

© ЗИГАНШИН А. М., МУЛЮКОВ А. Р.

УДК 616-092

DOI: 10.20333/25000136-2021-6-35-43

Механизмы иммунопатологии сепсиса вирусной этиологии при COVID-19

А. М. Зиганшин, А. Р. Мулюков

Башкирский государственный медицинский университет, Уфа 450008, Российская Федерация

Резюме. В статье представлена информация об иммунопатологии при сепсисе, общность иммунопатогенетических процессов сепсиса и новой коронавирусной инфекции (COVID-19). В результате неспособности иммунной системы справиться с агрессией возбудителя возникает неадекватная иммунная активность, проявляющаяся синдромом системной воспалительной реакции, в результате чего происходит повреждение тканей организма хозяина. В ответ на это активируется синдром компенсирующего противовоспалительного ответа, который проявляется ингибированием иммунного ответа. Одним из основных механизмов его влияния являются сигналы мембранных рецепторов и их лигандов. При невозможности нейтрализации возбудителя организмом хозяина возникают многочисленные патологические явления и осложнения, ведущие к повреждению тканей человека.

Ключевые слова: сепсис, вирусный сепсис, иммунопатология, COVID-19, контрольные точки, ОРДС, ДВС, NETоз.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Зиганшин АМ, Мулюков АР. Механизмы иммунопатологии сепсиса вирусной этиологии при COVID-19. *Сибирское медицинское обозрение.* 2021;(6):35-43. DOI: 10.20333/25000136-2021-6-35-43

Immunopathological mechanisms in sepsis of viral etiology in COVID-19

A. M. Ziganshin, A. R. Mulykov

Bashkir State Medical University, Ufa 450008, Russian Federation

Abstract. The article provides information on immunopathology in sepsis and the commonality between immunopathogenetic processes of sepsis and the new coronavirus infection (COVID-19). As a result of the inability of the immune system to cope with aggression of the pathogen, inadequate immune activity occurs manifested by the systemic inflammatory response syndrome, resulting in damage to tissues of the host organism. In response, compensatory anti-inflammatory response syndrome is activated, which is manifested by inhibition of the immune response. One of its main mechanisms is signals produced by membrane receptors and their ligands. Against the background of inability of the host organism to neutralise the pathogen, numerous pathological phenomena and complications occur leading to damage to human tissues.

Key words: sepsis, viral sepsis, immunopathology, COVID-19, checkpoints, ARDS, DIC, NETosis.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Ziganshin AM, Mulykov AR. Immunopathological mechanisms in sepsis of viral etiology in COVID-19. *Siberian Medical Review.* 2021;(6):35-43. DOI: 10.20333/25000136-2021-6-35-43

Введение

Современное определение сепсиса установлено на третьем международном консенсусе по определению сепсиса и септического шока: сепсис - опасная для жизни органная дисфункция в результате нарушения регуляции ответа хозяина на инфекцию [1].

Актуальность изучения сепсиса состоит в его высокой летальности вследствие ограничения методов дифференцировки его вирусной и бактериальной этиологии и немногочисленности методов лечения. По данным ВОЗ, ежегодно от сепсиса погибают 11 млн человек, а из 49 млн детей с данным диагнозом - 2,9 млн [2].

Сепсис вирусной этиологии обычно не диагностируется, так как преобладающими возбудителями сепсиса являются бактерии. Эпидемия коронавируса, возникшая в 2019 году в Китае переросшая в пандемию, заставила врачей по всему миру обратить внимание на вирусную этиологию сепсиса в связи с ростом встречаемости данной патологии [3].

Несмотря на то, что в последнее время понимание механизмов сепсиса улучшилось, различия на уровне патофизиологии между вирусным и бактериальным сепсисом до сих пор не ясны.

Этиология вирусного сепсиса может быть обусловлена в равной степени как коронавирусом, так и любым другим вирусом. Исследование пациентов с подтвержденной коронавирусной инфекцией 2019 года (COVID-19) в Ухане показали, что даже при отсутствии бактериального патогена, сепсис развивался у 59% пациентов, а септический шок у 20%. Тяжелая вирусная пневмония является первичным органоспецифическим проявлением коронавируса, с возможным последующим развитием вирусного сепсиса, характеризующегося полиорганной дисфункцией [4].

Согласно последним данным, миру известно 7 типов коронавируса, 4 из которых протекают в легкой форме, 3 других могут протекать в тяжелой, с высоким риском летальности: SARS-CoV, MERS-CoV и недавно выделенный SARS-CoV-2 [5]. Обстановка резко

изменилась в результате появления тяжелого острого респираторного синдрома коронавируса 2 (SARS-CoV-2) [1].

На сегодняшний день, врачебная помощь состоит в неспецифическом лечении и поддерживающей терапии. Вследствие этого COVID-19 выступает в качестве глобальной проблемы здравоохранения. 30 января 2020 года ВОЗ признала пандемию COVID-19 шестой чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, вызывающей международную обеспокоенность, после H1N1 (2009), полиомиелита (2014), лихорадки Эбола в Африке (2014) и Демократической Республике Конго (2019) и лихорадки Зика (2016) [6,7].

Поиск публикаций проводился по данным российской и зарубежной литературы осуществлялся в поисковых системах: PubMed, РИНЦ, Cyberleninka, eLibrary и др. Проведен обзор отечественных и зарубежных научных работ по теме исследования «Механизмы иммунопатологии сепсиса вирусной этиологии, COVID-19», проводился с использованием поисковых ключевых слов: «сепсис», «вирусный сепсис», «иммунопатология», «COVID-19», «контрольные точки», «ОРДС», «ДВС», «NETоз.». Материал был собран из списков литературы обзорных статей. В работу не включены тезисы докладов научных конференций. Отбор научных работ проведен в зависимости от их научной ценности относительно темы исследования. Окончательный список литературы был сформирован по релевантности проанализированного материала. Поскольку данная работа представляет собой повествовательный обзор, не метаанализ, мы признаем, что существует вероятность определенной предвзятости в темах, выбранных для данной работы здесь, и в статьях, выбранных для включения в исследование.

Механизмы ответной иммунной реакции на воздействие возбудителя

Рецепторы распознавания образов (PRR) клеток иммунной системы и эпителия воспринимают сигналы патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP) и дистресс-ассоциированных молекулярных паттернов (DAMP), что ведет к активации каскада реакций и высвобождению медиаторов воспаления, привлекающих в воспалительный процесс регионарные макрофаги и нейтрофилы (PMN) [8]. Их вовлечение ведет к высвобождению хемоаттрактантов опосредующих рекрутирование лейкоцитов в очаг воспаления. Дальнейшее течение воспаления приводит к истощению лейкоцитарного пула, персистенции инфекции и чрезмерной активации макрофагов и PMN, высвобождающих в ответ соответствующий стимуляции объем цитокинов.

Данное явление, именуемое цитокиновым штормом, ведет к гиперактивации циркулирующих иммун-

ных клеток с последующим повреждением сосудов и увеличением их проницаемости, повсеместным образованием внеклеточных ловушек нейтрофилов (NET), совместно с денудированными сосудами ведущих к активации каскадов коагуляции, а также неадекватной активации незрелых иммунных клеток [9,10].

Большую роль в развитии сепсиса играет иммуносупрессия, характеризующаяся усилением апоптоза Т-клеток, В-клеток и дендритных клеток (ДК), истощением Т-клеток, и увеличением популяций регуляторных Т-клеток и миелоидных клеток-супрессоров. Невозможность иммунной системы пациента справиться с септическим патогеном, приводит как к развитию чрезмерно сильного воспаления, так и к иммуносупрессии [3].

Общность иммунопатологических процессов сепсиса и COVID-19

Аномальная активность иммунной системы ведет к повреждению тканей хозяина. Смертность при сепсисе вызвана дисфункцией и полиорганной недостаточностью (ПОН). На клеточном уровне, это проявляется чрезмерным вовлечением в воспалительный процесс циркулирующих компонентов иммунной системы в периферических тканях, при отсутствии явного очага инфекции [9].

Механизмы влияния SARS-CoV-2 на иммунную систему, приводят к гиперактивации иммунного ответа, переходящего в иммуносупрессию, проявляющуюся сепсисом. SARS-CoV-2 потенциально тропен к клеткам, экспрессирующим высокие уровни ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2) и мембраносвязанной сериновой протеазе 2 (TMPRSS2). Таковыми являются клетки слизистых носовой и ротовой полостей, конъюнктивы, однако основная мишень - эпителиальные клетки альвеол. Проникновение вириона в эпителиоциты может происходить двумя путями: эндосомальным и неэндосомальным. В первом случае, вирион связывается с клеткой-мишенью путем связывания вирусного S-гликопротеина и рецептора хозяина ACE2, что активирует TMPRSS2, расщепляющую S-гликопротеин, следствием чего является слияние вирусной и клеточной мембран [11].

Неэндосомальный путь реализуется путем эндодцитоза вируса в везикуле с последующим ее связыванием с эндосомой и высвобождением вирусного нуклеокапсида в цитоплазму [9].

После воспроизводства вирусной РНК возникают aberrantные РНК-структуры, на которые реагируют внутриклеточные PRR такие как Toll –подобные рецепторы (TLR), ретиноевая кислота-индуцированная геном I (RIG-I)-подобные рецепторы и дифференцированный меланома-связанный ген 5 (MDA5). Это приводит к активации регуляторных факторов транскрипции интерферона (IRFs) и ядерного фактора-κB (NF-κB) [6].

Иммунная система имеет множество механизмов саморегуляции и поддержания гомеостаза. Эти механизмы необходимы для предотвращения развития повреждающих реакций и развития иммунной толерантности, так как чрезмерно сильные иммунные ответы могут вызвать иммунопатологию [5].

Науке известно два пути проявления иммунных реакций: синдром системной воспалительной реакции (SIRS) и синдром компенсирующего противовоспалительного ответа (CARS). SIRS проявляется чрезмерным иммунным ответом вследствие активации начальной клеточной противовирусной защиты. Каскады внутриклеточных реакций приводят к выработке интерферонов IFN-I и IFN-III, цитокинов и хемокинов, что вызывает специфический врожденный иммунный ответ, опосредованный макрофагами и PMN [3].

Данный локальный иммунный процесс, путем повышения уровня интерлейкинов IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, гранулоцитарно-колониестимулирующего фактора (GCSF), IFN γ , индуцируемого IFN γ белка 10 (IP-10), моноцитарных хемоаттрактантных белков 1 и 3 (MCP1 и 3), макрофагального воспалительного белка 1 α (MIP-1 α) и TNF- α , приводит к рекрутированию лейкоцитов в очаге локализации SARS-CoV-2. [12,13] На этой стадии происходит инфильтрация лимфоцитов. CD4⁺ Т-клетки стимулируют выработку антител В-клетками и усиливают эффектор CD8⁺ Т-клеточные и реакцию натуральных киллерных клеток (NK-клеток) [4,14].

Дальнейшее течение воспалительного процесса ведет к истощению пула иммунных клеток в очаге локализации инфекции и кратковременному преобладанию противовоспалительных механизмов CARS, характеризующихся снижением активации иммунной системы с ограничением ее эффективности. В тяжелой форме он упоминается как иммунопаралич [1].

Экспрессия ингибирующего CD94-NK члена группы 2 а (NKG2A) и ко-ингибиторной молекулы 2B4 (CD244, SLAMF4) на NK-клетках и CD8 + Т-клетках. 2B4 ведет к индукции образования гликопротеинового рецептора запрограммированной клеточной смерти (PD-1) и цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный протеин 4 (CTLA-4). [13] В анергичных Т-клетках PD-1 опосредованная фосфатазой SHP-1 и / или SHP-2 приводит к осаждению внутриклеточного сигнального пути ответственного за уход от апоптоза. Данные механизмы ведут к нарушению выработки антител В-клетками, подавлению CD4⁺ Т-клеток и нарушению экспрессии Т-клеточного рецептора (TCR), субъединиц (CD3 ϵ , CD3 γ , CD247, ПРОФ и TRBC1) и молекул Т-клеточной поверхности (CD4, CD8a, CD8b и CD2), стимуляторов Т-клеточной миграции (DDP4), сигнальных киназ TCR (ZAP70, LCK и Fyn C) и молекул II класса главного комплекса гисто-

совместимости (МНС) (HLA-DRA, HLA-DRB1, HLA-DRB4 и HLA-DRB5) [4,14].

Предполагаемые механизмы включают снижение уровня лейкоцитов, перепрограммирование лимфоцитов (переход от фенотипа иммунных клеток Th1 / M1 к Th2 / M2), индукцию запрограммированной гибели клеток, повышение экспрессии противовоспалительных медиаторов, таких как простагландин E, IL-10, стероидных гормонов. Наибольшее влияние на процесс иммуносупрессии оказывают путями передачи ключевых сигналов мембранных рецепторов и их лигандов (PD-1, PD-L1, PD-L2, TIM-3 / галектин-9, CTLA-4 и LAG-3) [9].

CARS проявляется гиперчувствительностью замедленного типа (ГЗТ), лейкопенией, приводящими к более тяжелому течению инфекции, однако возникшая вследствие нарушения цитотоксической активности апоптоз-опосредованная персистенция вируса приводит к активации макрофагов и нейтрофилов, массивно продуцирующих цитокины. Прогрессия данных процессов приводит к цитокиновому шторму и преобладанию механизмов SIRS, осложнениями которого являются системное повреждение сосудов, ДВС-синдром и ОРДС [13].

Свежие данные свидетельствуют о высокой роли SARS-CoV-2 в нарушении целостности сосудистого барьера и инициации и распространению вируса [6,7,15].

Поражение эндотелиоцитов происходит при непосредственном связывании SARS-CoV-2 с ACE2, что приводит к его интернализации и нарушению функции преобразования ангиотензина-2 (Ang II) в Ang 1-7, и снижению активации Ang 1-7 MAS. Это способствует развитию локального про-тромботического фенотипа эндотелиальных клеток. [9] Снижение экспрессии ACE2 ведет к нарушению дезактивации des-Arg брадикинина (DABK), активации рецепторов брадикинина (BKRs), что ведет к повышению проницаемости сосудов. Денудированные сосуды определяют активацию каскадов свертывания крови и массивную продукцию гистотоксических медиаторов, активных форм кислорода (АФК) и NET [10,15].

Эти события приводят к воспалению, микрососудистому тромбозу, отеку сосудов и геморрагическим осложнениям — все они являются характерными признаками легочной патологии у пациентов с COVID-19-ассоциированной пневмонией.

Система контрольных точек

Рассмотрим подробнее систему контрольных точек и оказываемое ими влияние на иммуносупрессию.

PD-1 экспрессируется на поверхности макрофагов, Т- и В-лимфоцитов и является трансмембранным гликопротеиновым рецептором, который продуцируется геном Pcdcl1. PD-1 отрицательно влияет на иммунную систему путем снижения активации

Т-лимфоцитов, повышения апоптоза антигенспецифических Т-лимфоцитов и ингибирования апоптоза регуляторных Т-лимфоцитов. Имеет два лиганда PD-L1 и PD-L2, также являющиеся трансмембранными рецепторами. PD-L1 может экспрессироваться на макрофагах и дендритных клетках. Так же в ответ на активацию клеточных рецепторов может экспрессироваться на Т- и В-лимфоцитах. Кроме того, встречается на большинстве раковых клеток при воздействии IFN γ . PD-L2 же экспрессируется на дендритных и некоторых линиях раковых клеток. При взаимодействии PD-1 с PD-L1 на раковых клетках наблюдается антиапоптотическое влияние на них. Аналогично исследованиям на мышах с блокированием экспрессии PD-1, были проведены опыты с блокадой экспрессии его лигандов PD-L1 и PD-L2, которые показали снижение тяжести течения сепсиса и шока. Что еще раз показывает негативное влияние на ход инфекции не только PD-1, но и его лигандов [9].

Аттенюатор В- и Т-лимфоцитов (BTLA) это ко-ингибиторный рецептор, который взаимодействует с белком надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 14 (TNFRSF14 или HVEM) в результате чего ингибируются CD4 + Т-, а следовательно, и В-клетки. BTLA связан с ослаблением передачи сигналов, способствующих выживанию.

CTLA-4 конкурирующий с CD28, имеет куда большее сродство для связывания с CD80 и CD86. Тем самым он является еще одним фактором ингибиторной регуляции и пролиферации Т-клеток. Когда происходит взаимодействие CTLA-4 с CD80 и CD86 на поверхности антигенпрезентирующей (АРС) клетки, происходит деактивация Т-клеток и происходит удаление молекулы В7 с поверхности АРС путем трансэндоцитоза. Так же при этом происходит удаление факторов, участвующих в активации Т-клеточного рецептора (TCR) вследствие чего происходит блокировка Т-клеточной активации Т-клеток. Предполагается что CTLA-4 по сравнению с PD-1 является более активным на начальных этапах иммунной реакции, предотвращая иммунное праймирование и поддерживая центральную толерантность [1].

LAG-3 / CD223 является сходным по строению с молекулой CD4, но в отличие от него имеет большую аффинность к главному комплексу гистосовместимости 2 класса (МНС-II), активирующийся во время воспаления. Впервые о LAG-3 заговорили как о регуляторе активности Treg (регуляторных Т-клеток), но точные механизмы его действия до сих пор плохо изучены. Истощение Т-клеточного пула является сильным инициатором экспрессии на его поверхности LAG-3, обычно совместно с PD-1. Проводимые ранее эксперименты показали, что даже при использовании нейтрализующих антител против LAG-3 не удается в

полной мере обратить анергию и истощение Т-клеток и предотвратить иммунную дисфункцию [16]. Так же они показали, что влияние LAG-3 на иммунную систему является более слабым, чем у других контрольных точек, так как для восстановления иммунной функции нужны комбинативные подходы против LAG-3 / PD-1.

Мембранный белок активированных Т-клеток, продуцирующих IFN γ , Т-клеточный иммуноглобулин и муциновый домен 3 (TIM-3) / CD366, связывается с лигандом галектином-9, в результате чего происходит апоптоз благодаря выходу кальция во внутриклеточную среду. Кроме того, это взаимодействие вызывает снижение продукции цитокинов. TIM-3 экспрессируется на Т-клетках в ответ на TCR-зависимую и TCR-независимую цитокиновые стимуляции. Часто TIM-3 совместно с PD-1 действуют синергически на истощенных Т-клетках, подавляя иммунные функции. Это было доказано при ингибировании TIM-3, в ходе чего наблюдалось частичное восстановление иммунных реакций. Однако известны случаи выявления механизмов действия TIM-3 при некоторых инфекциях, например, при туберкулезе, где его воздействие, наоборот, приводит к активации иммунных процессов, несмотря на подавление Т-клеток, и более стойкое течение заболевания [16].

Система иммунных контрольных точек осуществляет баланс активности иммунного ответа, иммуносупрессивным влиянием контрольных точек и их тормозными механизмами, предотвращая как гиперреактивность, так и иммунную толерантность. Сепсис характеризуется гиперэкспрессией контрольных точек, что в свою очередь ведет к снижению силы иммунных процессов в ответ на инфекцию.

Исследования, направленные на блокирование воздействия контрольных точек, путем использования антител против PD-1 и его лигандов, и блокирования воспроизводящего их гена, показали эффективность в лечении иммуносупрессии при сепсисе.

Клинически экспрессия PD-1 может быть индикатором состояния иммунной системы человека при сепсисе и септическом шоке, так как данная контрольная точка, по-видимому, является важным компонентом патогенеза при данных состояниях. Что может быть перспективным направлением в клинической терапии [1,16].

Роль нейтрофилов в патогенезе сепсиса

Распространенный воспалительный процесс происходит в результате цитокинового шторма. Ключевая роль PMN в развитии септического шока исполняется путем раннего медулярного высвобождения, хемотаксической миграции, фагоцитоза патогена. Также они способны выделять деконденсированный хроматин с множеством ферментов и белков - NET, которые выполняют роль захвата и поглощения патогенов, и являются обширной поверхностью прокоагулянта за счет

положительного заряда адгезированных в ней белков. Сочетание вышеперечисленных реакций способствует развитию ПОН и ДВС-синдрома [8,17].

Участие PMN во врожденном иммунитете опосредуется их созреванием в костном мозге и, в зависимости от стадии созревания и экспрессии различных хемокиновых рецепторов (CXCR), удержанием клеток в костном мозге незрелых нейтрофилов CXCR4 либо высвобождением PMN, экспрессирующих TLR и CXCR2 [12].

Хемотаксическое привлечение PMN происходит посредством мембранных рецепторов на поверхности PMN к хемоаттрактантам, например, CXCR2 - рецептор IL-8. В непосредственной близости от места воспаления происходит реакция трансэндотелиальной миграции, опосредованная молекулами адгезии, селектинами и интегринами, выхода PMN в ткани, где они осуществляют фагоцитоз [8].

Известно 2 механизма осуществления фагоцитоза: кислородзависимый, с участием никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат (NADPH) оксидазы опосредованной АФК и кислородно-независимый механизм с участием содержимого гранул, в частности лизосомальных ферментов [8].

Однако цитокиновый шторм инициирует нейтрофилию, с истощением костного мозга и высвобождением незрелых миелоцитов, содержание которых в крови более 10% является компонентом определения SIRS [18,19].

Повышение циркуляции незрелых форм, имеющих различные наборы рецепторов, приводит к изменению распознавания патогенов, также рецепторный репертуар меняется у зрелых, уже стареющих PMN и проявляется сверхэкспрессией CXCR4, следовательно, возникает дефицит CXCR2 в PMN и снижение реакции на его лиганды (CXCL1,2, IL-8). Снижается способность гранулоцитов к хемотаксису, что в свою очередь приводит к плохому местному контролю и распространению инфекции и компонентов воспаления, что связано с массивной инфильтрацией жизненно важных органов активированными PMN [8,21].

Прогрессии течения септического шока способствует секвестрация капилляров за счет активации циркулирующих PMN и изменение физических свойств PMN - становятся более жесткими, что ведет к снижению их деформируемости и является причиной окклюзии капилляров. Нарушение фагоцитарных функций проявляется снижением антиоксидантных механизмов и повышением продукции АФК, избыток которых, высвобождается, поражает эндотелий и способствует утечке из сосудов при ОРДС. Также нарушается контроль pH фаголизосом и проявляется в неспособности активации микробицидных ферментов и выживании инфекционного агента. Данные

изменения структуры и функций PMN в конечном итоге приводит к развитию гипоксии и ПОН [8].

Совокупность описанных механизмов показывает, что PMN являются важным звеном клеточной активации при сепсисе, приводящей к неадекватной реакции на агрессию патогена, потерю противомикробных функций на всех этапах жизненного цикла клетки, от медуллярного производства, до выведения патогенов [20].

Участие системы NET в иммунном ответе

Как уже упоминалось ранее дополнительной функцией PMN является образование NET, представляющих собой сети, образованные ДНК с адсорбированными на ней гистонами и гранулами (МПО, NE, дефенсины), которые физически улавливают и препятствуют распространению микроорганизмов (м.о.) [21,22]. Также за счет токсичных протеаз и гистонов осуществляется антимикробный эффект [23]. Прямая связь между NET и ДВС-синдромом, ОРДС, септическим шоком неоднократно подтверждалась лабораторными и клиническими исследованиями, основанными на корреляции NETоза и уровня миелопероксидаза-связанной ДНК (МПО-ДНК) [13,24,25].

Индукторы NETоза: IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α и внеклеточные гистоны [26]. Различные источники утверждают о разной выраженности их роли, например центральная роль IL-1 была подтверждена в клинических исследованиях анакинры, хотя имеются литературные данные о большой корреляции уровня IL-6 и IL-8, и NETозом [21,27].

Образование NET невозможно без участия активированных тромбоцитов. Данная связь опосредуется P-селектином, присутствующим на поверхности PMN и тромбоцитов. Этот комплекс ведет к активации внешнего пути коагуляции и образованию фибрина [28].

На данный момент описаны 2 механизма образования NET: витальный NETоз, который осуществляется без разрушения клеточной мембраны и суицидальный NETоз, с гибелью клетки [29].

Суицидальный NETоз начинается с активации PMN через распознавание стимулов от патогенов, которые приводят к активации комплекса НАДФН-оксидазы (NOX) через протеинкиназу C (PKC) / Raf / MERK / ERK. Активация NOX быстро генерирует супероксид и H₂O₂, катализируя перенос электронов от НАДФН к кислороду. С помощью АФК, путем митоген-активируемой пероксидазы активируются МПО и нейтрофильная эластаза (NE), запускается протеин-аргининдезимидаза типа 4 (PAD4) [26,30,31].

Также активация PMN приводит к увеличению цитозольного Ca²⁺, который действует как кофактор PAD4 ядерного фермента. PAD4 образует комплекс с кальцием и активируется, перемещаясь в ядро. В

процессе деконденсации хроматина участвуют свободные радикалы, продуцируемые NOX - NE и МПО, путем образования галогенированных ионов и гипохлорита, цитруллинирование гистонов PAD4 с аргинином в качестве субстрата и превращением гистона H3, в нейтральный цитруллин. Цитруллинирование гистонов ведет к нарушения ионных взаимодействий (например, водородных связей) в хроматине и его деконденсации [32].

Активные формы кислорода приводят к разделению ядерной мембраны с образованием везикул и выходом деконденсированного хроматина в цитоплазму, где происходит его взаимодействие с цитозольными белками и его выход из клетки через поры мембраны и клеточный лизис [8].

Витальный NETоз происходит без нарушения структуры цитоплазматической мембраны [26]. Активация витального NETоза опосредуется через сигнальный путь TLR-2 с липотейхоевой кислотой в качестве субстрата и феномен опсонизации через рецептор C3 компонента комплемента [30]. В данном процессе NETоза происходит 3 стадии морфологических изменений ядра: рост ядерной оболочки, деконденсация ДНК и разрушение ядерной мембраны. Впоследствии NET высвобождаются из клетки через везикулы, а безъядерные PMN остаются способными к фагоцитозу, хемотаксису, а потеря ДНК не влияет на их продолжительность жизни [33].

NET представляет собой обширную анионную поверхность, что обеспечивает активное взаимодействие с анионной мембраной м.о., это провоцирует открытие мембранных каналов чужеродных клеток, что дает путь различным цитотоксическим медиаторам, приводящим к их лизису. Также она активирует контактную фазу фактора свертывания XII, что в конечном итоге ведет к активации коагуляции, связанной с сепсисом. Такое сочетание реакций приводит к образованию неокклюзионных микротромбов, содержащих микроорганизмы [31,34].

Дополнительно каскад коагуляции стимулируется гистонами, являющимися мощными медиаторами тромбоза, образования связи тканевого фактора (TF) и активного 7 фактора свертывания (FVIIa). Это ведет к активации выброса моноцитами цитокинов и TNF, которые повышают экспрессию TF мононуклеарными клетками и PMN с помощью микрочастиц (MP), что индуцируется IL-6, усилением активности сериновой протеазы и NE, разрушающими ингибитор TF. Также цепь коагуляции подкрепляется путем ингибирования TNF антикоагулянтных протеинов С и S19 и усиления экспрессии IL-6 и IL-8 вследствие образования связи TNF-VIIa - при стимуляции протеаза-активирующего рецептора (PAR). Важное свойство NET - ингибировать фибринолиз путем связывания с фи-

брином и блокированием связей фибрина - мишени плазминогена [20].

Контроль выраженности данного механизма внеклеточной защиты от повреждений, осуществляемый NET, называемый иммунотромбозом, нарушается, что приводит к распространению образования микротромбов и активации ДВС-синдрома, характерно для ПОН во время септического шока [35].

Иммунная система может распознавать компоненты циркулирующих NET как DAMP, повышать высвобождение цитокинов, привлекать компоненты врожденного иммунитета, способствуя усилению воспалительного процесса [23,36,37].

Прямую связь NET и ДВС-синдрома с септическим шоком неоднократно подтверждали лабораторными исследованиями путем индуцирования PMN иономицином и визуализации NET методом флуоресцентной микроскопии [20,38,34,39].

Стоит упомянуть, что NETоз возможен в стерильных условиях, за счет его активации путем удаления фибрина плазминогеном, вследствие работы активатора плазминогена тканевого типа (tPA) из-за гемодинамического сдвига [40].

Таким образом, PMN проявляют функциональную двусмысленность в процессах развития септического шока: неоспорима их роль в защитных процессах, однако их активация может привести к негативным последствиям для хозяина. Высвобождение NET способствует сдерживанию и уничтожению патогена путем ассоциации иммунных и тромботических явлений. Но нарушение регуляторных систем с неконтролируемой активацией иммунных механизмов и гемостаза, которые срабатывают друг с другом. PMN лежат в основе концепции иммунотромбоза и, по-видимому, являются несомненными участниками в патофизиологии ДВС. Лучшее понимание механизмов дисфункции нейтрофилов и их взаимодействия с другими сосудами вовремя ДВС и септического шока может открыть новые терапевтические возможности. Прогресс в исследованиях NETоза значительно расширил наше понимание его роли в иммунологических процессах и аутоиммунных расстройствах. Нейтрофилы находятся на границе между гемостазом и иммунитетом, что проявляется иммунотромбозом [3].

Развитие острого респираторного дистресс-синдрома

Еще одним проявлением неадекватного иммунного ответа и аберрантного системного воспаления является ОРДС. Это многофакторный острый диффузный воспалительный процесс в альвеолах, проявляющийся недостаточностью оксигенации вследствие их отека и накопления белкового экссудата в респираторном отделе легких [3]. Патогенез ОРДС включает поляризацию подмножества альве-

олярных макрофагов (AM), нейтрофильный NETоз, провоспалительную реакцию субпопуляций Т-хелперов 17 и противовоспалительную - Т-регуляторных клеток [8,23,41].

Этиологическим фактором ОРДС может быть, как прямая респираторная инфекция, так и сепсис или даже стерильное системное воспаление.

Регуляция гомеостаза альвеолярной поверхности осуществляется путем контроля уровня сурфактанта. Его постоянство опосредует баланс активности AM и ингибирующих его CD200, TGF β и IL-10. AM секретируя GM-CSF катаболизируют сурфактант. В состоянии гомеостаза AM получают постоянные отрицательные регуляторные сигналы, при связывании лиганда CD 200 происходит угнетение AM, дополнительно секреция TGF β и IL-10 опосредует экспрессию рецепторов CD 200. При чрезмерном подавлении активности AM возможно накопление сурфактанта, что ведет к нарушению газообмена [3].

Дополнительно динамический баланс AM осуществляется фенотипами макрофагов - провоспалительным M1 и противовоспалительным M2. Данные клетки отличаются экспрессией генов, эффекторной функцией, репертуарами маркеров: M1 экспрессируют ICAM-1, CD 40; M2 - рецепторы трансферрина и маннозы, а также индукцией и ответной реакцией: M1 индуцируется провоспалительными цитокинами Th1, такими как IFN- γ , а также LPS, что запускает секрецию IL-1 β , IL-12, TNF α и индуцибельной синтазы оксида азота; M2 - цитокинами Th2 IL-4 и IL-13 и секретирует противовоспалительный IL-10 [1]. При сепсисе макрофаги усиленно выделяют противовоспалительный цитокин IL-10, что в значительной степени может быть снижено за счет ингибирования экспрессии PD-1 или PD-L1. Это показывает переход фенотипа макрофагов от M1 к M2 [41].

Нарушению газообмена также может способствовать экссудация в полость альвеол компонентов иммунной системы, среди которых PMN выполняют большую роль, осуществляя фагоцитоз, дегрануляцию эластазы PMN, МПО, АФК и NET, способствуя удалению вирусных, бактериальных или грибковых патогенов [3,8,17].

Однако при остром повреждении легких положительное взаимодействие PMN и активированных тромбоцитов ведёт к образованию NET, способствуя коагуляции и образованию тромбов в легких, что усугубляет воспалительный процесс, а также выход NET в альвеолярное пространство, что опосредует нарушение их вентиляции [3,8].

ОРДС-это сложный этиологический феномен, включающий множество иммунных клеток, действующих в тонком балансе между клиренсом патогена и иммунопатологией. Появляются новые доказатель-

ства участия различных типов иммунных клеток в патогенезе ОРДС. Это включает поляризацию альвеолярных макрофагов (AMC), нейтрофильный NETоз, провоспалительный ответ подмножеств Т - хелперов, а также противовоспалительную и регенеративную роль подмножеств Т-регуляторных клеток. Знание этих патогенных механизмов привело исследованиям в области использования метилпреднизолона, ДНКазы, аспирина, фактора роста кератиноцитов и в развитии терапии стволовыми клетками для ОРВИ. Наконец, новые технологии являются перспективными инструментами для оценки иммунного ответа хозяина в ОРДС и будут обсуждаться в этом обзоре [27].

Заключение

Таким образом, представленный обзор современных литературных данных свидетельствует о высокой многогранности вопроса иммунопатологии сепсиса. Сепсис и септический шок в настоящее время наиболее актуальны в связи с пандемией COVID-19, прогрессирующая пневмония, вызванная SARS-CoV-2, может осложниться вирусным сепсисом, так как затрагивает аберрацию иммунного ответа [4].

Регуляторные механизмы иммунных процессов при сепсисе характеризуются гиперэкспрессией контрольных точек, что ведет к развитию иммуносупрессивного статуса и снижению активности иммунных процессов в ответ на агрессию инфекции. Перспективным является исследования направленные на изучение подавления контрольных точек, такие как блокада кодирующего их гена или использование антител против них, что может в значительной степени облегчить течение сепсиса и септического шока. Так же повышенная экспрессия PD-1 может служить в качестве маркера степени тяжести инфекции [1].

Аналогично значимыми индикаторами характерными для сепсиса является совокупность маркеров присущих для каждого составляющего его процесса. Так при нарушении активации PMN характерно изменение рецепторного состава в направлении незрелых его форм. Маркером для NETоза является повышение содержания в кровотоке МПО-ДНК, относительно ДНК. Проявлением ОРДС служит переход M1 фенотипа макрофагов к M2 [8,20].

Клиническое выявление и исследование вышеперечисленных маркеров и новых способов лечения, являются многообещающими направлениями в снижении смертности от сепсиса и септического шока.

Литература / References

1. Fallon EA, Biron-Girard BM, Chung CS, Lomas-Neira J, Heffernan DS, Monaghan SF, Ayala A. A novel role for coinhibitory receptors/checkpoint proteins in the immunopathology of sepsis. *Journal of Leukocyte Biology*. 2018; (103): 1151-1164.DOI: 10.1002/JLB.2MIR0917-377R

2. Gu X, Zhou F, Wang Y, Fan G, Cao B. Respiratory viral sepsis: epidemiology, pathophysiology, diagnosis and treatment. *European Respiratory Review*. 2020; 29(157): 200038. DOI: 10.1183/16000617.0038-2020
3. Wong JJM, Leong JY, Lee JH, Albani S, Yeo JG. Insights into the immuno-pathogenesis of acute respiratory distress syndrome. *Annals of Translational Medicine*. 2019; 7(19): 504. DOI: 10.21037/atm.2019.09.28
4. Polycarpou A, Howard M, Farrar CA, Greenlaw R, Fanelli G, Wallis R, Klavinskis LS, Sacks S. Rationale for targeting complement in COVID-19. *EMBO Molecular Medicine*. 2020; 12(8): e12642. DOI: 10.15252/emmm.202012642
5. Zheng J. SARS-CoV-2: an Emerging Coronavirus that Causes a Global Threat. *International Journal of Biological Sciences*. 2020; 16(10): 1678-1685. DOI: 10.7150/ijbs.45053
6. López-Collazo E, Avendaño-Ortiz J, Martín-Quirós A, Aguirre LA. Immune Response and COVID-19: A mirror image of Sepsis. *International Journal of Biological Sciences*. 2020; 16(14): 2479-2489. DOI: 10.7150/ijbs.48400
7. Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2020; 55(3): 105924. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105924
8. Stiel L, Meziani F, Helms J. Neutrophil Activation During Septic Shock. *Shock*. 2018; 49(4): 371-384. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000980
9. Perico L, Benigni A, Casiraghi F, Ng LFP, Renia L, Remuzzi G. Immunity, endothelial injury and complement-induced coagulopathy in COVID-19. *Nature Reviews Nephrology*. 2020; 1-19. DOI: 10.1038/s41581-020-00357-4
10. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Seminars in Immunopathology*. 2017; 39(5): 529-539. DOI: 10.1007/s00281-017-0629-x
11. Yang X, Cheng X, Tang Y, Qiu X, Wang Z, Fu G, Wu J, Kang H, Wang J, Wang H, Chen F, Xiao X, Billiar TR, Lu B. The role of type 1 interferons in coagulation induced by gram-negative bacteria. *Blood*. 2020; 135(14): 1087-1100. DOI: 10.1182/blood.2019002282
12. Khan MA, Ali ZS, Swezey N, Grasemann H, Palaniyar N. Progression of Cystic Fibrosis Lung Disease from Childhood to Adulthood: Neutrophils, Neutrophil Extracellular Trap (NET) Formation, and NET Degradation. *Genes (Basel)*. 2019; 10(3): 183. DOI: 10.3390/genes10030183
13. Shinde T, Hansbro PM, Sohal SS, Dingle P, Eri R, Stanley R. Microbiota Modulating Nutritional Approaches to Countering the Effects of Viral Respiratory Infections Including SARS-CoV-2 through Promoting Metabolic and Immune Fitness with Probiotics and Plant Bioactives. *Microorganisms*. 2020; 8(6): 921. DOI: 10.3390/microorganisms8060921
14. Lomas-Neira J, Monaghan SF, Huang X, Fallon EA, Chung CS, Ayala A. Novel Role for PD-1:PD-L1 as Mediator of Pulmonary Vascular Endothelial Cell Functions in Pathogenesis of Indirect ARDS in Mice. *Frontiers in Immunology*. 2018; 9:3030. DOI: 10.3389/fimmu.2018.03030
15. Ludwig S, Zarbock A. Coronaviruses and SARS-CoV-2: A Brief Overview. *Anesthesia & Analgesia*. 2020; 131(1): 93-96. DOI: 10.1213/ANE.0000000000004845
16. Riva A, Chokshi S. Immune checkpoint receptors: homeostatic regulators of immunity. *Hepatology International*. 2018; 12(3): 223-236. DOI: 10.1007/s12072-018-9867-9
17. Stiel L, Mayeur-Rousse C, Helms J, Meziani F, Mauvieux L. First visualization of circulating neutrophil extracellular traps using cell fluorescence during human septic shock-induced disseminated intravascular coagulation. *Thrombosis Research*. 2019; (183): 153-158. DOI: 10.1016/j.thromres.2019.09.036
18. Mahmudpour M, Roozbeh J, Keshavarz M, Farrokhi S, Nabipour I. COVID-19 cytokine storm: The anger of inflammation. *Cytokine*. 2020; (133):155151. DOI: 10.1016/j.cyto.2020.155151
19. Cavaillon JM. Giamarellos-Bourboulis EJ. Immunosuppression is Inappropriately Qualifying the Immune Status of Septic and SIRS Patients. *Shock*. 2019; 52(3): 307-317. DOI: 10.1097/SHK.000000000000126
20. Samuels JM, Moore HB, Moore EE. Coagulopathy in Severe Sepsis: Interconnectivity of Coagulation and the Immune System. *Surg Infect (Larchmt)*. 2018; 19(2): 208-215. DOI: 10.1089/sur.2017.260
21. Maruchi Y, Tsuda M, Mori H, Takenaka N, Gocho T, Huq MA, Takeyama N. Plasma myeloperoxidase-conjugated DNA level predicts outcomes and organ dysfunction in patients with septic shock. *Critical Care*. 2018; 22(1): 176. DOI: 10.1186/s13054-018-2109-7
22. Barbosa da Cruz D, Helms J, Aquino LR, Stiel L, Cougourdan L, Broussard C, Chafey P, Riès-Kautt M, Meziani F, Toti F, Gaussem P, Anglés-Cano E. DNA-bound elastase of neutrophil extracellular traps degrades plasminogen, reduces plasmin formation, and decreases fibrinolysis: proof of concept in septic shock plasma. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*. 2019; 33(12): 14270-14280. DOI: 10.1096/fj.201901363RRR
23. Yang H, Biermann MH, Brauner JM, Liu Y, Zhao Y, Herrmann M. New Insights into Neutrophil Extracellular Traps: Mechanisms of Formation and Role in Inflammation. *Frontiers in Immunology*. 2016; (7): 302. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00302
24. Liu JP, Zhang SC, Pan SY. Value of dynamic plasma cell-free DNA monitoring in septic shock syndrome: A

case report. *World Journal of Clinical Cases*. 2020; 8(1): 200-207. DOI: 10.12998/wjcc.v8.i1.200

25. Schneck E, Mallek F, Schiederich J, Kramer E, Markmann M, Hecker M, Sommer N, Weissmann N, Pak O, Michel G, Hecker A, Padberg W, Boening A, Sander M, Koch C. Flow Cytometry-Based Quantification of Neutrophil Extracellular Traps Shows an Association with Hypercoagulation in Septic Shock and Hypocoagulation in Postsurgical Systemic Inflammation-A Proof-of-Concept Study. *Journal of Clinical Medicine*. 2020; 9(1): 174. DOI: 10.3390/jcm9010174

26. Abrams ST, Morton B, Alhamdi Y, Alsabani M, Lane S, Welters ID, Wang G, Toh CH. A Novel Assay for Neutrophil Extracellular Trap Formation Independently Predicts Disseminated Intravascular Coagulation and Mortality in Critically Ill Patients. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2019; 200(7): 869-880. DOI: 10.1164/rccm.201811-2111OC

27. Shakoory B, Carcillo JA, Chatham WW, Amdur RL, Zhao H, Dinarello CA, Cron RQ, Opal SM. Interleukin-1 Receptor Blockade Is Associated With Reduced Mortality in Sepsis Patients With Features of Macrophage Activation Syndrome: Reanalysis of a Prior Phase III Trial. *Critical Care Medicine*. 2016; 44(2): 275-81. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001402

28. Schneck E, Edinger F, Hecker M, Sommer N, Pak O, Weissmann N, Hecker A, Reichert M, Markmann M, Sander M, Koch C. Blood Levels of Free-Circulating Mitochondrial DNA in Septic Shock and Postsurgical Systemic Inflammation and Its Influence on Coagulation: A Secondary Analysis of a Prospective Observational Study. *Journal of Clinical Medicine*. 2020; 9(7): 2056. DOI: 10.3390/jcm9072056

29. Hamam HJ, Palaniyar N. Post-Translational Modifications in NETosis and NETs-Mediated Diseases. *Biomolecules*. 2019; 9(8): 369. DOI: 10.3390/biom9080369

30. Delgado-Rizo V, Martínez-Guzmán MA, Iñiguez-Gutierrez L, García-Orozco A, Alvarado-Navarro A, Fafutis-Morris M. Neutrophil Extracellular Traps and Its Implications in Inflammation: An Overview. *Frontiers in Immunology*. 2017; (8): 81. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00081

31. Kusunoki Y, Nakazawa D, Shida H, Hattanda F, Miyoshi A, Masuda S, Nishio S, Tomaru U, Atsumi T, Ishizu A. Peptidylarginine Deiminase Inhibitor Suppresses Neutrophil Extracellular Trap Formation and MPO-ANCA Production. *Frontiers in Immunology*. 2016; (7): 227. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00227

32. Masuda S, Nakazawa D, Shida H, Miyoshi A, Kusunoki Y, Tomaru U, Ishizu A. NETosis markers: Quest for specific, objective, and quantitative markers. *Clinica Chimica Acta*. 2016; (459): 89-93. DOI: 10.1016/j.cca.2016.05.029

33. Yu X, Tan J, Diamond SL. Hemodynamic force triggers rapid NETosis within sterile thrombotic occlusions. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2018; 16(2): 316-329. DOI: 10.1111/jth.13907

34. Pfeiler S, Stark K, Massberg S, Engelmann B. Propagation of thrombosis by neutrophils and extracellular nucleosome networks. *Haematologica*. 2017; 102(2): 206-213. DOI: 10.3324/haematol.2016.142471

35. Wang M, Mei H, Kou H, Deng J, Wang H, Guo T, Hu Y. Role of plasma high mobility group box-1 in disseminated intravascular coagulation with leukemia. *Thrombosis Research*. 2015; 136(2): 422-6. DOI: 10.1016/j.thromres.2015.05.030

36. Watanabe-Kusunoki K, Nakazawa D, Ishizu A, Atsumi T. Thrombomodulin as a Physiological Modulator of Intravascular Injury. *Frontiers in Immunology*. 2020; (11): 575890. DOI: 10.3389/fimmu.2020.575890

37. Yang S, Qi H, Kan K, Chen J, Xie H, Guo X, Zhang L. Neutrophil Extracellular Traps Promote Hypercoagulability in Patients With Sepsis. *Shock*. 2017; 47(2): 132-139. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000741

38. Lipinska-Gediga M. Neutrophils, NETs, NETosis - old or new factors in sepsis and septic shock? *Anaesthesiology Intensive Therapy*. 2017; 49(3): 235-240. DOI: 10.5603/AIT.2017.0041

39. Delabranche X, Stiel L, Severac F, Galois AC, Mauvieux L, Zobairi F, Lavigne T, Toti F, Anglès-Cano E, Meziani F, Boisramé-Helms J. Evidence of Netosis in Septic Shock-Induced Disseminated Intravascular Coagulation. *Shock*. 2017; 47(3): 313-317. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000719

40. Yu X, Diamond SL. Fibrin Modulates Shear-Induced NETosis in Sterile Occlusive Thrombi Formed under Haemodynamic Flow. *Thrombosis and Haemostasis*. 2019; 119(4): 586-593. DOI: 10.1055/s-0039-1678529

41. Weiskopf D, Schmitz KS, Raadsen MP, Grifoni A, Okba NMA, Endeman H, van den Akker JPC, Molenkamp R, Koopmans MPG, van Gorp ECM, Haagmans BL, de Swart RL, Sette A, de Vries RD. Phenotype and kinetics of SARS-CoV-2-specific T cells in COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome. *Science Immunology*. 2020; 5(48): eabd2071. DOI: 10.1126/sciimmunol.abd2071

Сведения об авторах

Зиганшин Айдар Миндиярович, к.м.н., доцент, Башкирский Государственный медицинский университет; адрес: Российская Федерация, 450008, Республика Башкортостан, Уфа, ул. Ленина, д. 3; тел.: +7(903) 310-16-06; e-mail: zigaidar@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5474-1080>.

Мулюков Айрат Рамильевич, студент, Башкирский Государственный медицинский университет; адрес: Российская Федерация, 450008, Республика Башкортостан, Уфа, ул. Ленина, д. 3; тел.: +7(937)151-99-13; e-mail: mulykov.165@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7490-3710>.

Author information

Aydar M. Ziganshin, Cand. of Med. Sci., Associate Professor, Bashkir State Medical University; Address: 3, Lenin Str., Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation 450008; Phone: +7 (903) 310-16-06; e-mail: zigaidar@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5474-1080>

Airat R. Mulykov, student, Bashkir State Medical University; Address: 3, Lenin Str., Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation 450008; Phone: +7 (937) 1519913; e-mail: mulykov.165@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7490-3710>

Дата поступления 15.09.2021

Дата рецензирования 08.11.2021

Принята к печати 11.11.2021

Received 15 September 2021

Revision Received 08 November 2021

Accepted 11 November 2021