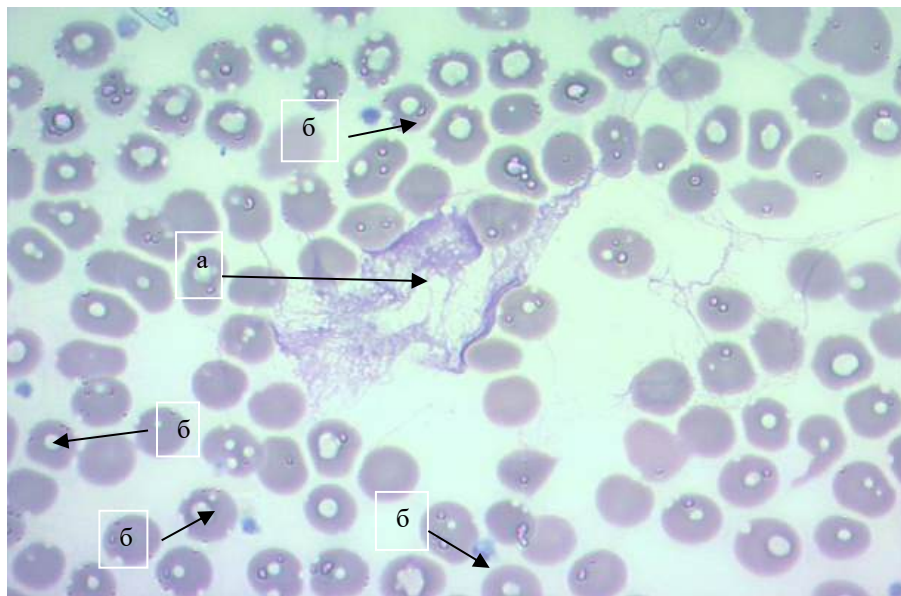


Рисунок 15 – Морфологическая картина клеток крови у больных БА, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию (группа III), в раннем периоде реконвалесценции

Примечание: на фото розовые нити ДНК нейтрофилов (нейтрофильная ловушка) – а, крупные тромбоциты – б. Увеличение 100 и далее.

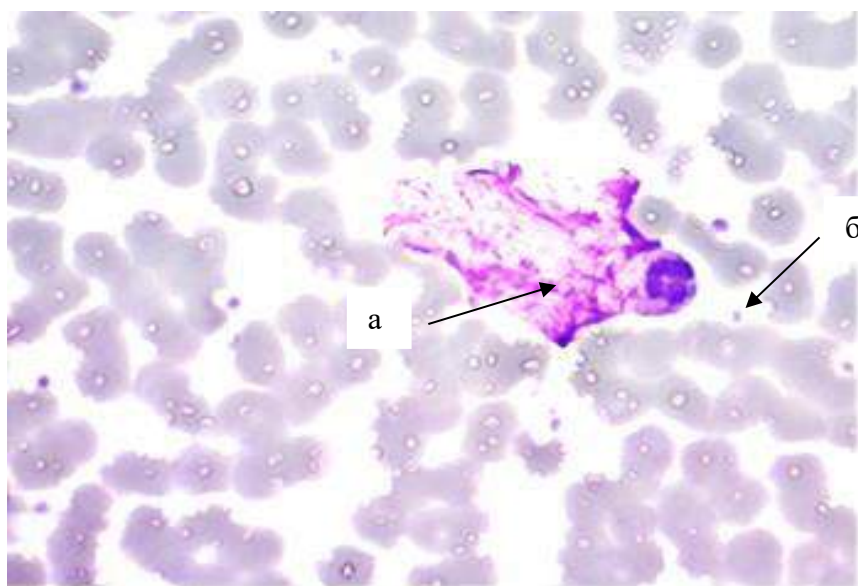


Рисунок 16 – Морфологическая картина клеток крови у больных БА через 1 месяц после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции

Примечание: на фоне эритроцитов розовые нити ДНК нейтрофила (NETs) – а окружают сегментоядерный нейтрофил – б.

Через 3 месяца у больных III группы в окрашенном мазке крови определялись лимфоциты с широкой цитоплазмой содержащей гранулы (реактивные лимфоциты), моноциты с содержанием в цитоплазме большого количества вакуолей, нейтрофилы с измененными ядрами (гипосегментация), тромбоциты крупной формы, нейтрофильные ловушки (рисунок 17).

Такая морфологическая картина иммунокомпетентных клеток характерна для воспалительного процесса, при активном поглощении фагоцитами микроорганизмов, а также остатков клеточной массы, возникшей в результате пироптоза.

Выявленные особенности пула иммунокомпетентных клеток, обеспечивающих защитные механизмы врожденного и приобретенного иммунитета, демонстрируют наличие гипервоспалительного процесса, указывая на высокий уровень кроветворной активности костного мозга в первые три месяца после перенесенного COVID-19.

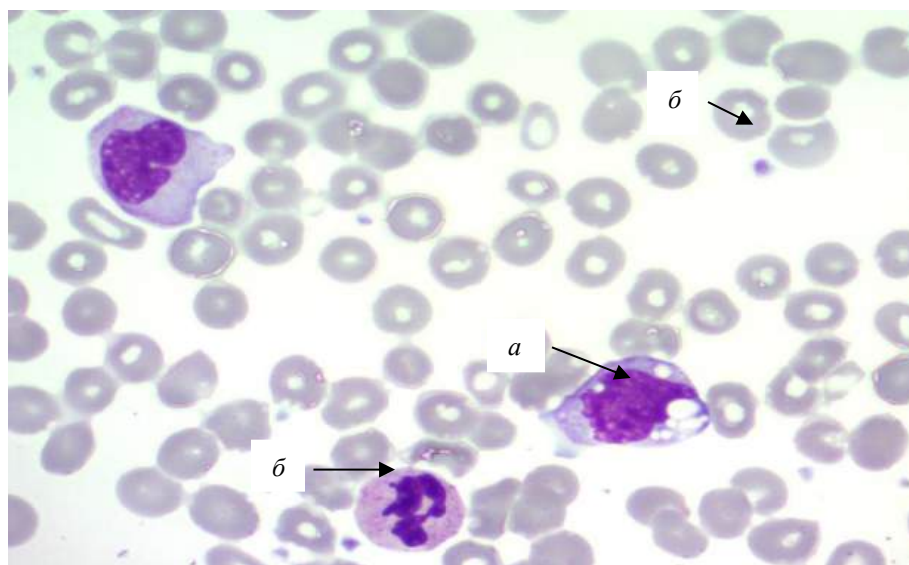


Рисунок 17 – Морфологическая картина клеток крови у больных БА через три месяца после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции

Примечание: вакуолизированные моноциты – а, крупные тромбоциты – б.

Через 6 месяцев морфологическая картина клеток крови меняется. Реже встречаются измененные ядра гранулоцитов, реактивные лимфоциты, P-LCR. У 68% больных отсутствуют NETs. В то же время, у 32% больных III группы сохранялись изменения и через полгода после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции.

У больных III группы морфологические изменения клеток крови в раннем периоде реконвалесценции сопровождались повышенным уровнем D-димера на 119% ($p < 0,001$), СОЭ на 52% ($p < 0,05$), СРБ на 145% ($p < 0,05$) (таблица 3).

Таблица 3 – Динамика маркеров воспаления у больных БА, перенесших COVID-19

Параметры/	IV группа	II группа	III группа			
			ранний период (рп)	через 1 мес.	через 3 мес.	через 6 мес.
NLRP3, нг/мл	0,0141 (0,013-0,015)	0,0144 (0,013-0,016)	^^^0,073*** (0,061-0,086)	^^^0,037*** <i>p</i> 1м./ <i>p</i> .н. # (0,029-0,04)	^^0,026*** (0,019-0,032)	^0,018* (0,017-0,021)
GSDMD, нг/мл	0,0249 (0,019-0,026)	0,028 (0,017-0,030)	^^^0,226*** ### (0,215-0,290)	^^^0,124*** <i>p</i> 1м./ <i>p</i> .н. ## (0,115-0,138)	^^^0,094*** (0,082-0,121)	^0,033* <i>p</i> 6м./3м. ### (0,031-0,040)
IL-1 β , пг/мл	1,25 (1,18-1,31)	1,45* (1,33-1,52)	^^^3,53*** (3,13-3,78)	^2,10** <i>p</i> 1м./ <i>p</i> .н. # (1,79-2,23)	1,65* (1,44-1,71)	1,50* (1,39-1,58)
IL-6, пг/мл	1,91 (1,45-2,05)	2,66* (2,32-2,66)	^^^4,87*** (4, 21-5,02)	^3,53*** <i>p</i> 1м./ <i>p</i> .н. # (3,09-4,20)	^3,15*** (2,99-3,38)	^2,86** (2,76-3,28)
IL-18, пг/мл	152,5 (140,4-162,2)	161,7 (122,9-186,4)	^^279,1*** (233,8-300,5)	^222,8** (199,9-226,3)	178,4 (154,9-203,7)	164,7 (132,8-188,5)
NETs, %	0	0	^^^25,7*** (19-31)	^^^15,4*** <i>p</i> 1м./ <i>p</i> .н. # (9-17)	^^5,2** <i>p</i> 3м./1м. # (1-7)	^3,0** (0-5)

D-димер, мг/л	0,21 (0,17- 0,28)	0,27 (0,24- 0,37)	^^0,52** (0,46-0,64)	^0,47* (0,40-0,56)	0,43* (0,34-0,52)	0,31 (0,26-0,39)
СРБ, мг/л	1,3 (0,99- 1,7)5	1,50 (1,21- 2,01)	^^^3,56*** (3,21-4,19)	1,86* <i>p</i> 1м./ <i>p</i> .н. ## (1,54-2,01)	1,65 (1,41-1,99)	1,56 (1,23-1,98)
СОЭ, мм/ч	6,0 (5,1-6,7)	7,02* (6,88- 7,95)	^^10,14** (9,00-12,01)	^8,52* (8,02-9,79)	7,68* (6,77-8,32)	7,14* (5,85-7,43)
P-LCR, %	1 (0,5-1,36)	1,02 (0,78- 1,68)	^^^3,89*** (3,26-4,46)	^^2,83** <i>p</i> 1м./ <i>p</i> .н. # (2,12-3,04)	^1,99* (1,71-2,47)	1,16 <i>p</i> 6м./3м. ## (0,99-1,37)
Реактивные лимфоциты , %	0	1* (0-2)	^^^12,2*** (8-16)	^^9,3*** (7-11)	^4,1* <i>p</i> 3м./1м. # (2-6)	1* (0-2)

Примечание: * обозначена статистическая значимость различий с контрольной группой; * - $p \leq 0,05$, ** - $p \leq 0,01$, *** - $p \leq 0,001$. ^ обозначена статистическая значимость различий с группой больных БА ^ - $p \leq 0,05$, ^^ - $p \leq 0,01$, ^^^ - $p \leq 0,001$; # обозначена статистическая значимость различий относительно предыдущего периода; # - $p \leq 0,05$, ## - $p \leq 0,01$, ### - $p \leq 0,001$.

Повышенное содержание IL-1 β на 166% ($p < 0,001$), IL-18 на 77%, IL-6 на 113%, P-LCR на 287%, NETs на 61% свидетельствовало о сохранении системного воспаления у больных БА в раннем периоде реконвалесценции после COVID-19.

Через 1 месяц после выздоровления у больных БА, перенесших COVID-19, наблюдалось существенное снижение D-димера на 24% ($p < 0,05$), СОЭ на 27% ($p < 0,05$), СРБ на 131% ($p < 0,05$) в сравнении с показателями реконвалесцентов SARS-CoV-2 инфекции (I группа). Также отмечалось уменьшение уровня IL-1 β на 114% ($p < 0,001$), IL-6 на 70% ($p < 0,05$), IL-18 на 37% ($p < 0,05$), количества NETs на 44% и P-LCR на 106%.

Через 3 месяца после выздоровления по сравнению с предыдущим периодом (1 мес.) у больных III группы наблюдалось постепенное снижение содержания D-димера на 19% ($p < 0,05$), СОЭ на 14% ($p < 0,05$), СРБ на 16% ($p < 0,05$). Отмечено снижение

уровня IL-1 β на 36% ($p<0,05$), IL-6 на 20% ($p<0,05$), IL-18 на 29% ($p<0,05$), количества NETs на 3% и P-LCR на 84%. Следует отметить, что у больных БА, перенесших COVID-19, (III группа) как в раннем периоде реконвалесценции, так и через 3 мес. после выздоровления, воспалительный процесс был более выраженным, чем у больных БА, не перенесших SARS-CoV-2 инфекцию (II группа).

У больных БА через полгода после перенесенного COVID-19 продолжали снижаться маркеры воспаления относительно показателей в предыдущем периоде (3 мес.). Так, D-димер снизился на 57%, СОЭ – на 9%, СРБ – на 7%. Выявлено снижение уровня IL-1 β на 12%, IL-6 на 3%, IL-18 на 9%, количества NETs на 4% и P-LCR на 83%. Снижение ряда исследуемых параметров, таких как IL-1 β , IL-6, NETs, реактивных лимфоцитов, P-LCR в течение полугода происходило медленно, но так и не достигло уровня показателей у больных БА II группы (рисунок 18).

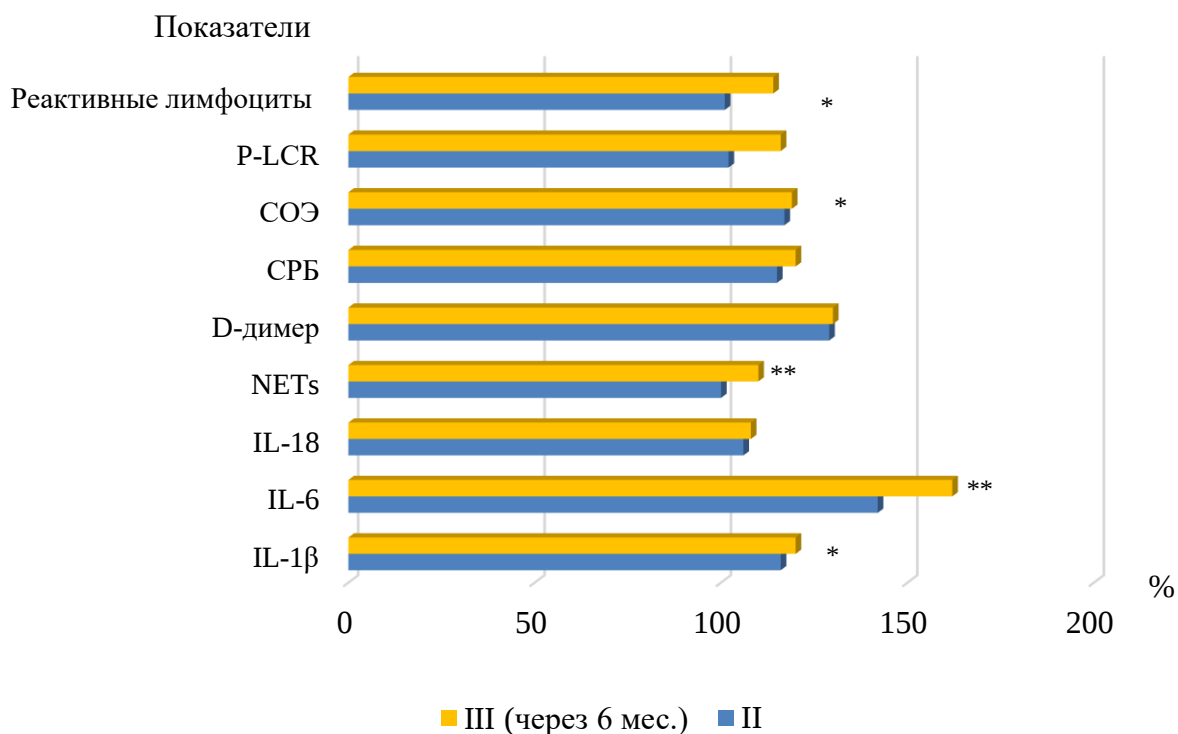


Рисунок 18 – Маркеры воспаления у больных БА через 6 месяцев после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции

Повышенная концентрация IL-1 β , IL-6, NETs, реактивных лимфоцитов, P-LCR, у больных БА, перенесших COVID-19, может формировать предпосылки к длительному восстановлению, после COVID-19.

3.4. Динамика показателей NLRP3 и гасдермина D у больных бронхиальной астмой легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 в легкой форме

Изучение патогенетических особенностей течения бронхиальной астмы после перенесенной инфекции COVID-19 требует пристального анализа механизмов хронического воспаления. Ключевую роль в этих процессах играет активация инфламмасомного пути, в частности сенсора NLRP3, который запускает каскад провоспалительных реакций. Конечным эффектором этого пути является белок гасдермин D, ответственный за формирование пор в клеточной мембране и реализацию пироптоза. У больных БА наблюдалось повышение NLRP3 на 109% ($p < 0,001$) и гасдермина D на 112% ($p < 0,001$) по сравнению со здоровыми лицами.

Наложение COVID-19 на течение основной патологии БА привело к резкой активации инфламмасомного пути (рисунок 19). По сравнению с больными БА (группа II), у больных БА с SARS-CoV-2 инфекцией в анамнезе (группа III) показатель NLRP3 вырос на 409% ($p < 0,001$), GSDMD – на 796% ($p < 0,001$). Через 1 месяц после перенесенного COVID-19, содержание NLRP3 и GSDMD снизилось на 49% и на 45,1% соответственно относительно острого периода ($p < 0,001$), но не достигло значений в группе II. Через 3 месяца у больных группы III содержание NLRP3 снизилось на 78%, GSDMD – на 120% относительно показателей через 1 мес. после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции ($p < 0,05$). Положительная динамика в этой группе сохранялась, через 6 месяцев уровень NLRP3 снизился на 56% и GSDMD – на 245% относительно аналогичных показателей у больных этой группы через 3 мес. ($p < 0,05$).

Следует отметить, что наиболее активное снижение наблюдалось через 1 месяц после перенесенной инфекции. Через 3 и 6 месяцев показатели снижались менее активно, что указывало на замедление темпов восстановления.

Установленное высокое содержание GSDMD указывает на активный процесс пироптоза при сочетании БА и COVID-19. Динамика снижения подтверждает постепенное снижение активности системного воспаления. Этот процесс, вероятно, занимает более 6 месяцев.

Проведенное исследование показало, что у больных БА легкой степени тяжести, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию в легкой форме, проявления гипервоспалительной реакции на всех исследуемых этапах значительно активнее, чем у лиц с БА, не болевших COVID-19. Снижение уровня NLRP3 и GSDMD, не достигающее значений группы сравнения через шесть месяцев после перенесенной инфекции свидетельствует о медленном процессе восстановления.

%; процент изменений относительно
контрольной группы

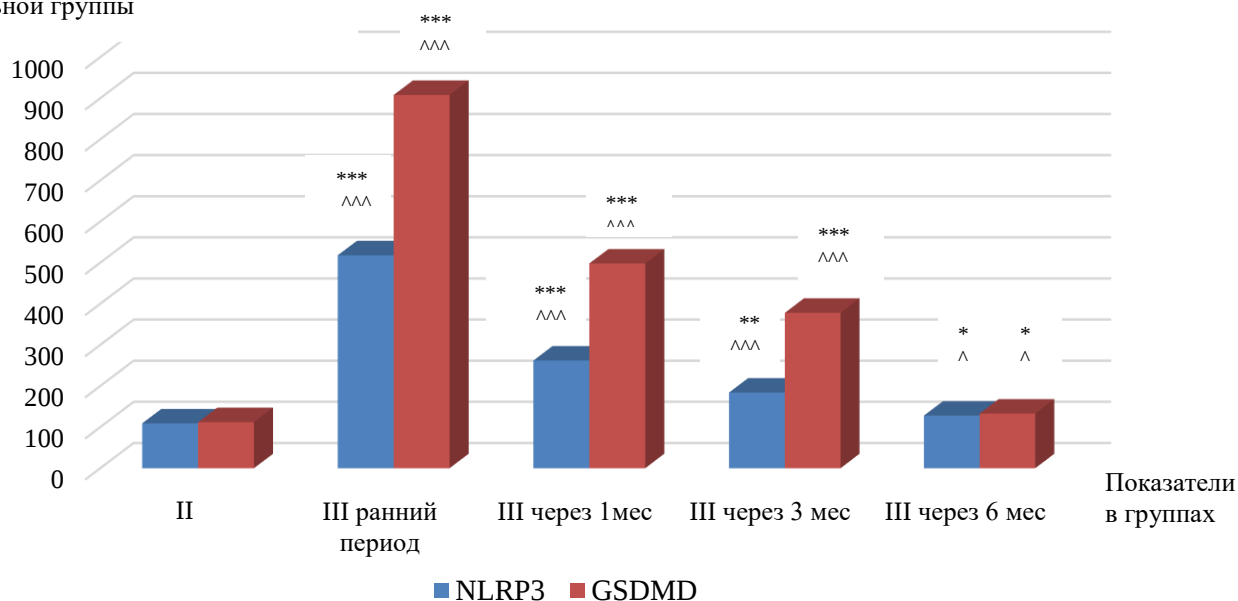


Рисунок 19 – Динамика показателей NLRP3 и GSDMD у больных бронхиальной астмой, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию.

Полученные данные свидетельствуют, что гипервоспалительный процесс в значительной мере поддерживается активностью NLRP3 и GSDMD, сохраняя у данной категории пациентов активный воспалительный профиль и через шесть месяцев.

3.5. Взаимосвязь между гематологическими, коагулологическими показателями, маркерами воспаления у больных бронхиальной астмой легкой степени тяжести, перенесших COVID-19

Анализ корреляционной матрицы продемонстрировал наличие статистически значимых взаимосвязей между молекулярными маркерами инфламмасом-опосредованного воспаления GSDMD, NLRP3 и рядом лабораторных показателей, характеризующих состояние системы крови и степень выраженности воспалительного ответа (рисунок 20).

Группа больных БА характеризуется умеренным воспалительным профилем. Корреляционные связи этой группы представлены на рисунке 20. У больных БА прослеживаются корреляционные связи между СРБ и СОЭ, что говорит о системном характере воспаления при БА, даже протекающей в легкой форме. Установленная корреляционная связь средней силы между СРБ и IL-6 объясняется тем, что IL-6 является основным стимулятором синтеза СРБ в печени. Такая корреляция часто встречается у больных БА, что поддерживает персистирующее системное воспаление, утяжеляя течение астмы.

Корреляция средней силы между СРБ и IL-1 β , умеренной силы с IL-18 указывает на активацию врожденного иммунитета. Эти цитокины запускают каскад воспаления в ответ на повреждение тканей или инфекцию. Корреляция СРБ с интерлейкинами может говорить и об активации инфламмасом, впоследствии

приводящая к системному ответу организма, поддерживающему процесс воспаления при БА.

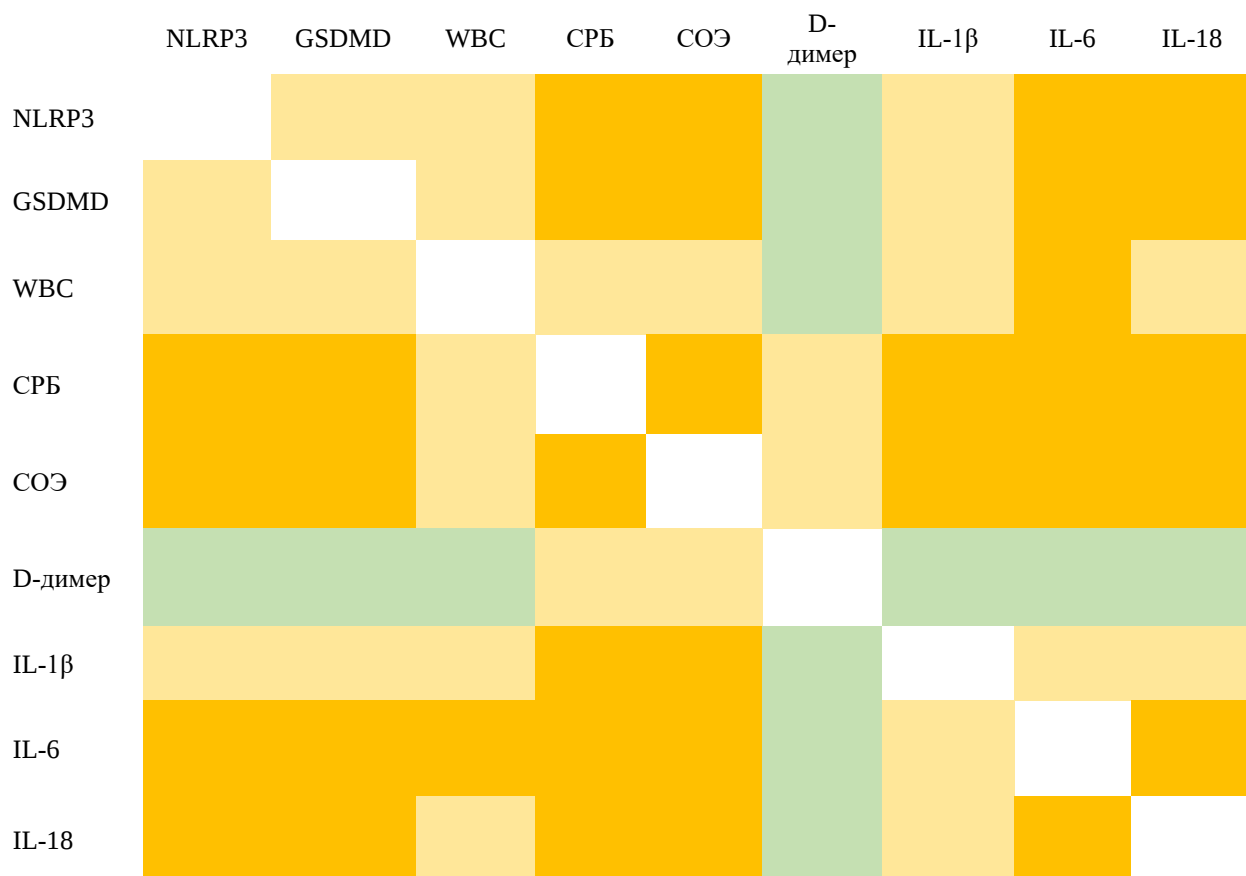


Рисунок 20 – Термокарта корреляционных взаимодействий исследуемых показателей у больных БА

Примечание: ■ оранжевым обозначена средняя, ■ бежевым – умеренная, ■ зеленым – слабая связь.

У больных БА в раннем периоде реконвалесценции после перенесенного COVID-19 выявлена корреляционная связь между маркерами воспаления (CRP, CO₂, IL-1β, IL-6, IL-18), NLRP3, GSDMD и NLRP3 (рисунок 21).

На раннем этапе реконвалесценции статистически значимая положительная корреляция прослеживается между NLRP3 и GSDMD, CRP, CO₂, IL-6, IL-18, что

указывает на продолжающийся воспалительный процесс с экспрессией провоспалительных интерлейкинов. Образование сильных корреляционных связей между лейкоцитами с NETs и IL-6 может свидетельствовать о тяжести воспалительного процесса.

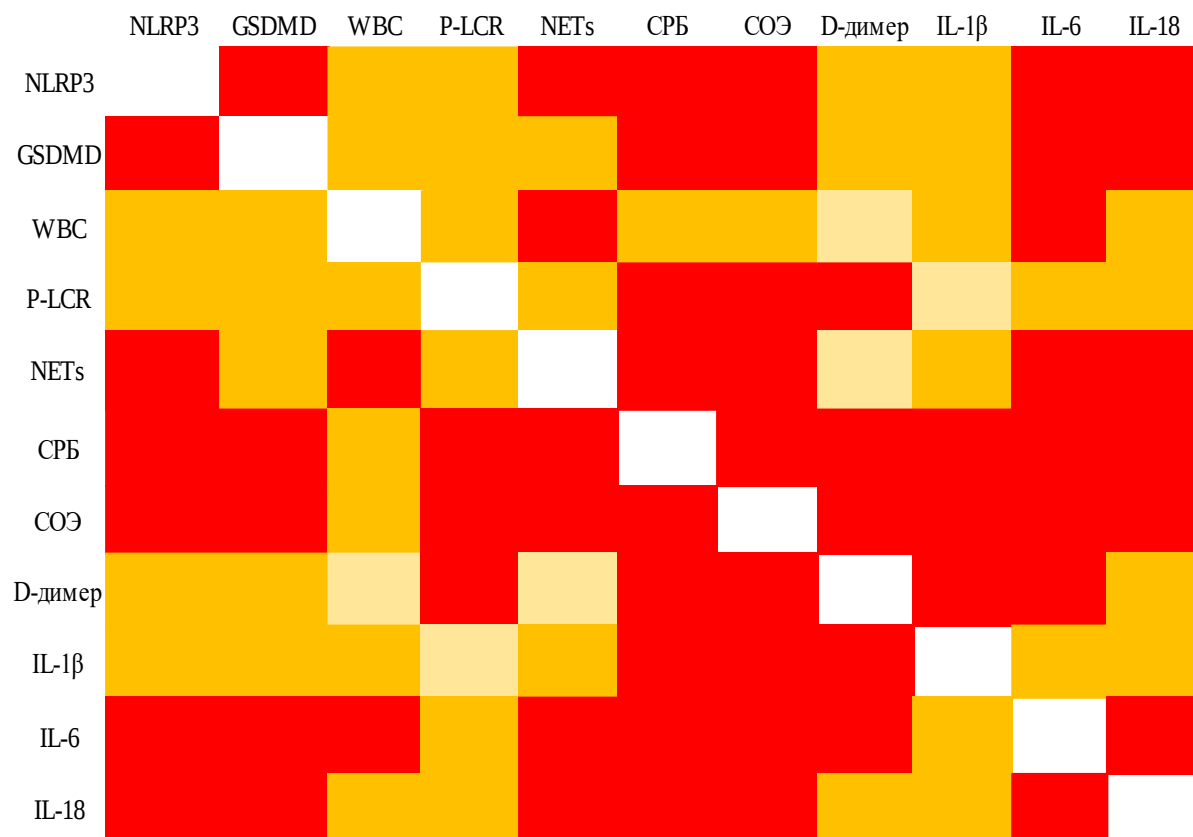


Рисунок 21 – Термокарта корреляционных взаимодействий исследуемых показателей у больных БА на раннем этапе реконвалесценции COVID-19

Примечание: ■ красным цветом обозначена сильная связь, ■ оранжевым – средняя, ■ бежевым – умеренная, ■ зеленым – слабая.

На воспалительный процесс в кровеносном русле указывают сильные корреляционные связи между P-LCR и CPБ, COЭ, D-димером; нейтрофильными ловушками и NLRP3, GSDMD, CPБ, COЭ, IL-6, IL-18; CPБ и NLRP3, GSDMD,

тромбоцитами, NETs, IL-6, IL-18. Тяжесть процесса подтверждается корреляционной связью между IL-1 β и СРБ, СОЭ, D-димером.

Статистически значимая положительная корреляция между NLRP3 ($r=0,81$) и GSDMD указывает на их согласованную активацию в рамках общего воспалительного каскада. Данное соотношение подтверждает функциональную связь между активацией инфламмасомы NLRP3 и последующим запуском пироптоза, в реализации которого ключевую роль играет GSDMD.

Кроме того, NLRP3 демонстрирует положительную корреляцию с показателем NETs ($r=0,77$), что может отражать взаимосвязь между активацией инфламмасомы и морфологическими изменениями нейтрофилов. Повышение доли NETs ассоциируется с усилением воспалительного процесса и повышением цитокиновой активности. Таким образом, обнаруженная взаимосвязь может свидетельствовать о вовлечении NLRP3 в регуляцию нейтрофильного ответа при системном воспалении.

В то же время GSDMD имеет среднюю положительную связь с показателем NETs ($r=0,61$), что также подтверждает участие этого белка в воспалительном процессе с участием данной клеточной популяции. Полученные результаты подчеркивают системный характер воспалительного ответа и указывают на важную роль каскада NLRP3- GSDMD в механизмах активации и прогрессирования воспаления у больных БА после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции.

В контексте полученных данных, корреляционная связь NLRP3 с GSDMD, с маркерами воспаления и гематологическими показателями, может отражать следующий процесс. Активация инфламмасомы ведет к повышенному образованию активных форм IL-1 β /IL-18 и к запуску пироптоза лейкоцитов или клеток тканей, что в свою очередь сопровождается изменениями в клеточном составе крови (уменьшение количества реактивных лимфоцитов, образование NETs) и увеличением уровня острофазных маркеров воспаления (СОЭ, D-димер). Сильные положительные корреляционные связи между воспалительными маркерами и NLRP3, GSDMD,

свидетельствуют о значимой роли инфламмасом-обусловленного механизма в процессе воспаления (рисунок 22).

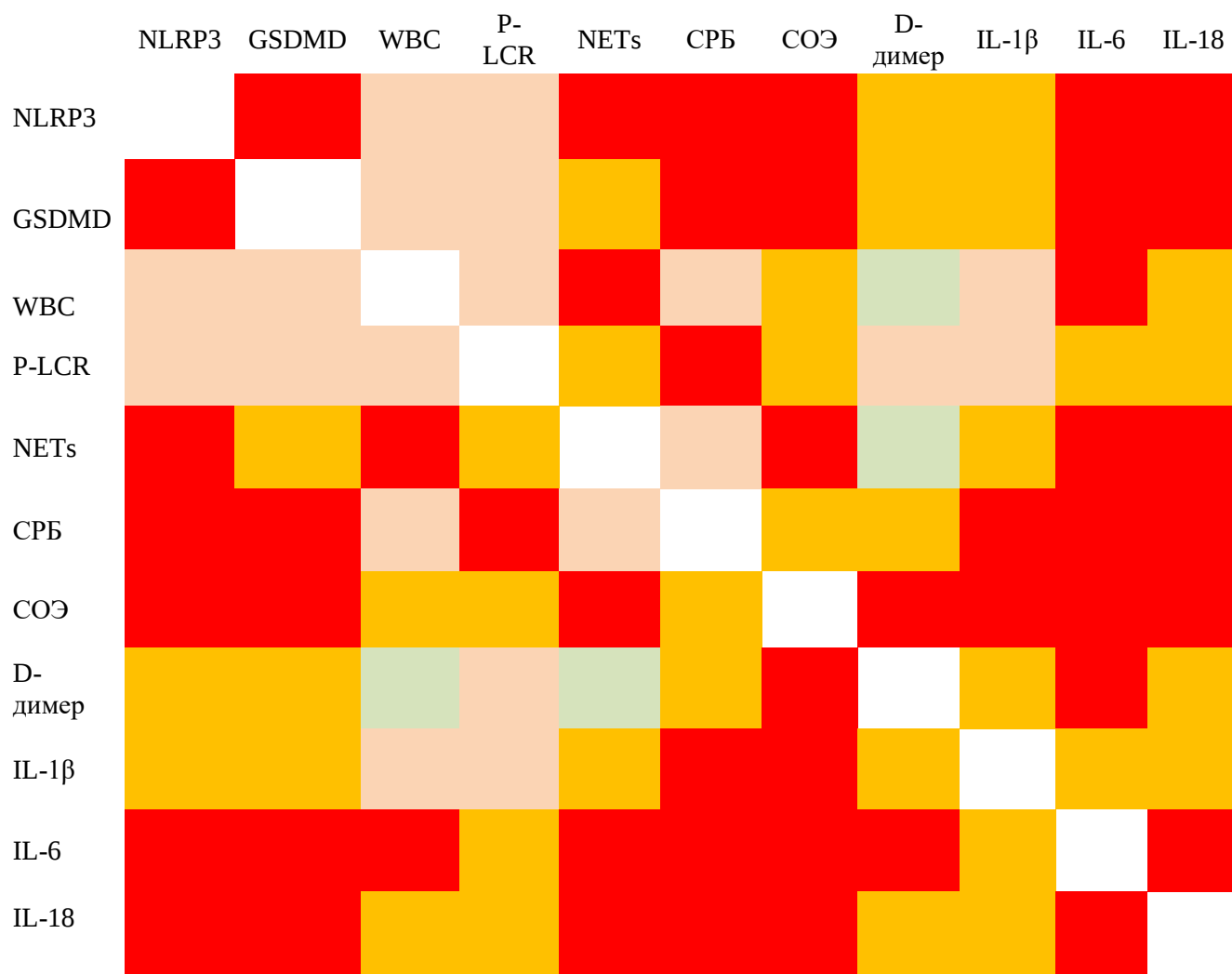


Рисунок 22 – Термокарта корреляционных взаимодействий исследуемых показателей через 3 месяца у больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19

Примечание: ■ красным цветом обозначена сильная связь, ■ оранжевым – средняя, ■ бежевым – умеренная, ■ зеленым – слабая.

У больных БА, перенесших COVID-19, через шесть месяцев после инфекции наблюдается снижение уровня тесноты связей между параметрами (рисунок 23). Выявлена корреляция средней интенсивности между показателями NLRP3 и IL-1 β , IL-6, IL-18, NETs, СОЭ, СРБ. Взаимодействия умеренной силы фиксируются между NLRP3 и WBC.

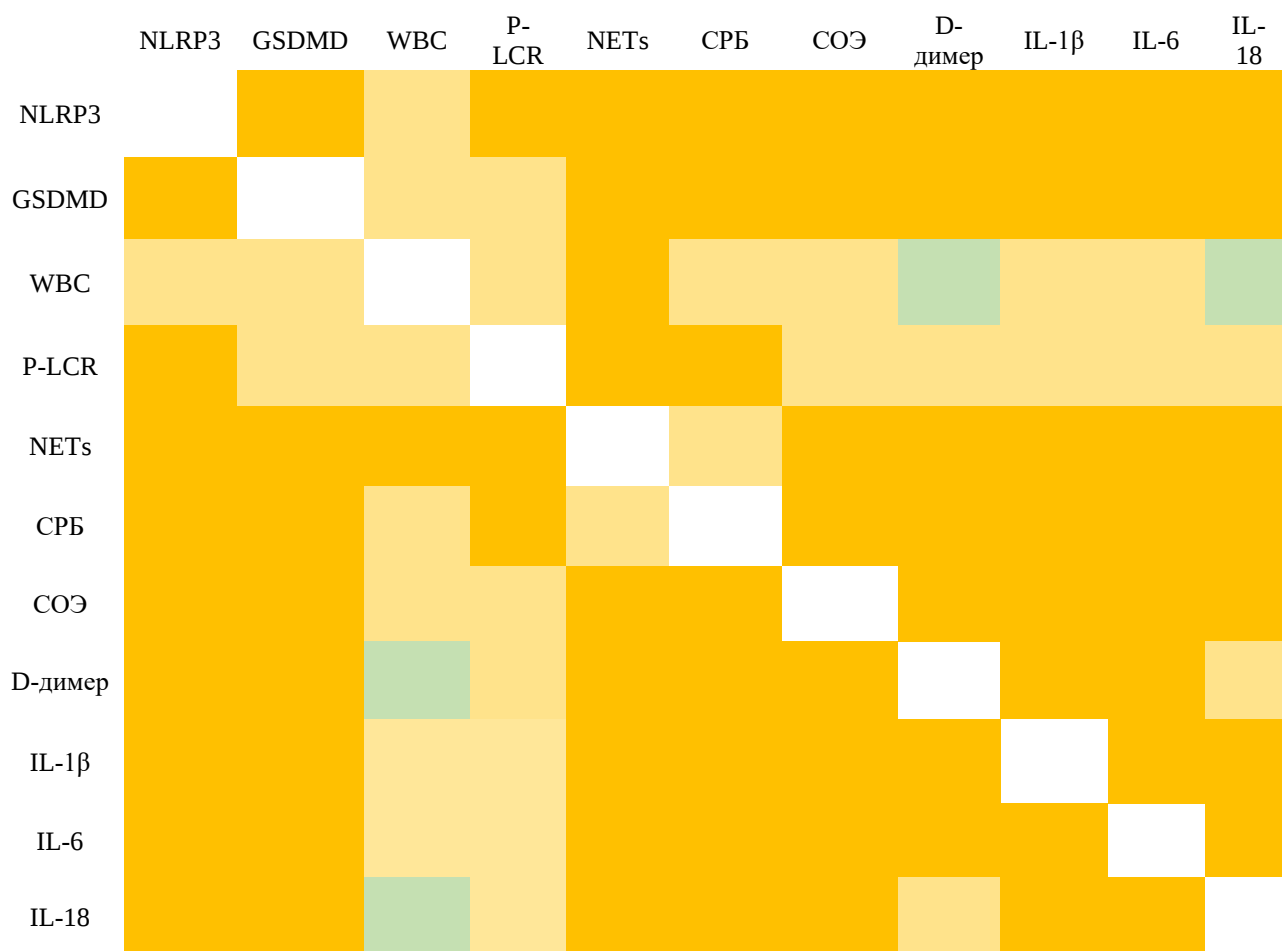


Рисунок 23 – Термокарта корреляционных взаимодействий исследуемых показателей через 6 месяцев у больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19

Примечание: оранжевым – средняя, бежевым – умеренная, зеленым – слабая.

Для GSDMD выявлена корреляция среднего уровня с NETs, D-димером, IL-1 β , IL-6, IL-18, СОЭ, СРБ; умеренной с WBC и P-LCR. Слабая корреляционная связь сохранялась между WBC и IL-1 β , IL-18.

Установленный характер корреляционных взаимодействий между изучаемыми параметрами подтверждает гипотезу о том, что активация каскада NLRP3 – GSDMD является одним из механизмов развития системного воспаления на раннем этапе реконвалесценции у больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 в легкой форме (рисунок 24).

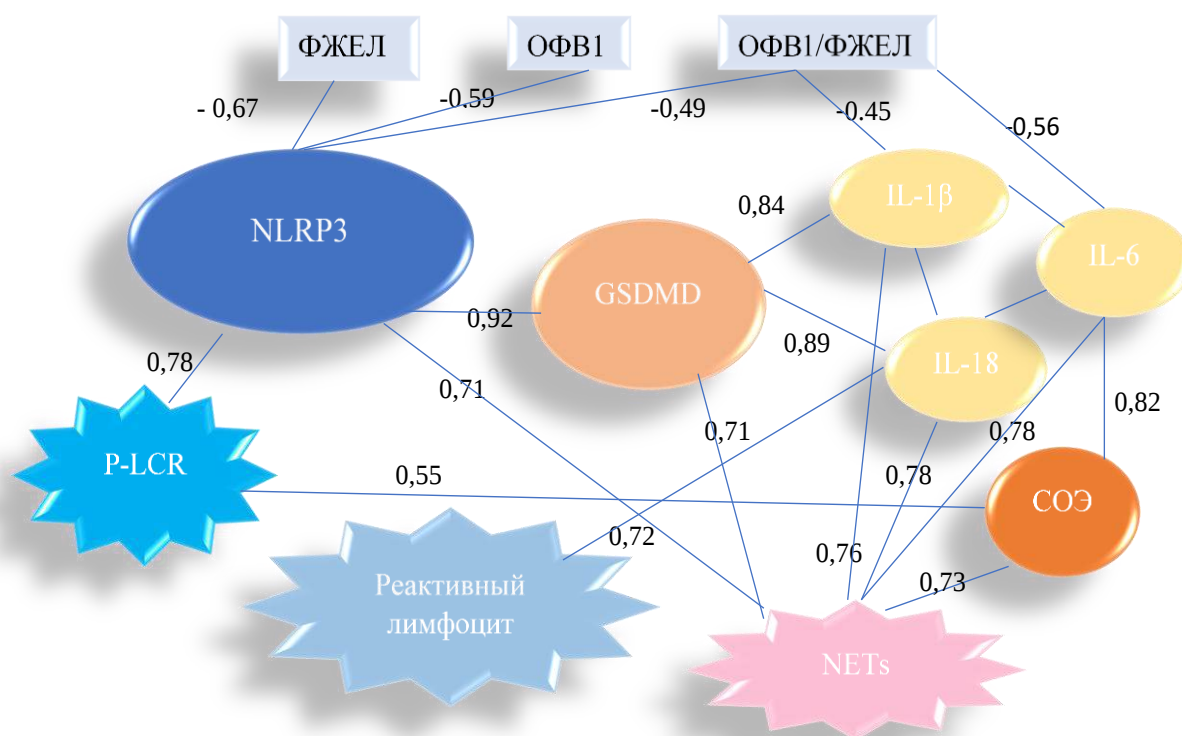


Рисунок 24 – Корреляционные связи между маркерами воспаления, ФВД у больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19, на раннем этапе реконвалесценции

Ранний этап реконвалесценции характеризуется высокой интенсивностью взаимодействий, вовлечением в процесс значительного количества участников. Наиболее высокий уровень взаимодействий формируется для NLRP3 (6 связей), IL-18 (5 связей), GSDMD, IL-1 β , IL-6 (4 связи). Корреляция NLRP3 и NETs ($r=0,71$) положительная, при повышении уровня активации NLRP3 в целом растёт и количество образующихся NETs, и наоборот. Активация NLRP3 в нейтрофилах может усиливать их готовность к NETosis – процессу выброса NETs. В этом участвуют и другие факторы, поддерживающие сборку NLRP3, и напрямую способствует деконденсации хроматина, необходимой для формирования ловушек. Корреляция между GSDMD и NETs ($r=0,71$) характеризует процесс, при котором белок гасдермин D приводит нейтрофил к нетозу. Положительная корреляция между цитокинами ($r=0,82$), реактивными лимфоцитами ($r=0,72$), P-LCR ($r=0,75$) и СОЭ характеризует интенсификацию воспаления.

Отрицательная корреляционная связь между ОФВ1/ФЖЕЛ и IL-1 β ($r= -0,95$) и IL-6 ($r= -0,76$) согласуется с патофизиологией астмы). И IL-1 β , и IL-6 – провоспалительные цитокины. Их повышенная продукция запускает каскад: привлекает клетки воспаления, способствует отёку слизистой, бронхоспазму, а в долгосрочной перспективе – ремоделированию дыхательных путей.

NLRP3 формирует отрицательные взаимосвязи с тремя показателями ФВД – ФЖЕЛ, ОФВ1, ОФВ1/ФЖЕЛ. Увеличение уровня NLRP3 ассоциируется со снижением показателей функции лёгких.

Для оценки интенсивности сопряженности процессов и выделения триггерных показателей были рассчитаны интегральные индексы. Как показал анализ данных, наименьшие значения были выявлены для больных БА – Дв составил 25,4 %, среднее значение статистически значимых корреляционных связей – 0,62, их сумма 7,11 (рисунок 25).

У пациентов с БА после перенесенного COVID-19 показатель Дв увеличивается с 25,4% до 42,9% на раннем этапе реконвалесценции. Это самый высокий уровень за весь период наблюдения. Возможно, это объясняется тем, что происходит активация иммунного ответа после вирусной инфекции, усиление системных воспалительных процессов, нарушение регуляторных механизмов у пациентов с БА после COVID-19, появление новых патологических взаимосвязей в организме из-за повреждения тканей вирусом, компенсаторные реакции организма в ответ на воздействие вируса.

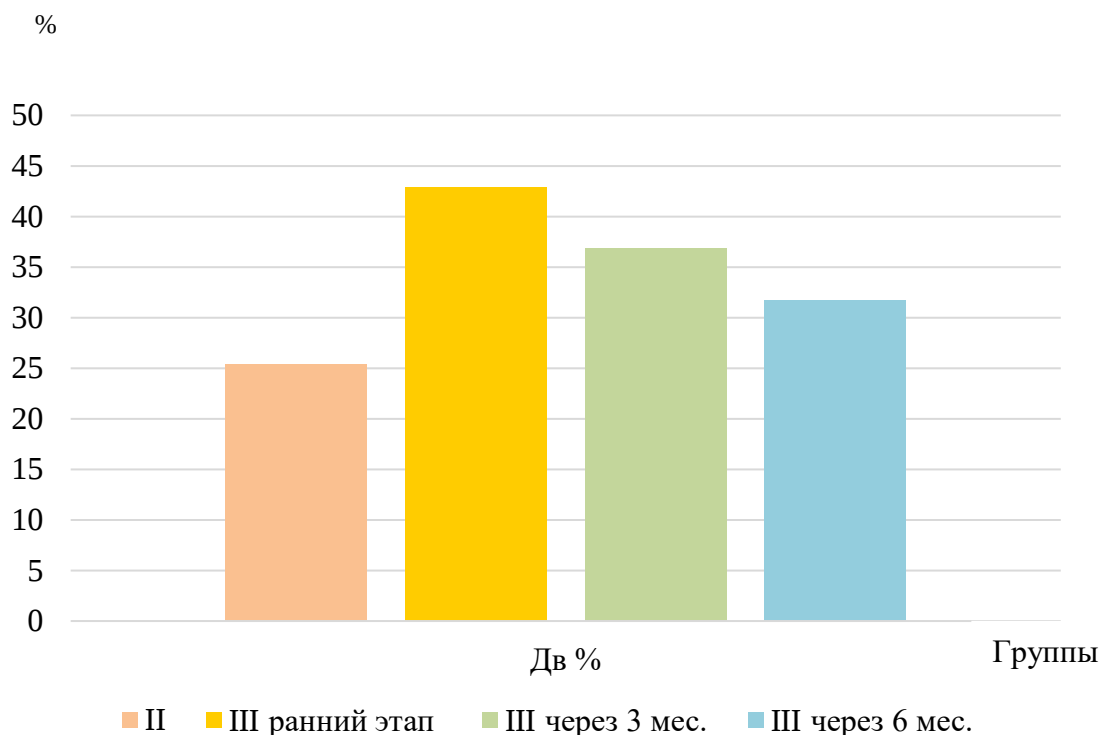


Рисунок 25 – Динамика показателя Дв (%) у больных БА

Через 3 месяца показатель снижается до 36,8%. Объясняется это началом стабилизации физиологических процессов, частичным восстановлением регуляторных механизмов, угасанием острой воспалительной реакции. Через 6 месяцев Дв снижается до 31,7%. Данные указывают на продолжение нормализации регуляторных процессов, уменьшение числа корреляционных связей, приближение к

исходному состоянию (но неполное возвращение к нему), сохранение остаточных эффектов после COVID-19 даже через полгода.

Анализ динамики среднего значения корреляционных связей у больных БА после перенесенной COVID-19 и больных БА, не перенесших COVID-19, продемонстрировал сходную картину (рисунок 26).

Наблюдался высокий уровень интенсивности взаимодействий в раннем периоде реконвалесценции (увеличение Дв с 0,62 до 0,88 по сравнению с больными БА). Далее выявлено снижение показателя Дв через три месяца до 0,82 и через шесть месяцев – до 0,76.

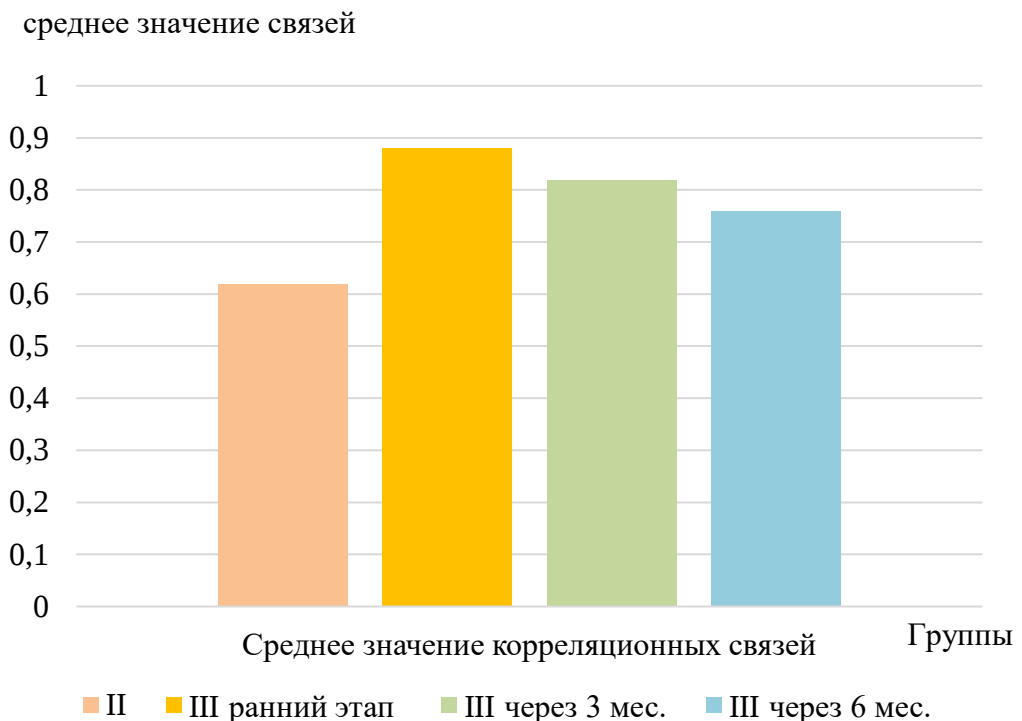


Рисунок 26 – Динамика среднего значения корреляционных связей у больных БА

Увеличение среднего значения связей может отражать активацию компенсаторных механизмов, когда организм пытается стабилизировать состояние через усиление регуляторных связей, развитие системного воспаления, нарушение

нормальной регуляции (сохраняется состояние повышенной взаимозависимости параметров), формирование патологических петель обратной связи (воспаление → повреждение тканей → усиление воспаления), стресс-реакцию организма на перенесённую инфекцию.

Динамическое снижение говорит о постепенной нормализации регуляторных процессов, угасании острой воспалительной реакции, восстановлении автономности отдельных физиологических систем. В то же время данный параметр через 6 месяцев остается выше значений в группе сравнения, что может указывать на сохранение системного воспаления.

Анализ динамики суммы корреляционных связей (рисунок 27) демонстрирует рост их среднего значения с 7,11 до 11,6 (на 63,2%) в раннем этапе восстановления.

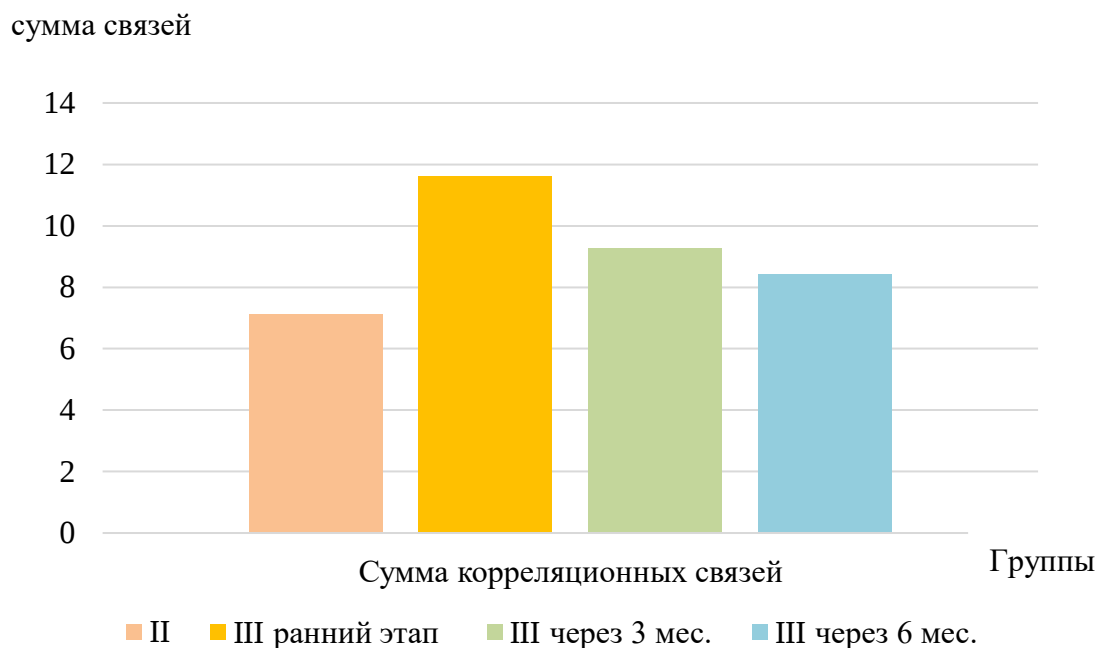


Рисунок 27 – Динамика суммы корреляционных связей у больных БА

Через 3 месяца наблюдается снижение среднего значения суммы корреляционных связей до 9,27 и через 6 мес. – до 8,42. Через 6 месяцев выявлено

отклонение данного показателя на 18,4% от параметров группы сравнения. Динамика имеет выраженный пикообразный характер с резким подъёмом сразу после болезни и постепенным снижением в последующие месяцы. Но через полгода полностью не возвращается к исходному уровню.

Важно отметить согласованность динамики индекса Дв, среднего и суммарного значения корреляций. Пик индекса Дв отмечается в раннем периоде реконвалесценции, когда система характеризуется множеством сильных связей, что типично для стрессового состояния. Постепенное снижение значений показателей через шесть месяцев свидетельствует о восстановлении баланса. В тоже время отмечается неполное возвращение к норме, значения параметров остаются выше группы сравнения, что подтверждает долгосрочное влияние COVID-19 на регуляторные процессы у больных БА и свидетельствует о продолжающейся активации воспалительного процесса.

ГЛАВА 4. БИОМАРКЕРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ АСТМОЙ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19

SARS-CoV-2 инфекция является значимой проблемой несмотря на то, что статус пандемии она уже утратила. Последствия перенесенной инфекции достаточно серьезные, особенно у иммуно-компрометированных лиц, к которым относятся больные бронхиальной астмой [149].

Разработка подходов к прогнозированию риска развития затяжного воспалительного процесса у больных БА, после перенесённой SARS-CoV-2 инфекции, является важным исследовательским направлением, открывающим возможности для предупреждения формирования стойкого воспалительного ответа.

Для выделения биомаркеров интенсификации воспалительного ответа у больных БА, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию, была проведена категоризация маркеров гипервоспаления, обусловивших неблагоприятный эффект. Категоризация применялась для двух количественных переменных GSDMD и NLRP3 (рисунок 28).

Процедура нахождения разделяющего значения для этих переменных включала три этапа. На начальном этапе оценивалась не случайность ассоциации формирования нарушений и значений выбранных переменных – GSDMD и NLRP3 на базе корреляционного анализа.

С помощью непараметрических тестовых статистик проверялись статистические гипотезы о различиях исследуемых переменных при разных уровнях воспалительной реакции у больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 легкого течения.

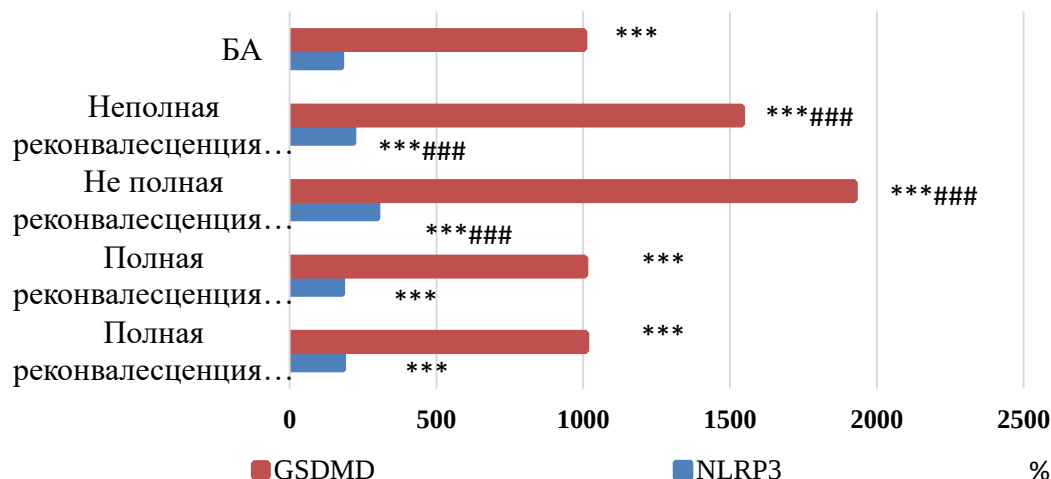


Рисунок 28 – Показатели гипервоспаления у больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 легкого течения

Примечание: * обозначена статистическая значимость различий с контрольной группой. # - $p \leq 0,05$, ## - $p \leq 0,01$, ### - $p \leq 0,001$. Группы

Как показал статистический анализ с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни, выявлены статистически значимые различия ($p < 0,05$) между уровнем NLRP3 в группе с полной реконвалесценцией и в группе с неполной реконвалесценцией ($p = 0,000135$). Выявлены статистически значимые различия ($p < 0,05$) между GSDMD в группе с полной реконвалесценцией и таковым в группе с неполной реконвалесценцией ($p = 0,001766$).

На втором этапе, с применением ROC-анализа, определили, где находится разделяющий порог (или оптимальная пороговая точка, точка отсечения (англ. cut-off)) для GSDMD и NLRP3 (рисунки 29, 30). На третьем этапе оценивали рабочие характеристики (меры валидности) диагностического теста [88]. При использовании значения GSDMD – 0,38 нг/мл в качестве, разделяющего порога между полной и неполной реконвалесценции, чувствительность (Se) составила 85%, а специфичность (Sp) – 91%. Показатель AUC составил 89%, что соответствует хорошей

диагностической точности теста. При использовании значения NLRP3 – 0,04 нг/мл в качестве, разделяющего порога между полной и неполной реконвалесценции, чувствительность составляет 82%, а специфичность – 87%. Показатель AUC составил 85,8%, что соответствует хорошей диагностической точности теста.

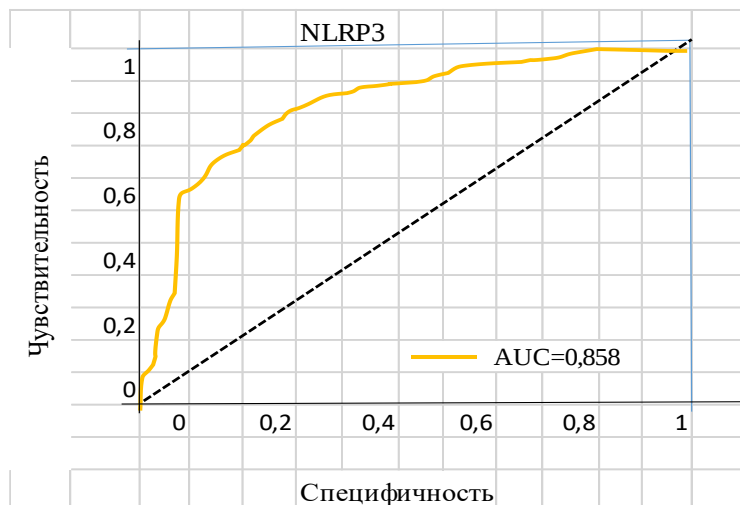


Рисунок 29 – ROC кривая для NLRP3 для больных бронхиальной астмой, перенесших COVID-19

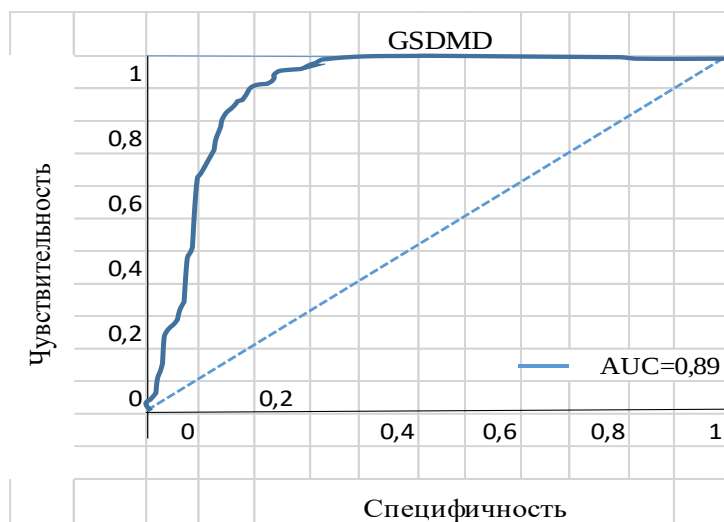


Рисунок 30 – ROC кривая для GSDMD для больных бронхиальной астмой, перенесших COVID-19

Результаты проведенного исследования подтверждают значимую роль инфламмасомы NLRP3 в механизмах гипервоспаления у больных бронхиальной астмой, перенёсших COVID-19. Данная взаимосвязь представляет особый интерес, поскольку объединяет процессы хронического воспаления, характерного для БА, и вирус-индуцированного воспалительного ответа при SARS-CoV-2 инфекции. Сочетание этих факторов формирует уникальный патогенетический фон, предрасполагающий к длительному течению воспаления позволяет спрогнозировать развитие постковидных нарушений у больных БА.

Развивающийся воспалительный ответ при БА и COVID-19, приобретает циклический характер. Вирус-индуцированная активация NLRP3 вызывает избыточное высвобождение цитокинов, что ведет к повреждению эпителия дыхательных путей, эндотелия сосудов, и усилению сенсibilизации тканей легкого и повторной активации NLRP3 [106]. Длительная активация NLRP3 и GSDMD может приводить к персистирующему гипервоспалению и нарушению механизмов репарации тканей. В настоящем исследовании продемонстрировано, что через шесть месяцев после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции у больных БА сохраняются повышенные уровни NLRP3 и GSDMD, сопровождающиеся признаками астенического синдрома, снижением параметров функции внешнего дыхания и снижением контроля основного заболевания. Полученные данные согласуются с результатами зарубежных и отечественных исследований, свидетельствующих о длительной активации провоспалительных путей, после перенесенного COVID-19 у лиц с хронической бронхолегочной патологией [80; 82; 99].

Важно отметить, что гиперактивация инфламмасомы может способствовать хронизации воспалительного процесса [70; 109]. Согласно результатам проведенного ROC-анализа уровни NLRP3 и GSDMD продемонстрировали высокую диагностическую точность прогноза формирования пролонгированного воспалительного процесса. Эти показатели могут рассматриваться как потенциальные

биомаркеры риска развития нарушений у больных БА в постковидном периоде и ухудшения контроля заболевания.

Таким образом, совокупность полученных данных позволяет предположить, что у больных БА после перенесенного COVID-19, инфламмасы NLRP3 и белок GSDMD играют значимую роль в поддержании воспаления и развитии постковидных нарушений. Одновременное повышение $NLRP3 > 0,04$ нг/мл, $GSDMD > 0,38$ нг/мл, указывает на возможность развития пролонгированного гипервоспалительного процесса и может быть использовано для разработки подходов к прогнозу риска формирования устойчивого воспалительного фенотипа.

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Бронхиальная астма остается одним из самых распространенных хронических воспалительных заболеваний дыхательных путей, поражающим миллионы людей во всем мире [10; 12; 13; 120; 121; 123; 124; 133]. Пандемия SARS-CoV-2 инфекции внесла существенные коррективы в клиническое течение и тактику ведения больных с обструктивными заболеваниями легких [24; 28; 29; 30; 114; 116; 117]. Несмотря на накопленный опыт, механизмы долгосрочного влияния COVID-19 на иммунопатогенез БА остаются недостаточно изученными.

Одним из ключевых звеньев врожденного иммунитета, ответственным за инициацию воспалительного ответа, являются инфламмосомы – мультибелковые комплексы, среди которых наиболее изучена NLRP3-инфламмосома [9; 33; 49]. Активация инфламмосом приводит к высвобождению высоко активных провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-18 и запуску пироптоза. Существуют доказательства, что как при тяжелых фенотипах БА, так и при остром COVID-19 гиперактивация NLRP3 играет ведущую роль в формировании и прогрессировании патологического процесса [93; 109].

После перенесенной инфекции SARS-CoV-2 у значительной части пациентов наблюдается феномен ПКС, характеризующийся сохраняющимся системным воспалением [119]. У больных БА вирусная инфекция может служить триггером для перестройки иммунного ответа, «программируя» моноциты и макрофаги в сторону провоспалительного фенотипа [22; 51; 118]. Это создает условия для персистирующего инфламмосом-обусловленного воспаления, которое может способствовать развитию коморбидных состояний, связанных с системным воспалением (кардиоваскулярные нарушения, метаболические расстройства) и утяжелять течение астмы

Изучение инфламмасом – обусловленного системного воспаления у больных бронхиальной астмой, перенесших COVID-19, является своевременным и необходимым шагом для персонализации стратегии лечения, направленной на снижение риска развития длительного воспалительного процесса и улучшение контроля над заболеванием в условиях меняющейся эпидемиологической реальности.

Проведенное исследование позволило комплексно оценить динамику воспалительных маркеров, цитокинов и морфологических показателей клеток крови у пациентов без бронхолегочной патологии, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию легкого течения и у пациентов с БА после перенесенного COVID-19 на раннем этапе реконвалесценции, через один, три и шесть месяцев.

Ранний этап реконвалесценции COVID-19, характеризуется тем, что в периферической крови встречаются активированные формы лимфоцитов с широкой цитоплазмой, содержащей гранулы. Наблюдается гипер- и гипосегментация ядер нейтрофилов, большое количество вакуолей в цитоплазме моноцитов, появляются нейтрофильные ловушки. Морфологическая картина иммунокомпетентных клеток характерна для вирусного поражения клеток, в ответ на которое происходит активная выработка цитокинов и поглощение фагоцитами микроорганизмов, а также продуктов жизнедеятельности патогенов [54; 81; 85; 137; 161]. При микроскопии окрашенных мазков крови выявлено наличие гигантских тромбоцитов 3–5 в поле зрения, содержание которых прямо коррелировало с выраженной гиперкоагуляцией (уровень D-димера превышал показатели контрольной группы на 25%). Крупные тромбоциты – это зачастую "молодые" формы, которые выбрасываются в кровь в ответ на их потребление в очагах воспаления. Макротромбоциты содержат больше плотных гранул и выделяют больше тромбосана, что делает их более агрессивными в плане агрегации. Рост фракции крупных тромбоцитов (P-LCR) часто предшествует подъему уровня D-димера, так как эти клетки активнее участвуют в формировании фибриновых сгустков [11; 44; 131]. Данная морфологическая картина свидетельствует

о глубоких нарушениях реологии крови и интенсивности внутрисосудистого воспаления, ведущего к системным расстройствам. Исследования D-димера при COVID-19 составляют огромный пласт научной литературы, так как этот показатель стал основным маркером «ковидной коагулопатии» и риска развития тромбозов [85]. В литературе описаны случаи тромбоцитопенических реакций при COVID-19, ассоциированных с развитием микроангиопатической гемолитической анемии и полиорганной недостаточности [18; 42]. Очевидно, что наблюдаемое в периоде ранней реконвалесценции преобладание молодых форм (макротромбоцитов) является компенсаторным ответом костного мозга на массивную секвестрацию зрелых тромбоцитов в легочной ткани в острый период заболевания.

Процесс системной воспалительной реакции подтверждался статистически значимым повышением уровней С-реактивного белка. Результаты нашего исследования подтверждаются данными других авторов – описаны случаи сохранения воспалительного профиля у реконвалесцентов, пациентам проводились исследования СРБ как маркера, коррелирующего с объемом поражения легких [60]. В работе Zhou F. высокий уровень СРБ показан как один из показателей неблагоприятного исхода COVID-19 [164; 165].

В нашей работе у пациентов также повышенный уровень СРБ сохраняется длительный период, прослеживается корреляция СРБ с интерлейкинами IL-1 β , IL-6, IL-18. В научных работах отмечается связь СРБ с уровнем IL-1 β , IL-6 в остром периоде COVID-19, показана роль интерлейкинов IL-1 β и IL-6, как инициаторов «цитокинового шторма» [37; 53]. IL-1 β вырабатывается преимущественно макрофагами и моноцитами при встрече с вирусом SARS-CoV-2. IL-1 β стимулирует выработку других провоспалительных цитокинов, включая IL-6. В остром периоде эти два цитокина работают в связке: IL-1 β запускает воспалительный процесс, а IL-6 усиливает и распространяет его по всему организму. IL-6 считается основным маркером тяжести течения COVID-19 и главным «дирижером» системного

воспаления. В нашей работе мы также отмечаем в первые месяцы после COVID-19 экспрессию интерлейкинов на фоне морфологических изменений моноцитов (вакуолизация цитоплазмы). Высокий уровень IL-1 β способствует активации инфламмасом, что может приводить к гибели клеток легких [93]. В нашей работе мы отмечаем значительное количество погибших гранулоцитов и высокие уровни NLRP3 и GSDMD в раннем периоде реконвалесценции в период от 1- 3 месяцев.

Изменения реологических свойств крови у реконвалесцентов, характеризующиеся гиперкоагуляцией (по уровню D-димера) и изменением морфологии тромбоцитов (увеличение количества макроформ), являются следствием IL-6-зависимой активации гемостаза. Характерные для острой фазы COVID-19 тромбозы и микроангиопатии могут объясняться персистенцией этих явлений в течение первых месяцев после выздоровления [85].

В нашем исследовании у группы лиц, перенесших COVID-19 в раннем периоде реконвалесценции, зафиксирована активация инфламмасомного пути, представленная повышением содержания белка NLRP3 и эффекторного маркера пироптоза – гасдермина D. Это подтверждается в ряде научных публикаций, описывающих острую фазу SARS-CoV-2 инфекции, где активация NLRP3 играет ключевую роль в формировании «цитокинового шторма», запускающего пироптоз [62]. Сильные корреляционные связи между NLRP3 и GSDMD ($r=0,92$), GSDMD и IL-1 β , и IL-6 ($r=0,84$), GSDMD и IL-18 ($r=0,89$) подтверждают цепочку, в которой активация NLRP3, $\rightarrow$ каспазы 1, $\rightarrow$ расщепления GSDMD $\rightarrow$ образование пор в мембране $\rightarrow$ выброс IL-1 β . Выявленные корреляционные взаимодействия отражают эту последовательность событий в исследуемой группе. Зафиксированная высокая корреляция между NLRP3 и P-LCR у больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19, на раннем этапе реконвалесценции также связана с высоким содержанием инфламмасом, с которыми может быть связана активная выработка макротромбоцитов.

В периоде реконвалесценции от 1 до 3 месяцев после перенесенного COVID-19 у 20% пациентов сохранялись морфологические признаки, характерные для ранней фазы восстановления. При микроскопии мазков периферической крови все так же встречались деструктивно измененные гранулоциты и нейтрофильные внеклеточные ловушки. Динамика острофазовых показателей (СРБ, СОЭ) и провоспалительного цитокинового профиля (IL-1 β , IL-6, IL-18), NLRP3 и GSDMD оставались на уровне ранней фазы реконвалесценции. Постковидные нарушения, описанные в публикациях, касаются в основном пациентов, перенесших острый тяжелый COVID-19. Основные направления и ключевые выводы касались сохранения воспалительного профиля. В ряде исследований наблюдалось повышение уровней IL-1 β и IL-6, в некоторых статьях описывались случаи активации инфламмасомы NLRP3 [62]. Это может объяснять, почему у пациентов наблюдается субфебрильная температура, снижение диффузионной способности легких, они продолжают чувствовать слабость спустя 2 месяца после болезни. Исследования показывают, что у 30–50% госпитализированных ранее пациентов через 3 месяца на КТ все еще сохраняются изменения по типу «матового стекла» или признаки формирующегося фиброза [81]. Следует обратить внимание, что в нашем исследовании у группы пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, в первые три месяца реконвалесценции также отмечались повышенные уровни провоспалительных маркеров, морфологические изменения клеток крови и сдвиги в системе гемостаза в сторону гиперкоагуляции. Примечательно, что данные изменения регистрировались при отсутствии патологических процессов в легочной ткани.

Через полгода показатели пациентов после перенесенного в легкой форме COVID-19 демонстрируют положительную динамику восстановления, однако не все показатели достигают уровня контрольной группы. Сохранение через шесть месяцев у пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, умеренной активации инфламмасомы и медленное снижение повышенных значений GSDMD может

свидетельствовать о вялотекущем воспалительном процессе и формировании у данной категории пациентов предпосылок для постковидных нарушений, свойственных преимущественно для пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой форме. В научных публикациях описаны исследования, где состояние пациентов оценивалось через 6–9 месяцев после острой фазы SARS-CoV-2 инфекции. У 161 пациента с острым COVID-19 выявлены повышенные уровни NLRP3, каспаза-1, СРБ, IL-18, IL-1 β и GSDMD коррелировали с тяжестью симптомов (физические, аффективные, хроническая усталость), особенно у тех, у кого во время острой инфекции были высокая температура и низкая сатурация O₂. Маркеры GSDMD и NLRP3 объясняют 49,5% вариации симптомов и предлагаются как мишени терапии. Публикации последнего периода обсуждают роль NLRP3 в патогенезе COVID-19, но без фокуса на долгосрочные периоды реконвалесценции (6 месяцев) [4;71].

В группе больных астмой без COVID-19 в анамнезе была характерна лабораторная картина хронического системного воспаления, что прослеживается и в публикациях по данной проблеме [23; 32; 34; 51; 56; 61; 74; 75; 76; 77; 79] В нашей работе превышение референсных значений СРБ, СОЭ и D-димера сопровождалось повышенной продукцией ключевых провоспалительных интерлейкинов IL-1 β , IL-6, что подтверждает базовый воспалительный статус обследуемых.

Уровень D-димера при бронхиальной астме является важным показателем, который отражает тесную связь между хроническим воспалением дыхательных путей и активацией системы гемостаза. Несмотря на то, что D-димер традиционно считается маркером тромбообразования, в пульмонологии его рассматривают как индикатор тяжести системного воспалительного ответа [11]. Показатели часто находятся в пределах референтных значений или демонстрируют минимальное повышение, это отражает контролируемое течение заболевания без выраженной системной активации коагуляции.

Цитокиновый профиль больных БА, как показывает анализ данных литературы, часто характеризуется дисбалансом, проявляющимся повышенными уровнями провоспалительных интерлейкинов, конкретные изменения могут варьировать в зависимости от фенотипа и тяжести заболевания [56; 57; 77; 103; 111; 136; 153]. В нашей работе у группы больных БА интерлейкины IL-1 β , IL-6 характеризовались высокой экспрессией по сравнению с группой сравнения, эти изменения характерны для системного воспалительного процесса, который выявляется даже у больных легкой БА.

Установленная активация каскада NLRP3-гасдермин D, вызывает особый интерес, указывая на триггерную роль инфламмасом в молекулярном патогенезе БА. Полученные данные расширяют представление о способности NLRP3 реагировать на широкий спектр стимулов – аллергены, активные формы кислорода и вирусы, запуская каскад высвобождения провоспалительных цитокинов при БА легкого течения, хотя литературные данные свидетельствуют о том, что эти процессы характерны для тяжелого течения БА [9; 152]. Публикации, посвященные вовлечению инфламмасомных путей в патогенез БА легкого течения практически отсутствуют. В нашем исследовании впервые показана возможность активации NLRP3 при легкой форме течения данного заболевания. Это определяет настороженность при ведении пациентов с БА.

Полученные результаты показали, что у больных БА, перенесших COVID-19, воспалительный ответ был более выраженным по сравнению с группой сравнения (больные БА). В раннем периоде реконвалесценции наблюдалось повышение D-димера в 3 раза, СРБ, СОЭ, IL-1 β в 2 раза.

Роль D-димера (продукта деградации фибрина) в патогенезе сочетания бронхиальной астмы и COVID-19 выходит за рамки простого маркера тромбообразования. В современной иммунологии это ключевой индикатор иммунотромбоза – тесной взаимосвязи между свертыванием крови и воспалением.

Повышение D-димера у данной группы пациентов указывает на гиперреактивацию системы комплемента, которая повреждает эндотелий сосудов. А также на активацию синтеза тканевого фактора моноцитами и макрофагами, что запускает внешний путь свертывания в очаге воспаления. Повышение D-димера у больных БА, перенесших COVID-19, свидетельствует о микрососудистом повреждении, что приводит к нарушению вентиляционно-перфузионных отношений, и усугубляет гипоксию. Если у больных БА легкой степени тяжести уровень D-димера остается повышенным через несколько месяцев после COVID-19, то это указывает на незавершенный процесс фибринолиза и продолжающееся субклиническое воспаление в сосудистом русле легких и, может быть, одной из причин нарушений в постковидном периоде.

У больных БА, перенесших COVID-19, уровни NLRP3 и GSDMD были повышены более чем на 400 и 800% соответственно, относительно контрольных значений, что указывает на активацию инфламмасомного пути и развитие гипервоспалительного состояния. Такая активация, возможно, является результатом взаимодействия двух патологических процессов: хронического воспаления при астме и вирус - индуцированного воспаления при COVID-19. Сочетание этих механизмов формирует состояние затяжного системного воспаления, сопровождающегося нарушением регуляции цитокинового ответа, изменением морфологии иммунокомпетентных клеток и активацией нейтрофильных ловушек. Нейтрофилы, являясь «первой» линией защиты от патогенов, используют такие функции, как фагоцитоз, грануляцию и образование активных форм кислорода. Формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек является фундаментальным механизмом врожденного иммунного ответа, направленным на нейтрализацию широкого спектра патогенов [161; 166]. В условиях коморбидности БА и COVID-19 данный процесс может приобретать синергический характер. Учитывая, что БА представляет собой хроническую прогрессирующую патологию, а SARS-CoV-2 характеризуется выраженной тропностью к легочной ткани, сочетанное течение этих заболеваний

способствует генерализации иммунного ответа, переводя воспалительный процесс из локального в системный статус.

Длительный мониторинг больных БА в постковидном периоде позволил выделить две подгруппы в зависимости от характера восстановления: подгруппа с полной и подгруппа с неполной реконвалесценцией. У пациентов подгруппы с полной реконвалесценцией и отсутствием устойчивого гипервоспалительного профиля в раннем периоде реконвалесценции до месяца сохранялись высокие показатели воспалительных маркеров с тенденцией уменьшения концентрации к трем месяцам. К шести месяцам постепенная нормализация показателей ФЖЕЛ, лабораторных маркеров, NLRP3 и GSDMD до уровней, сопоставимых с аналогичными параметрами у больных БА. Напротив, у пациентов подгруппы с неполной реконвалесценцией и симптомами устойчивого гипервоспаления в периоде ранней реконвалесценции до трех месяцев фиксируется стойкое повышение воспалительных маркеров и снижение респираторной функции. К шести месяцам наблюдается медленное улучшение исследуемых параметров, сохраняются статистически значимые отклонения уровней NLRP3 и GSDMD, а также, снижение показателей вентиляционной функции легких. Клиническая картина в данной группе характеризуется высокой частотой обострений БА, что подтверждает персистенцию инфламмасом-опосредованного воспаления и незавершенность процессов иммунной регуляции [132; 139; 152; 155; 158]. Научные исследования подтверждают, что NLRP3 играет значимую роль как в патогенезе БА, особенно при её тяжелой форме, так и в развитии «цитокинового шторма» при COVID-19 тяжелого течения. Данная картина наших исследований согласуется с современными представлениями о том, что SARS-CoV-2 вызывает дисрегуляцию врожденного иммунного ответа и способствует чрезмерной продукции цитокинов, что лежит в основе гипервоспалительного синдрома тяжелых форм SARS-CoV-2 инфекции [35; 155; 157]. Поскольку у больных БА уже наблюдается дисрегуляция врожденного иммунного ответа и NLRP3 находится в состоянии пре-активации, вирус

SARS-CoV-2 напрямую или через активные формы кислорода активирует NLRP3, что приводит к более выраженному воспалительному ответу и как следствие длительному выздоровлению [48]. Сочетанная патология БА и COVID-19 создает эффект «двойного удара». Если при БА NLRP3 уже находится в состоянии прайминга, то вирус SARS-CoV-2 выступает как мощный вторичный триггер, приводящий к гиперэргическому воспалению. Сохранение повышенных значений NLRP3 и GSDMD спустя 6 месяцев после выздоровления у больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 легкого течения, указывает на продолжающуюся активацию воспалительного каскада даже после элиминации вируса.

Активация NLRP3-инфламماسомы запускает пироптоз, сопровождающийся экспрессией IL-1 β и IL-18, что усиливает воспалительный ответ и поддерживает хроническое воспаление. Гасдермин D, образуя поры в мембранах клеток, не только инициирует клеточную гибель, но и способствует выбросу медиаторов воспаления, формируя самоподдерживающийся воспалительный процесс. Результаты нашего исследования подтверждают ключевую роль NLRP3 - GSDMD -зависимого пути в развитии и персистенции системного воспаления у пациентов с легкой БА, перенесших COVID-19 в легкой форме.

Вирусные инфекции являются мощными усилителями пироптоза, они индуцируют митохондрии вырабатывать активные формы кислорода, что приводит к олигомеризации и активации NLRP3. Примечательно, что цитоплазматические вирусные компоненты также могут активировать неканонический путь инфламماسомы, вовлекая каспазу-4/5 у людей (каспазу-11 у мышей), увеличивая частоту обострений при бронхиальной астме тяжелого течения [53; 62; 71; 82]. Таким образом, SARS-CoV-2 не только индуцирует острое воспаление, но и формирует условия для его хронизации при БА.

В исследовании установлено, что NLRP3 формирует отрицательные взаимодействия с ФЖЕЛ, ОФВ1, ОФВ1/ФЖЕЛ, таким образом возрастание уровня

NLRP3 ассоциируется со снижением показателей функции лёгких. Такая картина согласуется с рядом литературных данных выявивших образование отрицательных корреляций между содержанием NLRP3 в индуцированной мокроте, сыворотке крови и показателями функции лёгких ФЖЕЛ, ОФВ1, ОФВ1/ФЖЕЛ у пациентов с БА [10; 15; 22; 34; 36; 38]. Данные собственного исследования и литературы свидетельствуют, что активация NLRP3-инфламماسомы вносит вклад в нарушение респираторной функции, вероятно, через усиление локального воспаления и ремоделирование дыхательных путей.

Перенесённый COVID-19 вызывает значительное увеличение интегрального индекса Дв, отражающего тесноту взаимодействий у больных БА на этапе раннего восстановления. Динамика Дв имеет пикообразный характер с максимумом на раннем этапе реконвалесценции и постепенным снижением в последующие месяцы. Через 6 месяцев показатель Дв не возвращается к исходному уровню, что говорит о сохранении долгосрочных эффектов после инфекции. Изменения Дв отражают динамику регуляторных нарушений и процесс восстановления у больных БА после COVID-19. Полученные данные подчёркивают необходимость длительного мониторинга пациентов с БА, перенёвших COVID-19, даже после клинического выздоровления.

На основании полученных результатов была сформирована схема патофизиологического механизма формирования пролонгированного гипервоспалительного процесса (рисунок 31). Совокупность полученных данных свидетельствует о том, что после перенесенного в легкой форме COVID-19 у пациентов с БА легкой степени тяжести признаки провоспалительного иммунного ответа более выражены, чем у лиц без БА. Активность NLRP3 и GSDMD остается повышенной на протяжении как минимум шести месяцев после выздоровления, что отражает неполное восстановление иммунной регуляции у больных БА легкой степени тяжести, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию легкого течения.

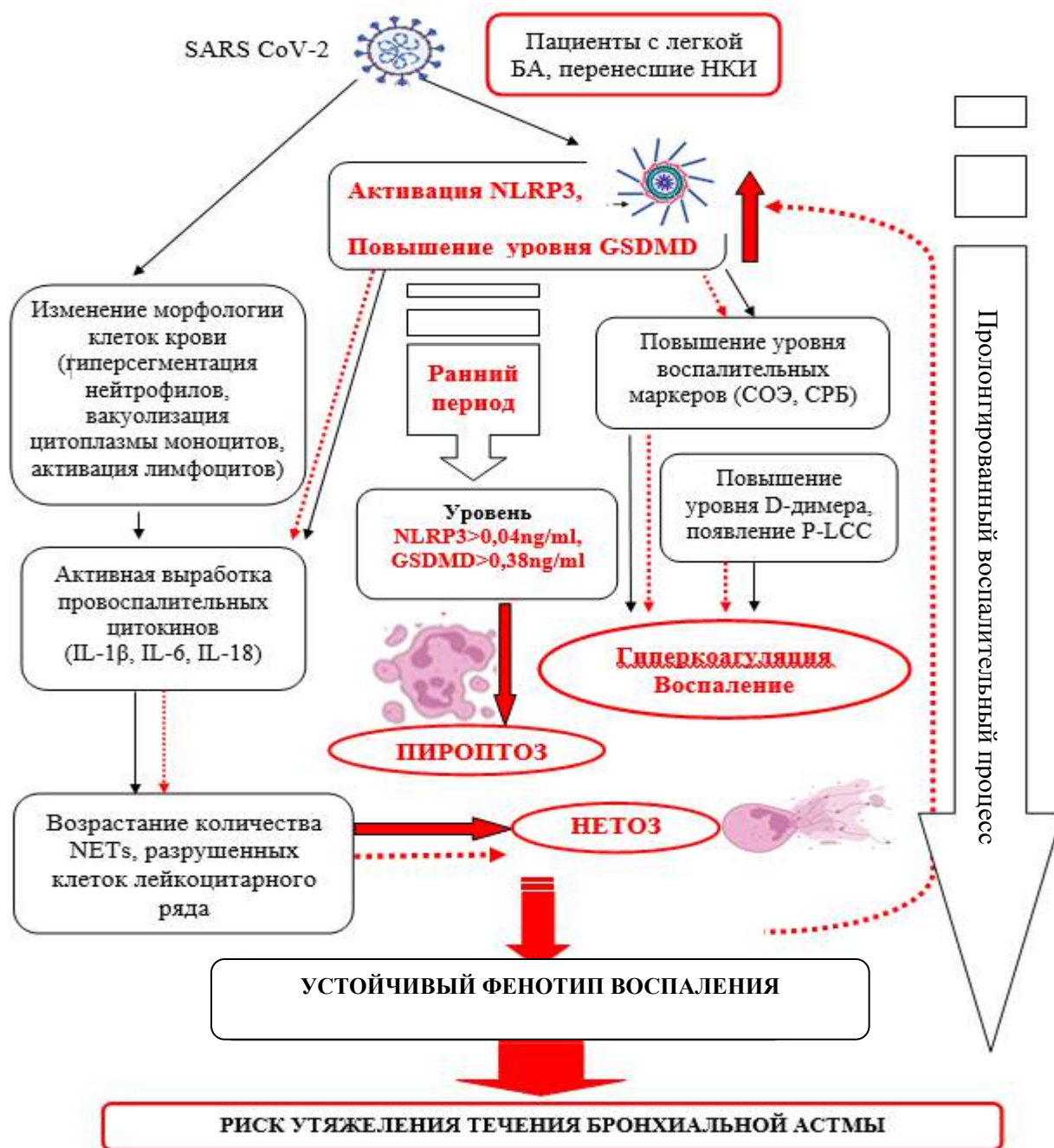


Рисунок 31 – Патогенетическая модель риска развития пролонгированного воспалительного процесса у больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19

Примечание: — показаны взаимосвязи процессов при COVID-19 у больных БА;
→ показано направление формирования нарушений в постковидном периоде у больных БА, перенесших COVID-19.

Сохранение повышенных уровней D-димера, СРБ и цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-18 подтверждает наличие гипервоспалительного состояния и может служить предпосылкой к формированию постковидного синдрома. Для пациентов с БА такие изменения приобретают особую значимость поскольку способны провоцировать обострение заболевания и ускорять ремоделирование дыхательных путей.

Оценка уровней NLRP3 и GSDMD наряду с традиционными биохимическими маркерами СРБ, D-димер, IL-1 β , IL-6, IL-18, может рассматриваться как перспективное направление для диагностики и мониторинга воспалительной активности в постковидный период.

Таким образом, комплексная оценка показателей, отслеживаемых на этапах раннего периода реконвалесценции, через 1, 3 и 6 месяцев после заболевания, расширяет понимание механизмов интенсификации воспалительного процесса при лёгкой форме БА в сочетании с COVID-19 легкого течения. Полученные результаты подтверждают значимость инфламмасом-опосредованного пути в поддержании системного хронического гипервоспаления даже у больных БА легкого течения, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию легкого течения. Наше исследование доказывает необходимость мониторинга маркеров активации инфламмасом не только в остром периоде, но и спустя полгода после COVID-19, что составит полную картину восстановления после инфекции и позволит подобрать своевременный индивидуальный подход в лечении и реабилитации таких пациентов. Открываются перспективы для поиска новых терапевтических мишеней (ингибиторов NLRP3 или специфических блокаторов IL-1 β), разработки таргетных терапевтических подходов, направленных на регуляцию активности NLRP3 и гасдермина D для больных БА, перенесших COVID-19.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как показало наше исследование, несмотря на отсутствие критических повреждений органов в остром периоде, легкая форма SARS-CoV-2 инфекции способна индуцировать стойкую дизрегуляцию иммунного ответа. Процесс восстановления гомеостаза носит нелинейный характер и может быть разделен на несколько этапов: на этапе ранней реконвалесценции наблюдается пик провоспалительных маркеров. Уровень IL-1 β , IL-6 остается повышенным. Затяжной характер их снижения до шести месяцев подчеркивает, что вирус SARS-CoV-2 обладает уникальной способностью нарушать механизмы разрешения воспаления. Данная динамика подтверждает, что клиническое выздоровление при отсутствии симптомов ОРВИ и отрицательном ПЦР-тесте не эквивалентно биологическому выздоровлению в отдаленном периоде.

Традиционно бронхиальная астма рассматривается как локальное хроническое воспаление дыхательных путей. Однако современные данные подтверждают, что БА является системным заболеванием, при котором воспалительный процесс не ограничивается бронхиальным деревом и сохраняется даже при достижении контроля заболевания. Даже вне обострения, продуцируемые в легких медиаторы воспаления (цитокины, активные формы кислорода), попадают в системный кровоток. Это приводит к повышению базовых уровней острофазовых показателей СРБ и СОЭ. Несмотря на отсутствие классической «клинической» картины воспаления, у лиц с БА часто наблюдаются значения СРБ в диапазоне «высокой нормы» (2–5 мг/л). Это свидетельствует о постоянной стимуляции печени цитокинами, в частности IL-6. Последний выступает центральным оркестратором, связывающим местное воспаление в легких с системным ответом. Его персистенция вне обострения поддерживает состояние «готовности» иммунной системы. Особое внимание заслуживает уровень IL-1 β и IL-18. Их присутствие в сыворотке крови указывает на

стимуляцию инфламмасом: у больных БА легкой степени тяжести клетки врожденного иммунитета (моноциты, макрофаги) могут находиться в состоянии преактивации. Наличие «воспалительного профиля» в фазе ремиссии имеет важные последствия. Персистирующее системное воспаление при БА повышает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, метаболического синдрома и ожирения. Высокий уровень IL-1 β вне обострения может быть маркером потенциально низкой эффективности стандартной терапии ингаляционными глюкокортикостероидами.

При изучении маркеров воспаления у пациентов после перенесенного COVID-19, у больных БА, перенесших COVID-19, на разных этапах выздоровления (ранний период реконвалесценции, через 1, 3, 6 мес.) были выявлены особенности течения воспалительного процесса, состояния основных триггерных систем клеточного и гуморального иммунитета, участвующих в механизме длительного воспалительного процесса восстановления после SARS-CoV-2 инфекции. Наибольшее возрастание интегрального индекса Дв, характеризующего сопряженность процессов, числа корреляционных связей и их интенсивности для показателей маркеров воспаления, NLRP3 и GSDMD выявлено на раннем этапе реконвалесценции больных БА, перенесших COVID-19. Обобщив результаты проведенных исследований, мы выявили наиболее значимые патофизиологические механизмы, приводящие к утяжелению течения БА после COVID-19. На раннем этапе выздоровления высокое содержание воспалительных маркеров IL-1 β , IL-6, IL-18, СРБ, СОЭ, D-димера, NETs, макротромбоцитов, приводящих к гипervоспалению, нетозу, пироптозу, усугубляет процесс восстановления больных БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19 легкого течения.

Показатели в подгруппе с неполной реконвалесценцией содержание NLRP3, GSDMD в концентрации выше 0,04 и 0,38 нг/мл явились маркером формирования риска пролонгированного воспалительного процесса у больных БА после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции легкого течения. Повышение NLRP3, GSDMD

в периферической крови больных говорит о предпосылках для формирования и прогрессирования нарушений в постковидном периоде у данного контингента пациентов, несмотря на легкое течение обеих патологий.

Полученные результаты углубляют понимание механизмов хронического воспаления, отягощенного вирусной инфекцией, и позволяют рассмотреть роль каскада молекулярных патофизиологических процессов, в которых ключевую роль играют инфламмосомы и GSDMD в патогенезе длительных воспалительных изменений.

Таким образом, динамический мониторинг широкого спектра показателей в течение шести месяцев (ранний период реконвалесценции, через 1, 3 и 6 мес.) позволил расширить представления о патогенетических механизмах пролонгированного течения воспаления при БА после перенесенного COVID-19. Показана значимость инфламмосом-опосредованного пути в поддержании системного гипервоспаления даже при легком течении обоих заболеваний, что обосновывает необходимость длительного контроля маркеров активации NLRP3 и GSDMD. Полученные данные доказывают целесообразность пролонгированного до шести месяцев мониторинга для своевременной оценки полноты восстановления и реализации персонализированного подхода в реабилитации. Выявленные закономерности открывают перспективы для разработки таргетных стратегий, направленных на модуляцию активности NLRP3-инфламмосомы у данной категории пациентов.

ВЫВОДЫ

1. Воспаление у больных БА легкой степени тяжести характеризуется повышенным уровнем IL-6, IL-1 β , СРБ, СОЭ на 5 - 30 % на фоне нормальных значений маркеров инфламмасом-обусловленного воспаления.

2. У больных астмой в течение 3 месяцев после перенесенного COVID-19 сохраняется воспалительный профиль, интенсивность которого постепенно снижается через шесть месяцев. При этом, уровни D-димера, СРБ, цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-18 остаются повышенными и через 6 месяцев после выздоровления.

3. У больных БА через шесть месяцев после перенесенного COVID-19 установлены повышенные уровни NLRP3 на 19% ($p < 0,05$) и гасдермина D на 21% ($p < 0,05$) свидетельствуют о сохраняющемся воспалительном процессе.

4. У больных БА, перенесших COVID-19, наблюдается значительное увеличение тесноты взаимодействия маркеров воспаления, что отражает интегральный индекс Дв, с максимумом его значения (Дв – 42,9%) на раннем этапе реконвалесценции, постепенным снижением через шесть месяцев (Дв – 31,7%), но не достигая значений группы сравнения (Дв – 25,4%). Возрастание уровня NLRP3 и GSDMD в значительной мере ассоциировалось с показателями ФВД (ФЖЕЛ, ОФВ1, ОФВ1/ФЖЕЛ).

5. Выделены маркеры прогнозирования риска формирования пролонгированного гипервоспалительного процесса у больных БА, перенесших COVID-19 легкого течения, которыми являются NLRP3 ($> 0,04$ нг/мл) и GSDMD ($> 0,38$ нг/мл).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

С целью оценки риска формирования пролонгированного гипервоспалительного процесса в постковидном периоде у больных частично контролируемой БА легкой степени тяжести на раннем этапе реконвалесценции рекомендовано определение в сыворотке крови NLRP3, GSDMD.

У больных частично контролируемой БА легкой степени тяжести, перенесших COVID-19, факторами риска пролонгированного воспаления являются уровни NLRP3 выше 0,04 нг/мл, GSDMD выше 0,38 нг/мл.

СОКРАЩЕНИЯ И УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

АФК – активные формы кислорода

АТФ – аденозинтрифосфат

БА – бронхиальная астма

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения.

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИГКС – ингаляционные глюкокортикостероиды

ИКК – иммунокомпетентные клетки

ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром

ОФВ1/ФЖЕЛ – отношение объёма форсированного выдоха за первую секунду
к форсированной жизненной ёмкости лёгких

ПКС – постковидный синдром

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СРБ – С-реактивный белок

ФВД – функция внешнего дыхания

ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких

АСЕ2 – ангиотензинпревращающий фермент 2

ACQ – Asthma Control Questionnaire (опросник контроля над астмой)

AIM2 – absent in melanoma (белок, участвует в регуляции иммунного ответа)

ALR – белок, стимулирующий регенерацию печени

ASC – Apoptosis-associated Speck-like Protein containing a CARD

AUC – Area Under the Curve – площадь под кривой

CARD – Caspase Activation and Recruitment Domain (домен активации и
рекрутирования каспаз)

CASP1 – interleukin-1 converting enzyme (каспаза-1)

CD4 – Cluster of Differentiation 4; кластер дифференцировки 4

COVID-19 – коронавирусная инфекция, вызванная SARS-CoV-2

D-димер – продукт распада фибрина

DAMPs – damage-associated molecular patterns (ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны)

GBD – Global Burden of Disease (Глобальное бремя болезней)

GSDMD – гасдермин D.

IFN- γ – Interferon gamma (интерферон гамма)

IL – interleukin (интерлейкин)

Ig E – Immunoglobulin E (иммуноглобулин E)

IL – interleukin (интерлейкин)

LRR – Leucine-Rich Repeats (повторы, богатые лейцином)

MET – monocyte extracellular traps; моноцитарные внеклеточные ловушки

NET – внеклеточные ловушки нейтрофилов

NF- κ B – транскрипционный ядерный фактор

NLR – NOD-like receptors (семейство внутриклеточных рецепторов распознавания паттернов)

NLRP – NOD-подобные рецепторы, содержащие пириновый домен

NLRP3 – криопирин (cryopyrin), цитозольный белок, NOD-подобный рецептор семейства NLR

NOD – нуклеотид-связывающий домен олигомеризации

PAMPs – pathogen-associated molecular patterns (патоген-ассоциированные молекулярные паттерны).

Pro-IL-1 β – precursor of interleukin-1 β (предшественник интерлейкина 1 β)

Pro-IL-18 – precursor of interleukin-18 (предшественник интерлейкина 18)

PYCARD– (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) цитозольный адаптерный белок, продукт гена PYCARD; также известен как апоптоз-ассоциированный Speck-подобный белок, содержащий CARD.

PYD – Pyrin Domain (пириновый домен)

ROC – receiver operating characteristic (график, позволяющий оценить качество бинарной классификации)

SARS-CoV-2 – вирус вида Betacoronavirus pandemicum, вызывающий острый респираторный синдром

Th2 – T-helper (Т-хелпер) 2

Th17 – T-helper (Т-хелпер) 17

TLR – toll-like receptor (толл-подобный рецептор)

TMPRSS – это сокращение от transmembrane protease, serine (трансмембранная сериновая протеаза)

TNF- α – tumor necrosis factor- α (фактор некроза опухоли α)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев, С.Н. Астма пожилых и COVID-19: результаты 90-дневного наблюдения на постгоспитальном этапе / С.Н. Авдеев, В.В. Гайнитдинова, А.А. Позднякова [и др.] // Профилактическая медицина – 2023. – Т. 26 (3). – С. 91 – 100. DOI: 10.17116/profmed20232603191.
2. Александрова, Н.П. Механизмы влияния цитокинового шторма на функцию внешнего дыхания / Н.П. Александрова // Успехи физиологических наук – 2022. – Т. 53 (3). – С. 3-14. DOI: 10.31857/S0301179822030043.
3. Асланова, З.Д. Клиническое значение определения внеклеточных ловушек нейтрофилов у женщин с онкогинекологическими заболеваниями / З.Д. Асланова, Д.Х. Хизроева, А.Г. Солопова [и др.] // Акушерство, Гинекология и Репродукция – 2023. – Т. 17 (6). – С. 751-768. DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.4.
4. Бакина, А.А. Постковидный синдром: накопленные знания и сохраняющиеся вопросы / А.А. Бакина, В.И. Павленко, Е.Г. Кулик // Amur Medical Journal – 2025. – Т. 13 (1). – С. 64-72. DOI: 10.22448/AMJ.2025.1.64-72.
5. Бернс, С.А. Неврологические осложнения у больных, перенесших COVID-19 / С.А. Бернс, А.А. Панфилова, С.И. Салихова [и др.] // Профилактическая медицина – 2024. – Т. 27 (6). – С. 98-104. DOI: 10.17116/profmed20242706198.
6. Благов, А.Ю. Роль цитокинов в развитии системного воспаления при хронической обструктивной болезни легких и ожирении / А.Ю. Благов, О.А. Ефремова, Э.М. Ходош [и др.] // Ожирение и метаболизм – 2022. – Т. 19 (4). – С. 442-448. DOI: 10.14341/omet12847.
7. Болевич, С.Б. Комплексный механизм развития COVID-19 / С.Б. Болевич, С.С. Болевич // Сеченовский вестник – 2020. – Т. 11 (2). – С. 50-61. DOI: 10.47093/2218-7332.2020.11.2.50-61.

8. Борисова, А.И. Нейрогенное воспаление и особенности вегетативной системы у пациентов с бронхиальной астмой в зависимости от степени тяжести и фенотипа заболевания / А.И. Борисова, Э.Ф. Кабирова, Э.Р. Уразаева [и др.] // Медико-фармацевтический журнал «Пульс» – 2022. – Т. 24 (8). – С. 63-68. DOI: 10.26788/nydha-2686-6838-2022-24-8-63-68.

9. Борукаева, И.Х. Роль инфламмасомы NLRP3 в патогенезе бронхиальной астмы: механизмы воспаления и новые перспективы терапии / И.Х. Борукаева, К.Г. Эдилов, А.С. Дзуева [и др.] // Казанский медицинский журнал – 2025. – Т. 106 (2). – С. 287-297. DOI: 10.17816/KMJ646818.

10. Бронхиальная астма. Клинические рекомендации РФ. Проект – Министерство здравоохранения Российской Федерации. – 2024. – 193 с.

11. Быков, В.В. Взаимосвязь воспаления и нарушений гемостаза при сердечно-сосудистых и инфекционных заболеваниях / В.В. Быков, А.И. Венгеровский, В.В. Удут // Вестник Российской академии медицинских наук – 2022. – Т. 77 (4). – С. 261-266. DOI: 10.15690/vgramn2124.

12. Быстрицкая, Е.В. Обзор общей заболеваемости населения Российской Федерации бронхиальной астмой / Е.В. Быстрицкая, Е.Н. Биличенко // Пульмонология – 2022. – Т. 32 (5). – С. 651-660 DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-5-651-660.

13. Бяловский, Ю.Ю. Патогенетические аспекты фенотипирования бронхиальной астмы / Ю.Ю. Бяловский, С.И. Глотов, И.С. Ракитина [и др.] // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова – 2024. – Т. 32 (1). – С. 145–158. DOI:10.17816/PAVLOVJ181606.

14. Визель, А.А. Новый подход к лечению бронхиальной астмы любой степени тяжести / А.А. Визель, И.Ю. Визель, А.С. Белевский // Доктор.Ру – 2020. – Т. 19 (5). – С. 74–78. DOI: 10.31550/1727-2378-2020-19-5-74-78.

15. Гармаш, В.Я. История развития представлений о бронхиальной астме / В.Я. Гармаш, С.А. Куликов // Наука молодых (Eruditio Juvenium) – 2018. – Т. 6 (2). – С. 298-307. DOI: 10.23888/HMJ201862298-307.
16. Глазанова, Т.В. Нарушения в системе иммунитета после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19 / Т.В. Глазанова, Е.Р. Шилова // Журнал инфектологии – 2022. – Т. 14 (4). – С. 26-37. DOI: 10.22625/2072-6732-2022-14-4-26-37.
17. Григорьев, С.Г. Роль и место логистической регрессии и гос-анализа в решении медицинских диагностических задач / С.Г. Григорьев, Ю.В. Лобзин, Н.В. Скрипченко // Журнал инфектологии – 2016. – Т. 8 (4). – С. 36-45. DOI: 10.22625/2072-6732-2016-8-4-36-45.
18. Губенко, Н.С. Связь показателей общего анализа крови с тяжестью течения COVID-19 у госпитализированных пациентов / Н.С. Губенко, А.А. Будко, А.Г. Плисюк [и др.] // Южно-Российский журнал терапевтической практики – 2021. – Т. 2 (1). – С. 90-101. DOI: 10.21886/2712-8156-2021-2-1-90-101.
19. Долгушин, И.И. Методы обнаружения нейтрофильных ловушек / И.И. Долгушин, Ю.С. Шишкова, А.Ю. Савочкина // Аллергология и иммунология – 2009. – Т. – С. 458-462.
20. Дугарова, И.Д. О роли цитокинов при бронхиальной астме / И.Д. Дугарова, Э.Х. Анаев, А.Г. Чучалин // Пульмонология – 2009. – Т. 4. – С. 96-102. DOI: 10.18093/0869-0189-2009-4-96-102.
21. Дядичкина, О.В. Возможности люминесцентной и световой микроскопии при определении внеклеточных нейтрофильных ловушек / О.В. Дядичкина, О.Л. Коротина, Л.Е. Радецкая [и др.] // Вестник Витебского государственного медицинского университета – 2014. – Т. 13 (5). – С. 81-86.

22. Емельянов, А.В. Фармакотерпия бронхиальной астмы: Современное состояние и перспективы развития / А.В. Емельянов, Е.В. Сергеев // Фарматека – 2018. – Т. 8. – С. 58-64. DOI: 10.18565/pharmateca.2018.8.58-64.

23. Ильин, А.В. Современные методы диагностики бронхиальной астмы (обзор литературы) / А.В. Ильин // Бюллетень физиологии и патологии дыхания – 2012. – Т. 43. – С. 116-123.

24. Инюткина, А.А. Особенности иммунного ответа при COVID-19 / А.А. Инюткина, В.П. Никулина, М.А. Годков // Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь – 2023. – Т. 12 (1). – С. 122-129. DOI: 10.23934/2223-9022-2023-12-1-122-129.

25. Карчевская, Н.А. Результаты отдаленного обследования пациентов после COVID-19 / Н.А. Карчевская, И.М. Скоробогач, А.В. Черняк [и др.] // Терапевтический архив – 2022. – Т. 94 (3). – С. 378-388. DOI: 10.26442/00403660.2022.03.201399.

26. Кассина, Д.В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: значение для диагностики и прогноза COVID-19 / Д.В. Кассина, И.А. Василенко, А.С. Гурьев [и др.] // Альманах клинической медицины – 2020. – Т. 48. – С. 43-50. DOI: 10.18786/2072-0505-2020-48-029.

27. Качнов, В.А. Роль хронического низкоинтенсивного воспаления и NLRP3-инфламмосомы в развитии и прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний / В.А. Качнов, А.В. Кольцов, В.В. Тыренко [и др.] // Доктор.Ру – 2025. – Т. 24 (8). – С. 47-56. DOI:10.31550/1727-2378-2025-24-8-48-56.

28. Киселёва, Н.В. Особенности течения бронхиальной астмы у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию / Н.В. Киселёва, Е.И. Тарловская, М.В. Болдина // Южно-Российский журнал терапевтической практики – 2023. – Т. 4 (4). – С. 34-40. DOI: 10.21886/2712-8156-2023-4-4-34-40.

29. Княжеская, Н.П. Глюкокортикостероиды при бронхиальной астме: от системного введения до небулайзерной терапии / Н.П. Княжеская // Пульмонология – 2012. – Т. 5. – С. 92-98. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-5-92-98.

30. Костина, Е.М. Оптимизация терапии больных бронхиальной астмой в условиях коронавирусной инфекции / Е.М. Костина, Е.Ю. Трушина, Е.А. Орлова // Медицинский совет – 2021. – Т. 16. – С. 92-98. DOI: 10.21518/2079-701X-2021-16-92-98.

31. Круглова, О.С. Бронхиальная астма и COVID-19 (обзор литературы) / О.С. Круглова, Е.А. Собко, И.В. Демко [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания – 2025. – Т. 95. – С. 135-148. DOI: 10.36604/1998-5029-2025-95-135-148.

32. Курбачева, О.М. Особенности молекулярных механизмов патогенеза бронхиальной астмы в сочетании с полипозным риносинуситом / О.М. Курбачева, М.Е. Дынева, И.П. Шиловский [и др.] // Пульмонология – 2021. – Т. 31 (1). – С. 7-19. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-1-7-19.

33. Лебедев, П.А. Инфламмасома NLRP3 — новая универсальная мишень терапевтического воздействия у пациентов с бессимптомной гиперурикемией и подагрой / П.А. Лебедев, Л.Т. Волова, Н.К. Осина [и др.] // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии – 2024. – Т. 20 (3). – С. 331-339. DOI: 10.20996/1819-6446-2024-3018.

34. Леонтьева, Н.М. Бронхиальная астма легкой степени: проблемы диагностики и возможности функциональных методов исследования / Н.М. Леонтьева, И.В. Демко, Е.А. Собко [и др.] // Сибирское медицинское обозрение – 2020. – Т. 1. – С. 5-13. DOI: 10.20333/2500136-2020-1-5-13.

35. Лещенко, И.В. Постковидный бронхообструктивный синдром в практике врача-терапевта и пульмонолога: широкомасштабное исследование / И.В. Лещенко, Н.А. Эсаулова // Пульмонология – 2022 – Т. 32 (4). – С. 539-547. DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-4-539-547.

36. Мадиева, Л.С. Некоторые аспекты патогенеза бронхиальной астмы: обзор литературы / Л.С. Мадиева, С.Б. Мамашалиева, Р.Е. Бакирова [и др.] // Современные проблемы науки и образования – 2020. – Т. 2. DOI: 10.17513/spno.29611.

37. Маржохова, А.Р. Некоторые иммунологические предикторы развития постковидного синдрома / А.Р. Маржохова, З.Ф. Хараева, М.Ю. Маржохова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика – 2025. – Т. 70 (4). – С. 243-249. DOI: 10.51620/0869-2084-2025-70-4-243-249.

38. Минеева, Е.Е. Состояние легочной функции у пациентов с бронхиальной астмой в постковидном периоде / Е.Е. Минеева, М.В. Антонюк, А.В. Юренко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания – 2024. – Т. 93. – С. 72-82. DOI: 10.36604/1998-5029-2024-93-72-82.

39. Мосолов, С.Н. Длительные психические нарушения после перенесенной острой коронавирусной инфекции SARSCoV-2 / С.Н. Мосолов // Современная терапия психических расстройств – 2021. – Т. 3. – С. 2-23. DOI: 10.21265/PSYPH.2021.31.25.001.

40. Овсянников, Е.С. Бронхиальная астма и COVID-19: вопросы коморбидности / Е.С. Овсянников, С.Н. Авдеев, А.В. Будневский [и др.] // Туберкулёз и болезни лёгких – 2021. – Т. 99 (9). – С. 6-14. DOI: 10.21292/2075-1230-2021-99-9-6-14.

41. Одинцова, И.А. Пироптоз и его терапевтический потенциал / И.А. Одинцова, В.С. Чирский, Д.Р. Слуцкая [и др.] // Бюллетень сибирской медицины – 2024. – Т. 23 (2). – С. 142-150. DOI: 10.20538/1682-0363-2024-2-142-150.

42. Ойноткинова, О.Ш. Влияние SARS-CoV-2 на мультиорганное поражение и реабилитационная тактика в постковидном периоде / О.Ш. Ойноткинова, С.Т. Мацкеплишвили, В.Н. Ларина [и др.] // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия – 2022. – Т. 15 (2). – С. 202-214. DOI: 10.17116/kardio202215021202.

43. Осипова, В.В. Бронхиальная астма и COVID-19: обзор рекомендаций по ведению пациентов с бронхиальной астмой во время пандемии COVID-19 / В.В.

Осипова, Г.Л. Осипова, Е.А. Зарянова [и др.] // Пульмонология – 2021. – Т. 31 (5) – С. 663-670. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-663-670.

44. Павлов, РО.В. Тромбоцитарно-моноцитарные комплексы и их возможная роль в патогенезе преэклампсии / О.В. Павлов, С.В. Чепанов, И.С. Перетятыко [и др.] // Медицинская иммунология – 2026. – Т. 28 (2). – С. 321-338. DOI: 10.15789/1563-0625-PMC-2941.

45. Перельман, Н.Л. Влияние коморбидной патологии на качество жизни больных бронхиальной астмой / Н.Л. Перельман // Бюллетень физиологии и патологии дыхания – 2022. – Т. 84. – С. 8-14. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-84-8-14.

46. Перельман, Ю.М. Роль оксидативного стресса в реакции дыхательных путей на гипоосмолярный стимул у больных бронхиальной астмой / Ю.М. Перельман, А.Г. Приходько, Е.А. Бородин [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания – 2014. – Т. 54. – С. 17-22.

47. Пирогов, А.Б. Предикторная роль ИЛ-6 и ИЛ-1 β при формировании клеточного воспаления бронхов у пациентов с бронхиальной астмой в ответ на ингаляционное воздействие холодного воздуха / А.Б. Пирогов, А.Г. Приходько, Ю.М. Перельман // Иммунология – 2024. Т. 45 (1). С. 58-67. DOI: 10.33029/1816-2134-2024-45-1-58-67.

48. Погосова, Н.В. Последствия COVID-19 на отдаленном этапе после госпитализации по данным клинико-инструментальных и лабораторных методов исследования / Н.В. Погосова Д.Т. Кучиев, А.Б. Попова [и др.] // Кардиологический вестник – 2023. – Т. 18 (4). – С. 56-66. DOI: 10.17116/Cardiobulletin20231804156.

49. Рубинштейн, А.А. Инфламмасома - новый взгляд на терапию сердечно-сосудистых заболеваний: обзор. Часть I. / А.А. Рубинштейн, А.А. Ходот, П.В. Тирикова [и др.] // Российский кардиологический журнал – 2024. – Т. 29 (11S). – С. 5986. DOI: 10.15829/1560-4071-2024-5986.

50. Русецкая, Н.Ю. Редокс-регуляция NLRP3-опосредованного воспаления и пироптоза / Н.Ю. Русецкая, Н.Ю. Логинова, Е.П. Покровская [и др.] // Биомедицинская химия – 2023. – Т. 69 (6). – С. 333-352. DOI: 10.18097/PBMC20236906333.

51. Сергеева, Д.Р. Биомаркеры воспаления дыхательных путей у пациентов с тяжелой бронхиальной астмой в реальной клинической практике / Д.Р. Сергеева, А.В. Емельянов, Е.В. Лешенкова [и др.] // Пульмонология – 2020. – Т. 30 (4). – С. 437-445. DOI: 10.18093/0869-0189-2020-30-4-437-445.

52. Сергеева, Е.С. Риск обострения бронхиальной астмы на фоне стресса (клинический случай) / Е.С. Сергеева, Д.Ю. Кувшинов // Научный лидер – 2024. – Т. 22 (172).

53. Сизякина, Л.П. Клинико-иммунологическая характеристика постковидного периода у пациентов со среднетяжелым течением COVID-19, получавших терапию с включением антагониста рецептора ИЛ-6 / Л.П. Сизякина, Н.А. Скрипкина, Е.А. Антонова [и др.] // Иммунология – 2022. – Т. 43 (5). – С. 606-614. DOI: 10.33029/0206-4952-2022-43-5-606-614.

54. Сомова, Л.М. Миграция нейтрофилов при воспалении и инфекции: современные данные и роль в формировании нейтрофильных фенотипов / Л.М. Сомова, С.А. Абрамова, И.Н. Ляпун [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология – 2025. – Т. 14 (5). – С. 14-21. DOI: 10.31088/CEM2025.14.5.14-21.

55. Старикова, Е.В. Роль микробиома верхних дыхательных путей в здоровье человека: биотопы и изменчивость / Е.В. Старикова, Ю.С. Галеева, Е.Н. Ильина // Пульмонология – 2022. – Т. 32 (5). – С. 745-754. DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-5-745-754.

56. Трушина, Е.Ю. Роль цитокинов как молекулярных маркеров воспаления при неаллергической бронхиальной астме / Е.Ю. Трушина, Е.М. Костина, Н.И. Баранова [и др.] // Современные проблемы науки и образования – 2018. Т. 4.

57. Туровская, А.А. Сравнительное исследование продукции цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-6 в индуцированной мокроте у детей с бронхиальной астмой / А.А. Туровская, Е.М. Костина, О.А. Левашова [и др.] // Вопросы практической педиатрии – 2025. – Т. 20 (3). – С. 16-20. DOI: 10.20953/1817-7646-2025-3-16-20.

58. Федосеев, Г.Б. В поисках истины: что такое бронхиальная астма? / Г.Б. Федосеев, В.И. Трофимов, Н.Л. Шапорова [и др.] // Пульмонология – 2015. – Т. 25 (1). – С. 5-18.

59. Хаитов, Р.М. Эпителиальные клетки дыхательных путей как равноправные участники врождённого иммунитета и потенциальные мишени для иммуотропных средств / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, М.В. Пащенко // Иммунология – 2020. – Т. 41 (2). – С. 107-113.

60. Чикина, С.Ю. Нетипичное течение новой коронавирусной инфекции COVID-19 с поздним повышением уровня С-реактивного белка (клинические наблюдения) / С.Ю. Чикина, М.Ю. Бровко, В.В. Роюк [и др.] // Пульмонология – 2020. – Т. 30 (5). – С. 709-714. DOI: 10.18093/0869-0189-2020-30-5-709-714.

61. Чучалин, А.Г. Бронхиальная астма: федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению / А.Г. Чучалин, С.Н. Авдеев, З.Р. Айсанов [и др.] // Пульмонология – 2022. – Т. 32 (3). – С. 393-447. DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-3-393-447.

62. Щербак, С.Г. «Длинный COVID»: современное состояние проблемы. Обзор зарубежных научно-медицинских публикаций / С.Г. Щербак, Д.А. Вологжанин, Т.А. Камилова [и др.] // Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация – 2023. – Т. 5 (1). – С. 52-79. DOI: 10.36425/rehab121733.

63. Якушенко, Е.В. Интерлейкин–18 и его роль в иммунном ответе / Е.В. Якушенко, Ю.А. Лопатникова, С.В. Сенников // Медицинская иммунология – 2005. – Т. 7 (4). – С. 355-364. DOI: 10.15789/1563-0625-2005-4-355-364.

64. Abe, K. Trends in hospitalizations for asthma during the COVID-19 outbreak in Japan / K. Abe, A. Miyawaki, M. Nakamura [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice* / – 2021;9(1):494–496.el.DOI: 10.1016/j.jaip.2020.09.060.
65. Abhyankar, S. Interleukin-1 is a critical effector molecule during cytokine dysregulation in graft versus host disease to minor histocompatibility antigens / S. Abhyankar, D.G. Gilliland, J.L. Ferrara // *Transplantation* – 1993. – Vol. 56 (6). – P. 1518. DOI: 10.1097/00007890-199312000-00045.
66. Adeeb, S. Unveiling the Web: Exploring the Multifaceted Role of Neutrophil Extracellular Traps in Ocular Health and Disease / S. Adeeb, T.Z. Arabi, H. Shah [et al.] // *Journal of clinical medicine* – 2024. – Vol. 13 (2). – P. 512. DOI: 10.3390/jcm13020512.
67. Adir, Y. Asthma and COVID-19: an update / Y. Adir, W. Saliba, A. Beurnier [et al.] // *European Respiratory Review* – 2021. – Vol. 30 (162). – P. 210152. DOI: 10.1183/16000617.0152-2021.
68. Agondi, R.C. Worsening of asthma control after COVID-19 / R.C. Agondi, N. Menechino, A.K.B.B. Marinho [et al.] // *Frontiers in Medicine* – 2022. – Vol. 9. – P. 882665. DOI: 10.3389/fmed.2022.882-665.
69. Akira, S. Toll-like receptor signalling / S. Akira, K. Takeda // *Nature Reviews Immunology* – 2004. – Vol. 4 (7). – P. 499-511. DOI: 10.1038/nri1391.
70. Allen, I.C. The NLRP3 inflammasome mediates in vivo innate immunity to influenza A virus through recognition of viral RNA / I.C. Allen, M.A. Scull, C.B. Moore [et al.] // *Immunity* – 2009. – Vol. 30 (4). – P. 556-565. DOI: 10.1016/j.immuni.2009.02.005.
71. Altmann, D.M. Decoding the unknowns in long COVID / D.M. Altmann, R.J. Boyton // *BMJ* – 2021. – Vol. 372. – P. n132. DOI: 10.1136/bmj. n132.
72. Andersson, U. HMGB1 is a therapeutic target for sterile inflammation and infection / U. Andersson, K.J. Tracey // *Annual Review of Immunology* – 2011. – Vol. 29. – P. 139-162. DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101-323.

73. Assaf, S. Asthma in the era of COVID-19 / S. Assaf, H. Stenberg, M. Jesenak [et al.] // Respiratory Medicine – 2023. – Vol. 218. – P. 107-373. DOI: 10.1016/j.rmed.2023.107373.
74. Asthma in the United States: data and statistics // U.S. Centers for disease control and prevention – 2026. URL: <https://www.cdc.gov/asthma-data/about/most-recent-asthma-data.html> (дата обращения: 25.06.2026).
75. Barnes, P.J. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease / P.J. Barnes // Nature Reviews Immunology – 2008. – Vol. 8. – P. 183-192. DOI:10.1038/nri2254.
76. Barnes, P.J. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease / P.J. Barnes // Journal of Allergy and Clinical Immunology – 2016. – Vol. 138 (1). – P. 16-27. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.05.011.
77. Barnes, P.J. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease / P.J. Barnes // Journal of Clinical Investigation – 2008. – Vol. 118 (11). – P. 3546-3556. DOI: 10.1172/JCI36130.
78. Basnet, S. Rhinoviruses and their receptors / S. Basnet, A.C. Palmenberg, J.E. Gern // Chest – 2019. – Vol. 155 (5). – P. 10181025. DOI: 10.1016/j.chest.2018.12.012.
79. Broide, D.H. Immunologic and inflammatory mechanisms that drive asthma progression to remodeling / D.H. Broide // Journal of Allergy and Clinical Immunology – 2008. – Vol. 121 (3). – P. 560-570. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.01.031.
80. Busse, W.W. Role of viral respiratory infections in asthma and asthma exacerbations / W.W. Busse, R.F. Lemanske Jr., J.E. Gern // Lancet – 2010. – Vol. 376. – P. 826-834. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61380-3.
81. Calabrese, F. Pulmonary pathology and COVID-19: lessons from autopsy. The experience of European pulmonary pathologists / F. Calabrese, F. Pezzuto, F. Fortarezza [et al.] // Virchows Archiv – 2020. – Vol. 477 (3). – P. 359372. DOI: 10.1007/s00428-020-02886-6.

82. Caminati, M. Asthma in a large COVID-19 cohort: prevalence, features, and determinants of COVID-19 disease severity / M. Caminati, A. Vultaggio, A. Matucci [et al.] // *Respiratory Medicine* – 2021. – Vol. 176. – P. 106-261. DOI: 10.1016/j.rmed.2020.106-261.

83. Campbell, C.D. The role of the respiratory microbiome in asthma / C.D. Campbell, M. Gleeson, I. Sulaiman // *Frontiers in Allergy* – 2023. – Vol. 4. – P. 112-999. DOI: 10.3389/falgy.2023.112-999.

84. Cavaillon, J.-M. Bench to bedside review: Endotoxin tolerance as a model of leukocyte reprogramming in sepsis / J.-M. Cavaillon, M. Adib-Conquy // *Critical Care* – 2006. – Vol. 10 (5). – P. 233. DOI: 10.1186/cc5055.

85. Channappanavar, R. Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice / R. Channappanavar, A.R. Fehr, R. Vijay [et al.] // *Cell host & Microbe* – 2016. – Vol. 19 (2). – P. 181. DOI: 10.1016/j.chom.2016.01.007.

86. Chauhan, A.J. Personal exposure to nitrogen dioxide (NO₂) and the severity of virus induced asthma in children / A.J. Chauhan, H.M. Inskip, C.H. Linaker [et al.] // *Lancet* – 2003. – Vol. 361 (9373). – P. 1939-1944. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)13582-9.

87. Chiner-Vives, E. Short and Long-Term Impact of COVID-19 Infection on Previous Respiratory Diseases / E. Chiner-Vives, R. Cordovilla-Pérez, D. de la Rosa-Carrillo [et al.] // *Archivos de Bronconeumología* – 2022. – Vol. 58 (1). – P. 39-50. DOI: 10.1016/j.arbres.2022.03.011.

88. Clinical management of COVID-19: living guideline // Geneva: World Health Organization (WHO) – 2025. DOI: 10.2471/B09467.

89. Creel-Bulos, C. Acute Cor Pulmonale in Critically Ill Patients with COVID-19 / C. Creel-Bulos, M. Hockstein, N. Amin [et al.] // *The New England journal of medicine* – 2020. – Vol. 382 (21). – P. e70. DOI: 10.1056/NEJMc2010459.

90. Dai, Y. Inflammasome: structure, biological functions, and therapeutic targets / Y. Dai, J. Zhou, C. Shi // *MedComm* – 2023. – Vol. 4 (5). – P. e391. DOI: 10.1002/mco2.391.
91. Dinarello, C.A. A clinical perspective of IL-1 β as the gatekeeper of inflammation / C.A. Dinarello // *European Journal of Immunology* – 2011. – Vol. 41 (5). – P. 1203-1217. DOI: 10.1002/eji.201141550.
92. Dong, Y. Epidemiological characteristics of 2143 pediatric patients with 2019 coronavirus disease in China / Y. Dong, X. Mo, Y. Hu [et al.] // *Pediatrics* – 2020. – Vol. 145 (6). – P. e20200702. DOI: 10.1542/peds.2020-0702.
93. Ferreira, A.S. SARS-CoV-2 engages inflammasome and pyroptosis in human primary monocytes / A.S. Ferreira, V.C. Soares, I.G. de Azevedo-Quintanilha [et al.] // *Cell Death Discovery* – 2021. – Vol. 7 (1). – P. 43. DOI: 10.1038/s41420-021-00428-w.
94. Fuchs, T.A. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps / T.A. Fuchs, U. Abed, C. Goosmann [et al.] // *Journal of Cell Biology* – 2007. – Vol. 176 (2). – P. 231-241. DOI: 10.1083/jcb.200606027.
95. Gan, C. Inflammasomes and Pyroptosis of Liver Cells in Liver Fibrosis / C. Gan, Q. Cai, C. Tang [et al.] // *Frontiers in Immunology* – 2022. – Vol. 13. – P. 896473. DOI: 10.3389/fimmu.2022.896473.
96. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Updated May 7, 2024 // Global Initiative for Asthma (GINA) – 2024. URL: www.ginasthma.org (дата обращения: 20.06.2026).
97. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Updated November 15, 2025 // Global Initiative for Asthma (GINA) – 2025. URL: www.ginasthma.org (дата обращения: 20.06.2026).
98. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of COPD // Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) – 2024. URL: <https://goldcopd.org/2024-gold-report/> (дата обращения: 01.07.2026).

99. Gold, M.S. COVID-19 and comorbidities: a systematic review and meta-analysis / M.S. Gold, D. Sehayek, S. Gabrielli [et al.] // *Postgraduate Medicine* – 2020. – Vol. 132 (8). – P. 749-755. DOI: 10.1080/00325481.2020.1786964.

100. Hadjadj, J. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients / J. Hadjadj, N. Yatim, L. Barnabei [et al.] // *Science* – 2020. – Vol. 369 (6504). – P. 718-724. DOI: 10.1126/science.abc6027.

101. Hoffmann, M. SARS-CoV-2 Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor Cell: Hoffman M., et al/ *Cell*. 2020;181 (2):271–280.e8 DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.052.

102. Hottz, E.D. Platelets mediate increased endothelium permeability in dengue through NLRP3-inflammasome activation / E.D. Hottz, J.F. Lopes, C. Freitas [et al.] // *Blood* – 2013. – Vol. 122 (20). – P. 3405-3414. DOI: 10.1182/blood-2013-05-504449.

103. Howell, I. Type 2 inflammation and biological therapies in asthma: Targeted medicine taking flight / I. Howell, A. Howell, I.D. Pavord // *The Journal of experimental medicine* – 2023. – Vol. 220 (7). – P. e20221212. DOI: 10.1084/jem.20221212.

104. Huang, C. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study / C. Huang, L. Huang, Y. Wang [et al.] // *Lancet* – 2021. – Vol. 397. – P. 220-232. DOI:10.1016/S0140-6736(20)32656-8.

105. Huang, Y. CoVDB: a comprehensive database for comparative analysis of coronavirus genes and genomes / Y. Huang, S.K. Lau, P.C. Woo [et al.] // *Nucleic Acids Research* – 2008. – Vol. 36 (Database issue). – P. D504-D511. DOI: 10.1093/nar/gkm754.

106. Izquierdo, J.L. The impact of COVID-19 in patients with asthma / J.L. Izquierdo, C. Almonacid, Y. Gonzalez [et al.] // *European Respiratory Journal* – 2021. – Vol. 57 (3). – P. 2003142. DOI: 10.1183/13993003.03142-2020.

107. Jayavelu, N.D. Protective mechanisms of allergic asthma in COVID-19 / N.D. Jayavelu, D.J. Jackson, M.C. Altman // *Journal of Allergy and Clinical Immunology* – 2023. – Vol. 152 (4). – P. 873-875. DOI: 10.1016/j.jaci.2023.08.016.

108.Kaszuba, M. Post-COVID-19 Symptoms in Adults with Asthma—Systematic Review / M. Kaszuba, N. Madej, R. Pilinski [et al.] // *Biomedicines* – 2023. – Vol. 11. – P. 2268. DOI: 10.3390/biomedicines11082268

109.Kelley, N. The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation / N. Kelley, D. Jeltema, Y. Duan [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences* – 2019. – Vol. 20 (13). – P. 3328. DOI: 10.3390/ijms20133328.

110.Kolifarhood, G. Epidemiological and clinical aspects of COVID-19; a narrative review / G. Kolifarhood, M. Aghaali, S.H. Mozafar [et al.] // *Archives of Academic Emergency Medicine* – 2020. – Vol. 8 (1). – P. e41.

111.Kotrba, J. Innate players in Th2 and non-Th2 asthma: emerging roles for the epithelial cell, mast cell, and monocyte/macrophage network / J. Kotrba, I. Müller, A. Pausder [et al.] // *American Journal of Physiology Cell Physiology* – 2024. – Vol. 327 (6). – P. C1373-C1383. DOI: 10.1152/ajpcell.00488.2024.

112.Lambrecht, B.N. The immunology of asthma / B.N. Lambrecht, E. Ahmed, H. Hammad // *Nature Immunology* – 2025. – Vol. 26. – P. 1233-1245. DOI: 10.1038/s41590-025-02212-9.

113.Li, X. Transmission dynamics and evolutionary history of 2019-nCoV / X. Li, W. Wang, X. Zhao [et al.] // *Journal of Medical Virology* – 2020. – Vol. 92 (5). – P. 501511. DOI: 10.1002/jmv.25701.

114.Liu, S. Prevalence of comorbid asthma and related outcomes in COVID-19: a systematic review and meta-analysis / S. Liu, Y. Cao, T. Du [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice* – 2021. – Vol. 9 (2). – P. 693701. DOI: 10.1016/j.jaip.2020.11.054.

115.Liu, Y. COVID-19 and autoimmune diseases / Y. Liu, A.H. Sawalha, Q. Lu // *Current Opinion in Rheumatology* – 2021. – Vol. 33 (4). – P. 355365. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000776.

116. Lombardi, C. Asthma and COVID-19: a dangerous liaison? / C. Lombardi, F. Gani, A. Berti [et al.] // *Asthma Research and Practice* – 2021. – Vol. 7 (1). – P. 9. DOI: 10.1186/s40733-021-00075-z.

117. Lommatzsch, M. COVID-19 in a patient with severe asthma treated with Omalizumab / M. Lommatzsch, P. Stoll, J.C. Virchow // *Allergy* – 2020. – Vol. 75 (10). – P. 2705-2708. DOI: 10.1111/all.14456.

118. Mahdavinia, M. Asthma prolongs intubation in COVID-19 / M. Mahdavinia, K.J. Foster, E. Jauregui [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. Annals 2020;8(7):2388–2391 DOI: 10.1016/j.jaip.2020.05.006.

119. Mak, I.W.C. Risk factors for chronic post-traumatic stress disorder (PTSD) in SARS survivors / I.W.C. Mak, C.M. Chu, P.C. Pan [et al.] // *General Hospital Psychiatry* – 2010. – Vol. 32 (6). – P. 590-598. DOI: 10.1016/j.genhosppsych.2010.07.007.

120. Masoli, M. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report / M. Masoli, D. Fabian, S. Holt [et al.] // *Allergy* – 2004. – Vol. 59 (5). – P. 469-478. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2004.00526. x.

121. McCreanor, L. Respiratory effects of exposure to diesel traffic in persons with asthma / L. McCreanor, P. Cullinan, M.J. Nieuwenhuijsen [et al.] // *New England Journal of Medicine* – 2007. – Vol. 357 (12). – P. 1190-1198. DOI: 10.1056/NEJMoa071535.

122. Morais-Almeida, M. COVID-19, asthma, and biological therapies: what we need to know / M. Morais-Almeida, R. Aguiar, B. Martin [et al.] // *World Allergy Organization Journal* – 2020. – Vol. 13 (5). – P. 100126. DOI: 10.1016/j.waojou.2020.100126.

123. Mukherjee, M. The epidemiology, healthcare and societal burden and costs of asthma in the UK and its member nations: analyses of standalone and linked national databases / M. Mukherjee, A. Stoddart, R.P. Gupta [et al.] // *BMC Medicine* – 2016. – Vol. 14. – P. 113. DOI: 10.1186/s12916-016-0657-8.

124.Nair, P. Oral glucocorticoid sparing effect of benralizumab in severe asthma / P. Nair, S.E. Wenzel, K.F. Rabe [et al.] // New England Journal of Medicine – 2017. – Vol. 376 (25). – P. 2448-2458. DOI: 10.1056/NEJMoa1703501.

125.Nassoro, D.D. Asthma and COVID-19: Emphasis on Adequate Asthma Control / D.D. Nassoro, L. Mujwahuzi, I.H. Mwakyula [et al.] // Canadian Respiratory Journal – 2021. – P. 9621572. DOI: 10.1155/2021/9621572

126.Ni, F.-X. Pyroptosis-driven immune dysregulation in COPD: molecular mechanisms and therapeutic implications / F.-X. Ni, H.-X. Wang, J. Hu [et al.] // Frontiers in Immunology – 2025. – Vol. 16. – P. 1686175. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1686175.

127.Ni, F.-X., Pyroptosis-immune cell cross talk in asthma: From molecular mechanisms to precision therapeutics / F.-X. Ni, H.-X. Wang, P.-S. [et al.] // Frontiers in Immunology – 2025. – Vol. 16. – P. 1727122. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1727122.

128.Nicolai, L. Vascular surveillance by haptotactic blood platelets in inflammation and infection / L. Nicolai, K. Schiefelbein, S. Lipsky [et al.] // Nature Communications – 2020. – Vol. 11 (1). – P. 5778. DOI: 10.1038/s41467-020-19515-0.

129.Ovsjannikov, E.S. Bronchial asthma and COVID-19: comorbidity issues / E.S. Ovsjannikov, S.N. Avdeev, A.V. Budnevskij [et al.] // Tuberculosis and Lung Diseases – 2021. – Vol. 99 (9). – P. 6-14. DOI: 10.21292/2075-1230-2021-99-9-6-14.

130.Pawankar, R. WAO White Book on Allergy: Update 2013 / R. Pawankar, G.W. Canonica, S.T. Holgate [et al.] // Milwaukee: World Allergy Organization, 2013. – 248 p.

131.Peerschke, E.I. Complement activation on platelets: Implications for vascular inflammation and thrombosis / E.I. Peerschke, W. Yin, B. Ghebrehiwet // Molecular Immunology – 2010. – Vol. 47 (13). – P. 2170-2175, DOI: 10.1016/j.molimm.2010.05.009.

132.Philip, K.E.J. Impact of COVID-19 on people with asthma: a mixed methods analysis from a UK wide survey / K.E.J. Philip, S. Buttery, P. Williams [et al.] // BMJ Open Respiratory Research – 2022. – Vol. 9 (1). – P. e001056. DOI: 10.1136/bmjresp-2021-001056.

133.Provotorov, V.M. Clinical manifestations of asthma during combination therapy using ceruloplasmin / V.M. Provotorov, A.V. Budnevskiy, Yu.I. Filatova // *Terapevticheskij Arkhiv* – 2016. – Vol. 88 (3). – P. 36-39. DOI: 10.17116/terarkh201688336-39.

134.Que, X. Fantastic voyage: The journey of NLRP3 inflammasome activation / X. Que, S. Zheng, Q. Song [et al.] // *Genes & Diseases* – 2024. – Vol. 11 (2). – P. 819-829. DOI: 10.1016/j.gendis.2023.01.009.

135.Reddel, H.K. A summary of the new GINA strategy: a roadmap to asthma control / H.K. Reddel, E.D. Bateman, A. Becker [et al.] // *European Respiratory Journal* – 2015. – Vol. 46 (3). – P. 622-639; DOI: 10.1183/13993003.00853-2015.

136.Renz, H. Food allergy / H. Renz, K.J. Allen, S.H. Sicherer [et al.] // *Nature Reviews Disease Primers* – 2018. – Vol. 4. – P. 17098. DOI: 10.1038/nrdp.2017.98.

137.Reusch, N. Neutrophils in COVID-19 / N. Reusch, E. de Domenico, L. Bonaguro [et al.] // *Frontiers in Immunology* – 2021. – Vol. 12. – P. 652470. DOI: 10.3389/fimmu.2021.652470.

138.Richardson, S. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City area / S. Richardson, J.S. Hirsch, M. Narasimhan [et al.] // *JAMA* – 2020. – Vol. 323 (20). – P. 20522059. DOI: 10.1001/jama.2020.6775.

139.Robinson, L.B. COVID-19 severity in asthma patients: a multi-center matched cohort study / L.B. Robinson, L. Wang, X. Fu [et al.] // *The Journal of asthma: official journal of the Association for the Care of Asthma* – 2022. – Vol. 59. – P. 442-450. DOI: 10.1080/02770903.2020.1857396.

140.Scadding, G.K. Allergic respiratory disease care in the COVID-19 era: a EUFOREA statement / G.K. Scadding, P.W. Hellings, C. Bachert [et al.] // *World Allergy Organization Journal* – 2020. – Vol. 13. – P. 100124. DOI: 10.1016/j.waojou.2020.100124.

141.Martin S.J., Henry C.M. Distinguishing between apoptosis, necrosis, necroptosis and other cell death modalities. *Methods*. 2013;61(2):87–89. DOI: 10.1016/j.ymeth.2013.06.001.

142.Shaker, M.S. COVID-19: Pandemic contingency planning for the allergy and immunology clinic / M.S. Shaker, J. Oppenheimer, M. Grayson [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice* – 2020. – Vol. 8 (5). – P. 14771488.e5. DOI: 10.1016/j.jaip.2020.03.012.

143.Sunjaya, A.P. Asthma and COVID-19 risk: a systematic review and meta-analysis / A.P. Sunjaya, S.M. Allida, G.L. Di Tanna [et al.] // *European Respiratory Journal* – 2022. – Vol. 59 (3). – P. 2101209. DOI: 10.1183/13993003.01209-2021.

144.Takei, H. Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different from typical apoptosis or necrosis / H. Takei, A. Araki, H. Watanabe [et al.]// *Journal of Leukocyte Biology* – 1996. – Vol. 59 (2). – P. 229-240. DOI: 10.1002/jlb.59.2.229.

145.Tenforde, M.W. Symptom duration and risk factors for delayed return to usual health among outpatients with COVID-19 in a multistate health care systems network United States, March-June 2020 / M.W. Tenforde, S. Kim, C.J. Lindsell [et al.] // *Morbidity and Mortality Weekly Report* – 2020. – Vol. 69 (30). – P. 993998. DOI: 10.15585/mmwr.mm6930e1.

146.Terry, P.D. Asthma in adult patients with COVID-19: prevalence and risk of severe disease / P.D. Terry, R.E. Heidel, R. Dhand // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* – 2021. – Vol. 203 (7). – P. 893905. DOI: 10.1164/rccm.202008-3266OC.

147.Trevor, J.L. Refractory asthma: Mechanisms, targets, and therapy / J.L. Trevor, J.S. Deshane // *Allergy* – 2014. – Vol. 69 (7). DOI: 10.1111/all.12412.

148.Vanderheiden, A. Type I and type III interferons restrict SARS-CoV-2 infection of human airway epithelial cultures / A. Vanderheiden, P. Ralfs, T. Chirkova [et al.] // *Journal of Virology* – 2020. – Vol. 94 (19). – P. e0098520. DOI: 10.1128/jvi.00985-20.

149.Wang, L. Risk factors for hospitalization, intensive care, and mortality among patients with asthma and COVID-19 / L. Wang, D. Foer, D.W. Bates [et al.] // *The Journal of allergy and clinical immunology* – 2020. – Vol. 146. – P. 808-812. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.07.018.

150.Wang, Y. Neutrophil-Induced Liver Injury and Interactions Between Neutrophils and Liver Sinusoidal Endothelial Cells / Y. Wang, Y. Liu // *Inflammation* – 2021. – Vol. 44 (4). – P. 1-17. DOI: 10.1007/s10753-021-01442-x.

151.Ware, L.B. The acute respiratory distress syndrome / L.B. Ware, M.A. Matthay // *New England Journal of Medicine* – 2000. – Vol. 342 (18). – P. 1334-1349. DOI: 10.1056/NEJM200005043421806.

152.Williams, E.J. Role of the NLRP3 inflammasome in asthma: relationship with neutrophilic inflammation, obesity, and therapeutic options / E.J. Williams, N.A. Negewo, K.J. Baines // *Journal of Allergy and Clinical Immunology* – 2021. – Vol. 147 (6). – P. 2060-2062. DOI: 10.1016/j.jaci.2021.04.022.

153.Woodruff, P.G. T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma / P.G. Woodruff, B. Modrek, D.F. Choy [et al.] // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* – 2009. – Vol. 180 (5). – P. 388-395. DOI: 10.1164/rccm.200903-0392OC.

154.Wölfel, R. Virological assessment of hospitalized cases of coronavirus disease 2019 / R. Wölfel, V.M. Corman, W. Guggemos [et al.] // *Nature*. 2020;581(7809):465–469. DOI: 10.1038/s41586-020-2196-x.

155.Xiao, L. ACE2: the key molecule for understanding the pathophysiology of severe and critical conditions of COVID-19: demon or angel? / L. Xiao, H. Sakagami, N. Miwa // *Viruses* – 2020. – Vol. 12 (5). – P. 491. DOI: 10.3390/v12050491.

156. Yamasaki, A. Neutrophils and Asthma / A. Yamasaki, R. Okazaki, T. Harada // *Diagnostics* – 2022. – Vol. 12. – P. 1175. DOI: 10.3390/diagnostics12051175.
157. Yang, J.M. Allergic disorders and susceptibility to and severity of COVID-19: a nationwide cohort study / J.M. Yang, H.Y. Koh, S.Y. Moon [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology* – 2021. – Vol. 147 (4). – P. 12341243.e5. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.08.008.
158. Yong, S.J. Long COVID or post-COVID-19 syndrome: putative pathophysiology, risk factors, and treatments / S.J. Yong // *Infectious Diseases* – 2021. – Vol. 53 (10). – P. 737-754. DOI: 10.1080/23744235.2021.1924397.
159. Zabel, M. Art v 1 IgE epitopes of patients and humanized mice are conformational / M. Zabel, M. Weber, B. Kratzer [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology* – 2022. – Vol. 150 (4). – P. 920-930. DOI: 10.1016/j.jaci.2022.04.031.
160. Zhang, L. Potential interventions for novel coronavirus in China: a systematic review / L. Zhang, Y. Liu // *Journal of Medical Virology* – 2020. – Vol. 92 (5). – P. 479-490. DOI: 10.1002/jmv.25707.
161. Zhang, M. NLRP3-mediated epithelial pyroptosis involved in airway hyperresponsiveness in combined eosinophilic and neutrophilic asthma / M. Zhang, L. Zhao, Y. Xue [et al.] // *Cell Communication and Signaling* – 2026. – Vol. 24. – P. 144. DOI: 10.1186/s12964-026-02706-5.
162. Zhao, J. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019 / J. Zhao, Q. Yuan, H. Wang [et al.] // *Clinical Infectious Diseases* – 2020. – Vol. 71 (16). – P. 20272034. DOI: 10.1093/cid/ciaa344.
163. Zheng, Z. The role of pyroptosis in metabolism and metabolic disease / Z. Zheng, S. Yang, W. Dai [et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy* – 2024. – Vol. 176. – P. 116863. DOI: 10.1016/j.biopha.2024.116863.
164. Zhou, F. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study / F. Zhou, T. Yu, R. Du [et al.] //

Lancet – 2020. – Vol. 395 (10229). – P. 10541062. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30566-6.

165.Zhou, P. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin / P. Zhou, X.L. Yang, X.G. Wang [et al.] // Nature – 2020. – Vol. 579 (7798). – P. 270273. DOI: 10.1038/s41586-020-2012-7.

166.Zuo, Y. Neutrophil extracellular traps in COVID-19 / Y. Zuo, S. Yalavarthi, H. Shi [et al.] // PubMed: JCI Insight. 2020;5(11): e138999. DOI: 10.1172/jci.insight.138999.