

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «РЯЗАНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Райцев Сергей Николаевич

**Роль HIF- α -опосредованных путей в развитии гипоксии и
метаболических нарушений у пациентов с различной степенью тяжести
COVID-19 пневмонии**

1.5.4. Биохимия

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Звягина Валентина Ивановна

Рязань – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1. Особенности течения COVID-19 пневмонии	15
1.2. Прогрессирующая системная гипоксия в патогенезе тяжёлых форм COVID-19 пневмонии	25
1.3. Фактор, индуцируемый гипоксией (HIF).....	29
1.4. Биохимические нарушения при COVID-19 пневмонии, ассоциированные с гипоксией	36
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	44
2.1. Общая характеристика исследования	44
2.2. Общеклинические методы исследования	44
2.3. Характеристика исследуемых групп	46
2.4. Дизайн лабораторной части исследования.....	53
2.4.1. Общеклинические лабораторные исследования.....	53
2.4.2. Лабораторные исследования маркеров формирования адаптационных механизмов к условиям гипоксии	54
2.4.2.1. Иммуноферментный анализ.....	55
2.4.2.2. Определение концентрации метаболитов оксида азота в плазме крови	57
2.4.2.3. Определение концентрации общего и свободного карнитина в плазме крови	58
2.6. Статистическая обработка полученных результатов	60
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	61
3.1. Анализ показателей системного воспаления и органной дисфункции в условиях системной гипоксии у пациентов с COVID-19 пневмонией.....	61

3.2. Анализ взаимосвязи биохимических показателей системного воспаления, коагулопатии и органной дисфункции с клинико-инструментальными показателями дыхательной недостаточности	71
3.3. Анализ содержания и динамики уровней изоформ HIF- α и регулируемых ими факторов в плазме крови у пациентов с COVID-19 пневмонией	78
3.4. Оценка уровней HIF-1 α и HIF-2 α в плазме крови и их вклад в эндотелиальную дисфункцию у пациентов с COVID-19 пневмонией, получавших интенсивную терапию в отделении реанимации	89
3.5. Влияние HIF-1 α на обмен карнитина у пациентов с COVID-19 пневмонией	94
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	101
ВЫВОДЫ	108
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	110
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	111
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	115

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

В декабре 2019 года в Ухане, провинция Хубэй, Китай, была зарегистрирована вспышка новой коронавирусной инфекции 2019 года, названной COVID-19 (Coronavirus Disease 2019), которая повлияла на жизни миллиардов человек по всему миру. SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2) – высококонтагиозный и высокопатогенный вирус, передающийся преимущественно воздушно-капельным путём, также возможен фекально-оральный путь передачи инфекции [1, 77, 134, 149, 255]. Клинические проявления заражения SARS-CoV-2 могут варьироваться от лёгких (сухой кашель, повышение температуры тела, утомляемость) до тяжёлых и жизнеугрожающих – пневмония, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), шок, полиорганная недостаточность [73, 75, 97, 105, 193].

Тяжёлые формы вирусной пневмонии при COVID-19 имеют особенности, отличающие их от предыдущих известных заболеваний. SARS-CoV-2 вызывает чрезмерную реакцию иммунной системы, в результате чего организм производит избыточное количество цитокинов, что приводит к серьёзному повреждению лёгких [151, 217, 224]. Это острое повреждение лёгких нарушает структуру альвеолярно-капиллярной мембраны, что способствует развитию нетипичного ОРДС [48, 62, 120, 168]. Повреждение лёгких приводит к дыхательной недостаточности, гипоксемии и развитию системной гипоксии [15, 45, 204, 220].

В условиях гипоксии в тканях запускается ряд адаптационных механизмов, направленных на поддержание уровня кислорода в клетках, продукции энергии и протекания энергозависимых процессов в организме человека [25, 67, 143, 211, 225]. Однако при тяжёлом течении COVID-19 пневмонии прогрессирование системной гипоксии способствует проникновению вируса внутрь клеток, прогрессированию системного воспаления, развитию дисфункции эндотелия и нарушению коагуляционного гемостаза, играя критическую роль в патогенезе

заболевания [46, 53, 98, 99, 161, 196]. Ключевым регулятором адаптивного ответа при гипоксии на биохимическом уровне выступает фактор, индуцированный гипоксией (HIF) [139]. HIF, являясь гетеродимерным фактором транскрипции, состоит из зависимой от напряжения кислорода α -субъединицы и конститутивной β -субъединицы [189]. В условиях острой гипоксии наибольшую активность проявляет изоформа HIF-1 α . В случае хронической гипоксии преимущественно активен HIF-2 α [189].

Несмотря на активное изучение роли изоформ HIF в адаптации к гипоксии, их роль при COVID-19 пневмонии остаётся недостаточно изученной. Кроме того, оценка уровней HIF-1 α и HIF-2 α обычно проводится в тканях, что затрудняет раннюю диагностику тяжёлых форм заболевания в клинической практике. Хотя известно, что измерение уровней HIF возможно в плазме крови [40, 41, 108, 142, 192, 213], такие исследования ранее не проводились у пациентов с тяжёлым течением COVID-19 пневмонии. Поэтому поиск доступных биомаркеров в плазме крови, отражающих активность гипоксического ответа, представляется высокоактуальным для раннего прогнозирования тяжести и исходов COVID-19 пневмонии.

Степень разработанности темы

В настоящее время степень влияния гипоксии как самостоятельного фактора на прогрессирование и развитие неблагоприятных исходов при тяжёлом течении COVID-19 пневмонии остаётся до конца не установленной. Зарубежные исследования показывают неоднозначную роль HIF-1 α в патогенезе COVID-19 [134]. HIF-1 α позволяет клеткам выживать в неблагоприятных гипоксических условиях и может значительно повлиять на восприимчивость организма к инфицированию вирусом SARS-CoV-2 [58, 144]. Однако при крайне выраженной гипоксии, как при тяжёлой COVID-19 пневмонии, HIF-1 α может оказывать патологическое воздействие, приводя к дезадаптации [134, 212]. Активность HIF-1 α опосредует как формирование провоспалительного фенотипа макрофагов M1, что ведёт к гиперцитокинемии, так и активацию проангиогенных факторов, таких

как фактора роста эндотелия сосудов А (VEGF-A), принимающих непосредственное участие в процессах миграции циркулирующих воспалительных клеток в ткани и повышении проницаемости сосудов [154, 165, 249, 251]. Кроме того, высокую активность HIF-1 α связывают с избыточной внутрисосудистой активацией нейтрофилов и формированием нейтрофильных ловушек, что ведёт к прогрессированию воспаления и усилению протомботического дисбаланса [177, 209, 224]. Вышеуказанные HIF-1 α -опосредованные механизмы связывают с диффузным повреждением альвеолярно-капиллярного барьера, характерного для ОРДС при COVID-19 [48, 62, 120, 168].

Помимо прямого влияния на воспаление и ангиогенез, гипоксия и HIF-1 α играют фундаментальную роль в перестройке клеточного метаболизма [25, 143, 212, 225]. В условиях дефицита кислорода клетки переключаются с окислительного фосфорилирования на гликолиз, что требует адаптации энергетического обмена [92]. Ключевым посредником в транспорте жирных кислот в митохондрии для их окисления является L-карнитин [64]. Согласно имеющимся данным, HIF-1 α способен косвенно влиять на метаболизм карнитина, подавляя экспрессию карнитин-пальмитоилтрансферазы 1А (CPT1A) – ключевого фермента, участвующего в транспорте длинноцепочечных жирных кислот [87, 237]. Однако роль этого взаимодействия в патогенезе COVID-19 пневмонии, в контексте энергодефицита и дисфункции митохондрий на фоне гипоксии, остаётся совершенно неисследованной. Нарушение метаболизма карнитина может усугублять энергетический кризис в клетках, особенно в кардиомиоцитах и скелетных мышцах, способствуя развитию полиорганной недостаточности у тяжёлых больных.

Определение активности изоформ HIF- α традиционно проводится на тканях (иммуногистохимия, вестерн-блоттинг). Однако в последние годы активно изучаются особенности изменения содержания изоформ HIF- α в крови [3, 40, 41, 108, 142, 192, 213, 236]. Ввиду практичности и безопасности, определение уровня изоформ HIF- α , в частности, в составе экзосом, образующихся под влиянием гипоксии, может служить предпочтительной альтернативой тканевым методам

диагностики, позволяя мониторить гипоксические состояния и адаптировать терапию [59, 78, 125, 197].

Поэтому в нашей работе особенное внимание было уделено определению возможности использования уровня HIF-1 α и HIF-2 α в плазме крови в качестве прогностических маркеров исхода тяжёлых форм COVID-19 пневмонии.

Цель исследования

Целью данного исследования является изучение роли факторов, индуцированных гипоксией α (HIF- α), и ассоциированных с ними метаболических нарушений, включая изменения обмена карнитина, в патогенезе COVID-19 пневмонии для выявления новых прогностических биомаркеров тяжести течения и исхода заболевания.

Задачи исследования

1. Проанализировать основные биохимические показатели системного воспаления и органной дисфункции в условиях гипоксии у пациентов с COVID-19 пневмонией.

2. Проанализировать взаимосвязь биохимических показателей системного воспаления, коагулопатии и органной дисфункции с клинико-инструментальными показателями дыхательной недостаточности для разработки комплексной модели прогнозирования исходов у пациентов с COVID-19 пневмонией.

3. Исследовать концентрацию изоформ HIF- α и регулируемых ими факторов в плазме крови у пациентов с COVID-19 пневмонией в динамике на 1 и 7 день госпитализации.

4. Оценить уровни HIF-1 α и HIF-2 α в плазме крови и их вклад в эндотелиальную дисфункцию у пациентов с COVID-19 пневмонией, получавших интенсивную терапию в отделении реанимации.

5. Оценить взаимосвязь уровней HIF-1 α в плазме крови с показателями нарушения метаболизма карнитина у пациентов с COVID-19 пневмонией.

Научная новизна

Во время выполнения работы показано, что у пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии наблюдалось более выраженная активность системного воспаления как на момент поступления (повышение уровня С-реактивного белка), так и на 7-е сутки лечения (высокие показатели С-реактивного белка и критический рост нейтрофильно-лимфоцитарного индекса (NLR) относительно пациентов со средней степенью тяжести. Показатели С-реактивного белка и индекс NLR могут быть использованы в качестве ключевых маркеров системного воспалительного ответа. Кроме того, у пациентов в критическом состоянии отмечалось нарушение белкового обмена (снижение общего белка) и развитии почечной дисфункции (повышение мочевины), что указывает на начальные этапы развития полиорганной недостаточности.

Проведённая оценка клинических проявлений дыхательных нарушений и эффективности респираторной терапии показала, что индекс частоты дыхания-оксигенации (ROX) является доступным и высокоинформативным маркером при выборе метода и объёма респираторной поддержки. Была продемонстрирована тесная взаимосвязь между нарушениями в биохимических показателях (гиперферритинемия, высокий индекс NLR, гипопротеинемия, изменение уровня тромбоцитов) и степенью выраженности дыхательных нарушений, оцениваемых по индексу ROX. Это подтверждает ключевую роль системного воспаления, коагулопатии и метаболических нарушений в патогенезе гипоксии при COVID-19 пневмонии и обосновывает целесообразность интеграции биохимических и клиничко-инструментальных данных в прогностические модели.

В результате исследования был разработан прикладной метод прогнозирования летального исхода у пациентов с COVID-19 пневмонией, включающий комплексную оценку возраста, степени поражения лёгких, индекса ROX и уровня тромбоцитов.

Выявлено, что у пациентов с COVID-19 пневмонией наблюдался более высокий уровень HIF-1 α , iNOS и метаболитов NO в плазме крови в сравнении со

здоровыми добровольцами. Впервые было установлено, что у пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии наблюдались более низкие уровни HIF-1 α и iNOS в плазме крови при поступлении. Комплексная оценка клинико-инструментальных и молекулярно-биологических показателей позволила разработать методику прогнозирования неблагоприятных исходов COVID-19 пневмонии, основанную на определении частоты сердечных сокращений, степени поражения лёгких, уровня HIF-1 α в плазме крови и уровня креатинина в сыворотке крови.

Впервые была проведена оценка нарушений карнитинового обмена при COVID-19. Показано, что у пациентов с COVID-19 пневмонией уровни общего карнитина и ацилкарнитинов были ниже, а уровень свободного карнитина выше, чем у здоровых добровольцев.

Впервые было проведено исследование уровня карнитин-ацетилтрансферазы (CRAT) в плазме крови. Уровень CRAT был выше у пациентов с COVID-19 пневмонией в сравнении с контрольной группой. У пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 уровень CRAT был выше относительно групп среднетяжёлого и тяжёлого течения. Выявленные корреляции уровня CRAT со степенью тяжести течения COVID-19, длительностью пребывания в отделении реанимации и уровнем HIF-1 α в плазме крови позволили разработать прогностическую модель прогнозирования исходов COVID-19 пневмонии. Разработанная модель основана на показателях индекса массы тела, уровнях ферритина и креатинина в сыворотке крови и уровня CRAT в плазме крови.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Теоретическая значимость проведённого исследования заключается в расширении имеющихся знаний о развитии и прогрессировании системной гипоксии у пациентов с тяжёлым течением COVID-19 пневмонии. Было установлено, что у пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 наблюдалось нарушение процессов адаптации организма к гипоксии в условиях активного

системного воспалительного ответа. Было установлено, что пациенты с тяжёлыми формами COVID-19 пневмонии имели различную степень выраженности нарушений карнитинового обмена в зависимости от степени тяжести заболевания. Полученные данные являются обоснованием для персонализированного подхода к лабораторной диагностике формирования процессов адаптации к гипоксии в условиях системного воспаления. Практическая значимость работы заключается в определении критериев эффективности респираторной терапии у пациентов с COVID-19 пневмонией. Были разработаны способы прогнозирования прогрессирования системной гипоксии и риска развития неблагоприятного исхода у пациентов с тяжёлыми формами COVID-19 пневмонии. Также были определены маркеры тяжести метаболического стресса и гипоксического повреждения клеток при COVID-19 пневмонии.

Методология и методы исследования

В исследование включено 112 человек, которые были распределены на 3 группы: 1) пациенты с острой респираторной вирусной инфекцией (ОРВИ) в количестве 10 человек; 2) 90 пациентов с подтверждённой COVID-19 пневмонией; 3) контрольная группа здоровых добровольцев (12 человек). Группа пациентов с COVID-19 пневмонией была подразделена на ряд подгрупп: по степени поражения лёгких на основании данных компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки (КТ-1 – 16 пациентов, КТ-2 – 40 пациентов, КТ-3/4 – 34 пациента); по степени тяжести течения заболевания (среднетяжёлое течение – 35 человек, тяжёлое течение – 28 пациентов, крайне тяжёлое течение – 27 пациентов); по пребыванию в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) (35 пациентов, госпитализированных в ОРИТ и 55 человек, наблюдавшихся вне реанимационного отделения). Данные клинического осмотра, объёма респираторной поддержки, рентгенологических и лабораторных исследований фиксировали на момент поступления и на 7-е сутки госпитализации. Лабораторные исследования включали общий и биохимический анализ крови, определение

методом иммуноферментного анализа (ИФА) уровней фактора, индуцированного гипоксией 1α (HIF- 1α), фактора, индуцированного гипоксией 2α (HIF- 2α), индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS), эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), фактора роста эндотелия сосудов А (VEGF-A), карнитин-ацетилтрансферазы (CRAT), колориметрическое определение стабильных метаболитов оксида азота (NO), ферментативный анализ общего и свободного карнитина, ацилкарнитинов в плазме крови.

Положения, выносимые на защиту

1. Тяжесть COVID-19 пневмонии коррелирует не только с активностью системного воспаления, но и со степенью нарушения индуцированных гипоксией адаптационных механизмов.

2. Комбинация индекса ROX, отражающего тяжесть дыхательных нарушений, с биохимическими маркерами системного воспаления (СРБ, ферритин, NLR), коагулопатии (уровень тромбоцитов) и гипопроотеинемии обладает более высокой прогностической ценностью в отношении летального исхода у пациентов с COVID-19 пневмонией, чем каждый из этих параметров в отдельности.

3. Нарушение адаптации к гипоксии при крайне тяжёлом течении COVID-19 пневмонии характеризуется дисбалансом в системе HIF- α , что проявляется аномальной динамикой и соотношением уровней HIF- 1α и HIF- 2α в плазме крови.

4. Нарушения метаболизма при COVID-19 пневмонии, обусловленные системным дисбалансом карнитинового обмена, позволяют рассматривать уровень CRAT в плазме крови как потенциальный прогностический маркер тяжести метаболического стресса и гипоксического повреждения клеток.

Степень достоверности и апробации работы

Высокий уровень достоверности результатов исследования обеспечивается достаточным объёмом выборок, строгим соблюдением современных биохимических методик, корректным использованием статистического анализа, а

также логической обоснованностью полученных данных и сделанных выводов.

Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, были представлены, обсуждены и опубликованы в материалах конференций:

Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева» (Рязань, 2022); IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации» (Орехово-Зуево, 2022); Российской научно-практической конференции «Зубаировские чтения: новое в коагулологии», Российской научно-практической конференции «Медицинская биохимия: достижения и перспективы», посвящённой 160-летию кафедры биохимии Казанского государственного медицинского университета (Казань, 2023); Ежегодной научной конференции, посвящённой десятилетию науки и технологии и 80-летию Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова (Рязань, 2023); V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медицина и фармация. Прошлое, настоящее, будущее» (Орехово-Зуево, 2024); Всероссийской конференции с международным участием «Биохимия человека» (Москва, 2024); X Всероссийской научной конференции с международным участием молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационный технологии в медицине: взгляд молодого специалиста» посвящённой 175-летию со дня рождения И.П. Павлова и 120-летию со дня получения им Нобелевской премии (Рязань, 2024); Ежегодной научной конференции Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова посвящённой 175-летию со дня рождения И.П. Павлова и 120-летию со дня получения им Нобелевской премии (Рязань, 2024); «Алмазовский молодежный медицинский форум – 2025» (Санкт-Петербург, 2025); XI Всероссийской научной конференции с международным участием молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационный технологии в медицине: взгляд молодого специалиста» посвящённой 75-летию университета на Рязанской земле (Рязань, 2025).

Внедрение результатов исследования

Представленные в диссертационной работе основные результаты были успешно внедрены и используются в учебном процессе студентов и клинических ординаторов на кафедрах биологической химии; инфекционных болезней и фтизиатрии, онкологии с курсом анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Публикации по теме диссертации

По результатам диссертационного исследования опубликовано 16 научных работ, из которых 3 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или представленных в международных реферативных базах данных и системах цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации основных научных результатов диссертаций. Получено 3 патента РФ на изобретение и 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Личный вклад автора в исследование

Литературный поиск, работа с полученным биоматериалом, обработка полученных данных, в том числе статистический анализ, написание глав диссертационной работы проводились автором самостоятельно. Постановка цели и задач, разработка дизайна исследования, интерпретация результатов и подготовка научных публикаций осуществлялись совместно с научным руководителем.

Структура и объем диссертационной работы

Диссертационная работа представлена на 142 страницах машинописного текста и включает введение, 3 главы, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений, список литературы. Научная работа содержит 24 рисунка и 19 таблиц. Список литературы состоит из 259 источников, из них 43 – отечественных, 216 – зарубежных авторов.

Благодарности

Автор выражает глубокую признательность профессору кафедры биологической химии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, д.м.н., доценту Звягиной В.И., доценту кафедры факультетской терапии имени В.Я. Гармаша ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, к.м.н. Бельских Э.С. и ассистенту кафедры биологической химии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, к.б.н. Марсяновой Ю.А. за всестороннюю помощь на всех этапах исследования, при подготовке и публикации печатных работ; ректору ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, д.м.н., профессору Калинину Р.Е.; проректору по научной работе и инновационному развитию ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, д.м.н., профессору Сучкову И.А.; заведующему кафедрой биологической химии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, к.м.н., доценту Матвеевой И.В.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Особенности течения COVID-19 пневмонии

31 декабря 2019 года муниципальная комиссия здравоохранения Уханя, провинция Хубэй, Китай, сообщила о нескольких случаях заболевания пневмонией неизвестной этиологии [77]. В январе 2020 года было установлено, что причиной вспышки смертельного заболевания стал штамм нового коронавируса тяжёлого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2) [1]. В начале 2020 года Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) назвала новую болезнь «Коронавирусная болезнь 2019; COVID-19» [255]. 11 марта 2020 года ВОЗ объявила о статусе пандемии, на тот момент вирус распространился в 114 странах, а число заболевших достигло 118 тысяч человек, летальность составила 4 тысячи случаев [257].

В работе Н.В. Зайцевой и соавторов в период с марта 2020 года по апрель 2023 года рассматривалась последовательная смена пяти «волн» эпидемиологического процесса COVID-19 [4]. Согласно принятой концепции, под термином «волна» принимается период циркулирования среди заболевших штамма, занимавшего в структуре заболеваемости долю свыше 50%, сопровождающегося увеличением заболеваемости и/или смертности населения [4].

Наибольший интерес в изучении COVID-19 представляют первая и вторая волна пандемии, длившиеся в период с марта 2020 года по январь 2022 года. Продолжительность первой волны заболеваемости COVID-19 составляла 73 недели (март 2020 г. – май 2021 г.) и сопровождалась разнообразием штаммов вируса с преимущественным распространением штамма Alpha (до 30%) в конце волны. Длительность второй волны составила 32 недели (конец мая 2021 г. – начало января 2022 г.) и отличалась доминированием штамма Delta. В период второй волны COVID-19 инфекции были установлены наивысшие уровни недельной смертности населения (до 6‰) [4].

5 мая 2023 года ВОЗ объявила об отмене статуса пандемии для COVID-19 [256]. По данным, ВОЗ на январь 2026 года число заболевших COVID-19 в мире составило более 779 млн человек (количество умерших – более 7 млн человек), в России за всё время заболело более 24,9 млн (умерло – более 404 тыс.) человек [258].

SARS-CoV-2 является высококонтагиозным (индекс 1,4–2,5 [149]) и высокопатогенным β -коронавирусом, который передаётся преимущественно воздушно-капельным путём при прямом контакте с инфицированными больными, а также возможен фекально-оральный путь передачи [134].

Период инкубации SARS-CoV-2 может составлять от 2 до 14 дней с манифестацией симптомов на 5 день от момента заражения [97]. Пациенты с COVID-19 заразны и в инкубационном периоде [37]. Зарубежные исследования показали, что люди всех возрастов восприимчивы к заражению SARS-CoV-2, средний возраст заражённых составляет около 50 лет [74, 75, 104, 259]. У мужчин старше 65 лет, с сопутствующей патологией в анамнезе, инфекция чаще протекала в тяжёлой форме, в тоже время у большинства молодых людей и детей наблюдалось лёгкое или бессимптомное течение заболевания [74, 75, 77]. Клинически COVID-19 может варьироваться от бессимптомно течения до тяжёлых и жизнеугрожающих проявления, требующих стационарного и реанимационного наблюдения.

Согласно исследованию, проведённому в Китае, в 81% случаев наблюдалось лёгкое и среднетяжёлое течение COVID-19, у 14% заболевших пациентов развивалась тяжёлая пневмония, потребовавшая искусственной вентиляции лёгких (ИВЛ), а у остальных 5% больных заболевание осложнялось критическими состояниями, такими как дыхательная недостаточность, двухсторонняя пневмония, пневмонит, ОРДС, септический шок, полиорганная недостаточность [73, 193, 259].

Тяжёлое течение COVID-19 пневмонии может сопровождаться развитием ОРДС [62]. ОРДС – это острое, диффузное воспалительное поражение паренхимы лёгких, которое вследствие нарушения структуры и уменьшения объёма аэрированной лёгочной ткани, приводит к формированию дыхательной недостаточности [48]. Особенности ОРДС при COVID-19 являются

переполнение лёгочных артерий венозной кровью и развитие гемокоагуляционных расстройств в сочетании с нарушением респираторной механики и гипоксической вазоконстрикцией [120, 168].

По данным зарубежной литературы, более 80% больных с тяжёлым течением COVID-19, получавших ИВЛ, умирали к 28 дню от начала заболевания, несмотря на проведённое лечение [73, 76]. Высокая смертность и атипичность течения ОРДС у пациентов с COVID-19 позволяет сделать предположение, что COVID-19 создаёт определённые условия и предпосылки для нарушения формирования механизмов адаптации организма к условиям гипоксии [116].

SARS-CoV-2 проникает в клетку человека по эндосомному и неэндосомному путям через эндоплазматическую мембрану [147]. При эндосомном проникновении вирион SARS-CoV-2 прикрепляется к клеткам-мишеням путём прямого связывания интегрального S-гликопротеина с рецептором хозяина ангиотензин-превращающего фермента 2 (АПФ-2) [62]. Расщепление и прайминг S-гликопротеина происходит при непосредственном участии мембранно-связанной сериновой протеазы 2 (TMPRSS2), фузина и катепсина В и L, что приводит к слиянию вирусной и клеточной мембран [206]. Регуляция активности АПФ-2 происходит через экспрессию матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) или белка, а также через расщепление клеточной мембраны, опосредованной металлопротеиназным доменом ADAM17 (Рисунок 1) [164].

Внутри клеток хозяина SARS-CoV-2 высвобождает свою геномную РНК в цитоплазму для трансляции и репликации, опосредуемую комплексом репликации и транскрипции [245]. Затем транслируемые вирусные белки аккумулируются в эндоплазматическом ретикулуме с образованием новых вирионов, которые высвобождаются из комплекса Гольджи путём экзоцитоза во внеклеточное пространство [147].

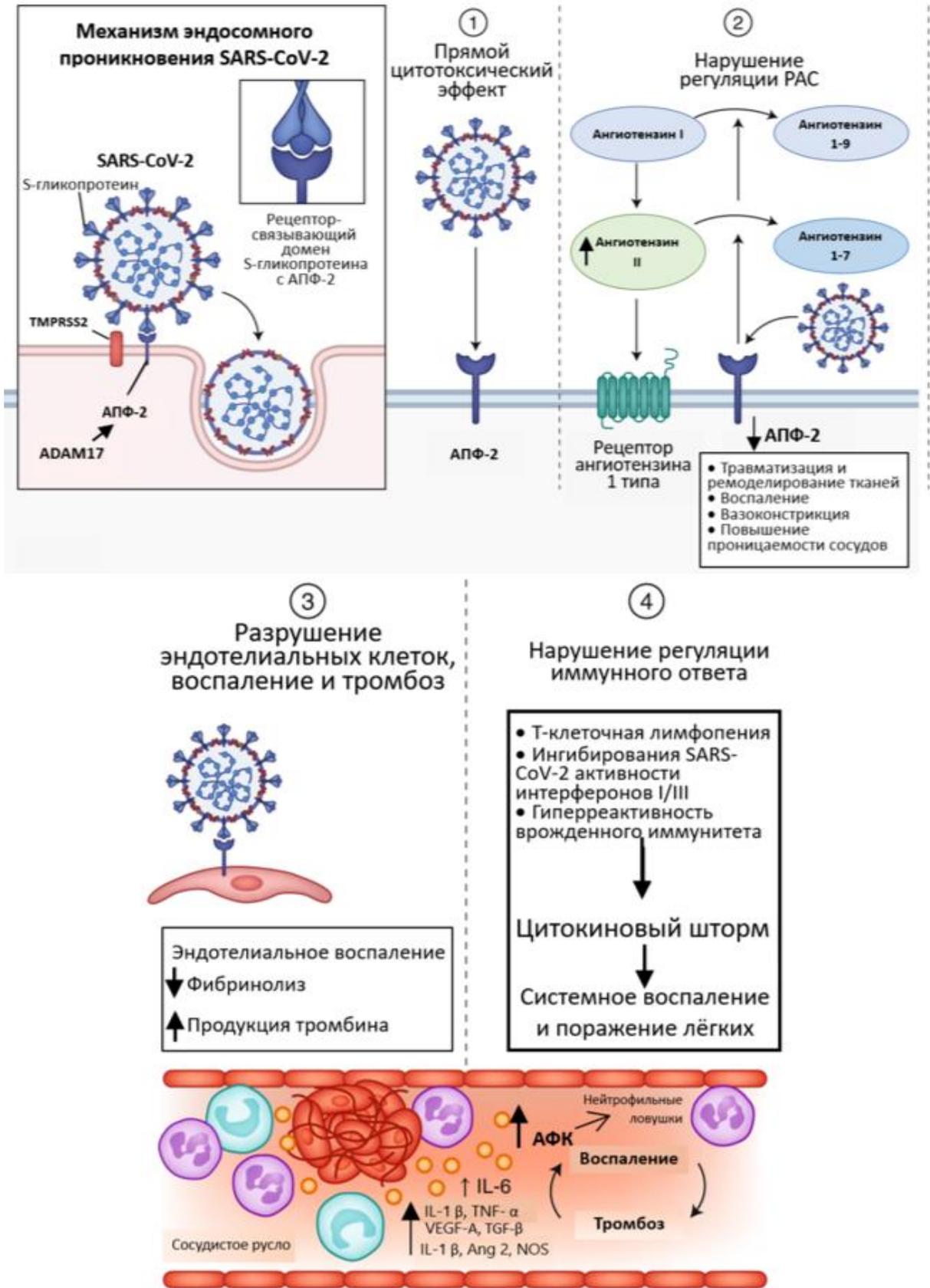


Рисунок 1 – Патогенез COVID-19 [109]

АПФ-2 экспрессируется в различных клетках человека, в том числе в эпителии сосудов лёгких, почек и кишечника и занимает ключевое место в ренин-ангиотензиновой системе (РАС), участвуя в гидролизе декапептида ангиотензин I до октопептида ангиотензин II [81]. Превращение ангиотензина I в ангиотензин (1–9), катализируется АПФ-2 путём отщепления С-терминальной аминокислоты лейцин [43]. Образование ангиотензина (1–9) способно снизить концентрацию ангиотензина II в следствии конкурентного антагонизма к ангиотензин-превращающему ферменту [44]. Кроме того, АПФ-2 расщепляет ангиотензин II до ангиотензина (1–7), обладающего вазодилатирующими, антипролиферативными, антитромботическими эффектами [47]. SARS-CoV-2, снижая уровень и активность АПФ-2, нарушает баланс ренин-ангиотензиновой системы, приводя к избыточной продукции ангиотензина II (Рисунок 1) [32].

Избыточный синтез ангиотензина II в лёгких при сопутствующем нарушении регуляторной оси «АПФ-2 – ангиотензин (1–7)» может привести к резкой вазоконстрикции, вентиляционно-перфузионным нарушениям и выраженной тканевой гипоксии (Рисунок 1), что является важным патогенетическим звеном тяжёлого течения COVID-19 [43]. Регуляторная ось «АПФ-2 – ангиотензин (1–7)» участвует в подавлении острого и хронического воспаления. Ангиотензин (1–7) способствует снижению миграции лейкоцитов и синтеза провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухоли α (TNF- α), интерферона γ , интерлейкина 1 β (IL-1 β), интерлейкина 6 (IL-6), а также снижению фиброгенеза [33]. В тоже время синтез противовоспалительного цитокина интерлейкина 10 (IL-10) увеличивается. Ангиотензин II может повышать проницаемость сосудов и вызывать дисфункцию эндотелия сосудов, снижая продукцию оксида азота (NO) [38]. Избыток ангиотензина II опосредует широкий спектр патологических эффектов, которые вносят существенный вклад в развитие и прогрессирование COVID-19.

Также, следует отметить, что АПФ-2 экспрессируется преимущественно альвеолоцитами 2 типа и клетками Клара в бронхиолах [57]. Повреждающее действие SARS-CoV-2 на эти клетки может привести к нарушению продукции сурфактанта, и, как следствие, нарушению функции лёгких и развитию

прогрессирующей дыхательной недостаточности.

Проникновение SARS-CoV-2 непосредственно в эндотелиальные клетки может привести к изменению гомеостаза сосудов и развитию эндотелиалита, а процессы воспаления в очаге инфекции ещё сильнее повреждают эндотелий сосудов, приводя к его дисфункции [99, 181, 240]. Эндотелиальные клетки участвуют в процессе образования тромбов, обеспечивают текучесть крови, а также предотвращают тромбоэмболические осложнения [50, 242, 247]. При повреждении сосудов тромбоциты связываются с тромбином, аденозиндифосфатом и тромбоксаном A₂, что приводит к агрегации тромбоцитов и вазокомпрессии во внутреннем слое сосудов. Эти явления необходимы для разрешения проблемы в повреждённых участках. Однако зоны, незатронутые повреждением, должны быть защищены от каскада коагуляции. Эндотелиальные клетки в неповреждённых сосудах индуцируют деградацию аденозинтрифосфата (АТФ) до аденозиндифосфата с помощью поверхностного фермента эктоатфазы, что предотвращает процесс активации тромбоцитов [110, 160, 238]. Кроме того, в свободных от повреждения участках эндотелиальные клетки посредством синтеза и высвобождения NO и простагландина I₂ вызывают расширение сосудов и ингибируют агрегацию тромбоцитов (Рисунок 1) [29].

Образование новых кровеносных сосудов из их микрососудистых структур может происходить вследствие воспаления, гипоксии и окислительного стресса, в результате чего активируется каскад ангиогенеза [203]. Процессы ангиогенеза подразделяются на прорастающий и инвагинационный [184]. Под влиянием проангиогенных факторов происходит деградация базальной мембраны, пролиферация, миграция и образование трубок в эндотелиальных клетках [186]. Наиболее известными проангиогенными факторами, экспрессируемыми при гипоксии, являются фактор роста эндотелия сосудов А (VEGF-A), рецептор 1 фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR1), эндотелин, трансформирующий фактор роста β, циклооксигеназа-2, эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS), ангиопоэтин 2, и рецептор ангиопоэтина [181]. Исследования I. Bernard и соавторов показали, что у не выживших пациентов с COVID-19 при исследовании

лёгких на вскрытии были выявлены микрососудистые повреждения (эндотелиалит) и проявления патологического воспалительного инвагинационного ангиогенеза [101]. При воспалении и особенно при «цитокиновом шторме» ядерный фактор транскрипции (NF- κ B) экспрессирует IL-1 β , IL-6 и TNF- α , которые принимают непосредственное участие в процессах ангиогенеза [119]. Кроме того, возникающий в результате воспаления окислительный стресс способствует запуску каскада ангиогенеза прямым путём или при воздействии активных форм кислорода (АФК) (Рисунок 1).

Проведённая М. Askermann и соавторами оценка моделей экспрессии генов, связанных с ангиогенезом, у пациентов с COVID-19 показала сверхэкспрессию проангиогенных факторов, в том числе VEGF-A, фактора роста тромбоцитов, VEGFR1, TNF- α и IL-6 [196]. Таким образом, эндотелиальная дисфункция, проявляющаяся патологическим ангиогенезом и нарушением коагуляции, является важным звеном в патогенезе COVID-19 [196].

Не менее значимым патогенетическим аспектом COVID-19 является развитие иммунного ответа [145]. Вирусная одноцепочечная РНК SARS-CoV-2, взаимодействует с внутриклеточными Toll-подобными рецепторами, индуцируемым ретиноевой кислотой геном 1 и ассоциированным с меланомой геном 5 [148, 170]. Последующая активация транскрипционных факторов, таких как факторы интерферона и NF- κ B, запускает систему врождённого иммунитета, которая индуцирует активацию интерферонов I и III типов, интерферон-стимулирующих генов, а также цитокинов и хемокинов, что являются первой линией защиты от вирусной инфекции [145].

У пациентов с бессимптомным и лёгким течением COVID-19 нейтрофилы и макрофаги индуцируют специфический врождённый иммунный ответ, направленный на уничтожение патогена и поражение инфицированных вирусом клеток. Повышенные уровни провоспалительных цитокинов (интерлейкина 2 (IL-2), IL-6, гранулоцитарно-колониестимулирующего фактора, интерферона γ , интерферон-гамма-индуцируемого белка 10 (IP-10), моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 и 3 (MCP-1, -3), воспалительного белка макрофагов

1 α и TNF- α) в лёгких приводят к увеличению количества лейкоцитов, что больше усиливает местную воспалительную реакцию [170]. Для оптимальной защиты организма на этом этапе присоединяется система адаптивного иммунного ответа, которая стимулирует инфильтрацию лимфоцитов (CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток) и естественных киллеров. CD4⁺ Т-клетки опосредуют выработку антител В-клетками и усиливают эффекторные ответы CD8⁺ Т-клеток и естественных киллеров. Этот организованный иммунный ответ приводит к эрадикации вируса и разрешению болезни [146].

В тоже время у больных с тяжёлыми формами COVID-19, вероятно, из-за высокой вирусной нагрузки и/или индивидуальной предрасположенности, наблюдается неадекватный иммунный ответ, который характеризуется лимфопенией и подавлением CD4⁺ Т-клеток, что ассоциировано с неблагоприятным прогнозом [252]. В результате недостаточной активации CD4⁺ Т-клеток, В-клетки генерируют ответ поликлональных антител, что становится малоэффективным в нейтрализации SARS-CoV-2. Большое количество истощённых Т-клеток приводит к экспрессии белка запрограммированной клеточной смерти 1, что указывает на снижение пролиферации и активности CD8⁺ Т-клеток [72, 76]. В тоже время естественные киллеры увеличивают уровень ингибирующего белка CD94/NKG2A [113]. Вышеуказанные процессы нарушают цитотоксическую активность и вызывают стойкое выделение вируса, что усиливает активацию макрофагов и нейтрофилов, приводя к массивному производству цитокинов (гиперцитокинемии). Исследование E. Sefik и соавторов показали, что макрофаги, находящиеся в лёгких, активируют инфламмосомы, экспрессируют IL-10 и интерлейкин 18 (IL-18), а затем подвергаются пироптозу, что ведёт к массивному высвобождению медиаторов воспаления и усугублению воспаления в лёгких [151]. Избыток цитокинов в сочетании с персистирующей вирусной инфекцией приводят к прогрессированию пневмонии, развитию ОРДС, системному поражению сосудов, диссеминированному внутрисосудистому свёртыванию и полиорганной недостаточности (Рисунок 1) [217, 224].

Гиперцитокинемия, или «цитокиновый шторм», является ключевым

патогенетическим звеном развития тяжёлых и критических форм COVID-19, вызывая системное воспаление и поражение жизненно важных органов, таких как лёгкие, сердце, печень и почки [112, 159, 172].

У пациентов с тяжёлым прогрессирующим течением COVID-19 наиболее часто выявляется комбинированное повышение IP-10 и MCP-3, что имеет высокую прогностическую ценность в определении неблагоприятных исходов [9, 187]. Однако проведённые исследования указывают, что активация макрофагов при COVID-19 является неотъемлемой частью инициации и распространения гипервоспалительной реакции, что ставит под сомнение вклад цитокинов в развитие COVID-19 [185, 219]. С. Wang и соавторы в своей работе обнаружили АПФ-2 на поверхности макрофагов и показали, что шиповидные белки SARS-CoV-2 взаимодействуют с макрофагами CD68⁺, что указывает на прямое заражение данных клеток [54]. Секвенирование РНК одиночных клеток бронхоальвеолярного лаважа у пациентов с COVID-19 в сторонних исследованиях подтвердило, что инфицированные макрофаги имели большую экспрессию хемокинов, чем неинфицированные [129, 218].

Иностранные исследования демонстрируют, что высокие показатели смертности у пациентов с тяжёлыми формами COVID-19 связаны с воспалительными биомаркерами, такими как IL-6 и TNF- α [76, 96]. Однако тестирование активности цитокинов не является рутинным методом в лабораториях медицинских организаций, в связи с этим определение уровня С-реактивного белка (СРБ), сывороточного ферритина и скорости оседания эритроцитов в сыворотке крови становятся основными биохимическими маркерами ответной реакции организма на раздражение, что может носить прогностическое значение в определении степени тяжести и исхода заболевания [96, 214]. Лимфопения и высокие показатели отношения тромбоцитов к лимфоцитам (PLR) и отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR) также могут быть использованы как прогностические маркеры воспалительных реакций организма [121, 122].

Присутствие избыточного количества нейтрофилов в очаге воспаления, ведёт

к выработке АФК, что сильнее повреждает инфицированные ткани [84, 178, 243]. Окислительный стресс в совокупности с вирусной инфекцией активируют высвобождение молекулярных структур, связанных с повреждением (DAMP's), которые вызывают провоспалительный эффект [209]. Помимо этого, активация нейтрофилов может способствовать образованию нейтрофильных клеточных ловушек (NETs), в результате чего из погибших нейтрофилов высвобождается их дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), а также другие биологически активные молекулы, что ведёт к прогрессированию воспаления и усилению протомботического дисбаланса [177, 209, 224]. В тоже время, образование NETs способно уменьшить распространение патогена в крови и привести к экскреции антимикробных соединений [177, 209]. Помимо этого, NETs могут стать активатором прокоагуляционной активности организма, что, в итоге может привести к сосудистому дисбалансу, повышенному тромбообразованию в микроциркуляторном русле и ОРДС [177].

Высокая инфильтрация нейтрофилов, а также высокий уровень NLR, могут быть использованы в качестве независимых факторов риска тяжёлого течения заболевания и прогностических маркеров неблагоприятного исхода у пациентов с COVID-19 [74, 179, 253].

Как уже было сказано ранее, развитие «цитокинового шторма» и ассоциированных с ним провоспалительных реакций может привести к развитию полиорганной недостаточности [112]. В результате чего для оценки рисков неблагоприятного исхода пациентам с COVID-19 проводится рутинное лабораторное тестирование, направленное на выявление нарушений в работе сердца, почек и печени [86].

Исследование, проведённое в Китае, демонстрирует, что у 12% всех госпитализированных пациентов и 31% пациентов отделения реанимации имели острую сердечно-лёгочную патологию, о чём свидетельствуют высокие показатели уровня сердечного тропонина I [77]. У пациентов с тяжёлым течением COVID-19 наблюдается аномальное функционирование печени, с повышением уровня аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), гамма-

глутамилтрансферазы и общего билирубина [68, 73, 89]. Для определения острого почечного повреждения основными индикаторами служат уровни мочевины и креатинина в сыворотке крови [68]. В дополнение к вышесказанному повышение лактатдегидрогеназы и фибриногена, а также снижение альбумина связано с прогрессированием заболевания [69, 103].

Острое повреждение лёгких, вследствие прямого повреждения клеток вирусом, накопления активированных нейтрофилов в микроциркуляторном русле, альвеолах и интерстиции с последующим высвобождением АФК и протеаз, а также развитие эндотелиальной дисфункции лёгочных сосудов приводят к нарушению оптимальной вентиляции и перфузии с последующим развитием и прогрессированием гипоксии [167, 176].

Таким образом, развитие системной гипоксии является важной патофизиологической особенностью и основной причиной смерти у пациентов с тяжёлыми формами COVID-19 [134].

1.2. Прогрессирующая системная гипоксия в патогенезе тяжёлых форм COVID-19 пневмонии

Лёгкие, как жизненно важный орган, постоянно контактирующий с кислородом, восприимчивы к инфекциям от различных патогенов, включая вирусы, бактерии и грибы; при этом, тяжёлое острое повреждение лёгких на фоне гипервоспаления, в частности, вызванное SARS-CoV-2, представляет серьёзную угрозу для жизни [15].

Под термином «гипоксия» подразумевается абсолютная или относительная недостаточность кислорода, ведущая к нарушению энергетического обеспечения органов, тканей и клеток организма для их оптимального функционирования, а также активности пластических процессов в них [10]. На клеточном уровне гипоксия приводит к нарушению митохондриального дыхания и снижению выработки АТФ, что ведёт к дисфункции и гибели клеток [137]. На органном уровне

гипоксия проявляется в виде дисфункции сердечно-сосудистой системы (снижение сократительной способности сердца, аритмии, нарушение тонуса сосудов), центральной нервной системы (повреждения нейронов, когнитивные расстройства, судороги, нарушение сознания), почек (снижение фильтрации, повреждение канальцев, электролитные нарушения) [88, 182, 246]. Кроме того, гипоксические условия стимулируют воспалительные процессы, повышают риск тромбообразования и замедляют процессы регенерации и заживления тканей [195].

Проникновение SARS-CoV-2 в альвеолы 2 типа, влияя на АПФ-2 рецепторы, снижает выработку сурфактанта, ухудшает вентиляцию лёгких и вызывает лёгочную вазоконстрикцию из-за механизма Эйлера-Лильестранда, что в сочетании с системной вазодилатацией усугубляет гипоксию (Рисунок 2) [204, 220]. Снижение выработки сурфактанта, воспалительный процесс в альвеолах и прогрессирующая лёгочная вазоконстрикция являются ключевыми механизмами развития гипоксии при COVID-19 [45].

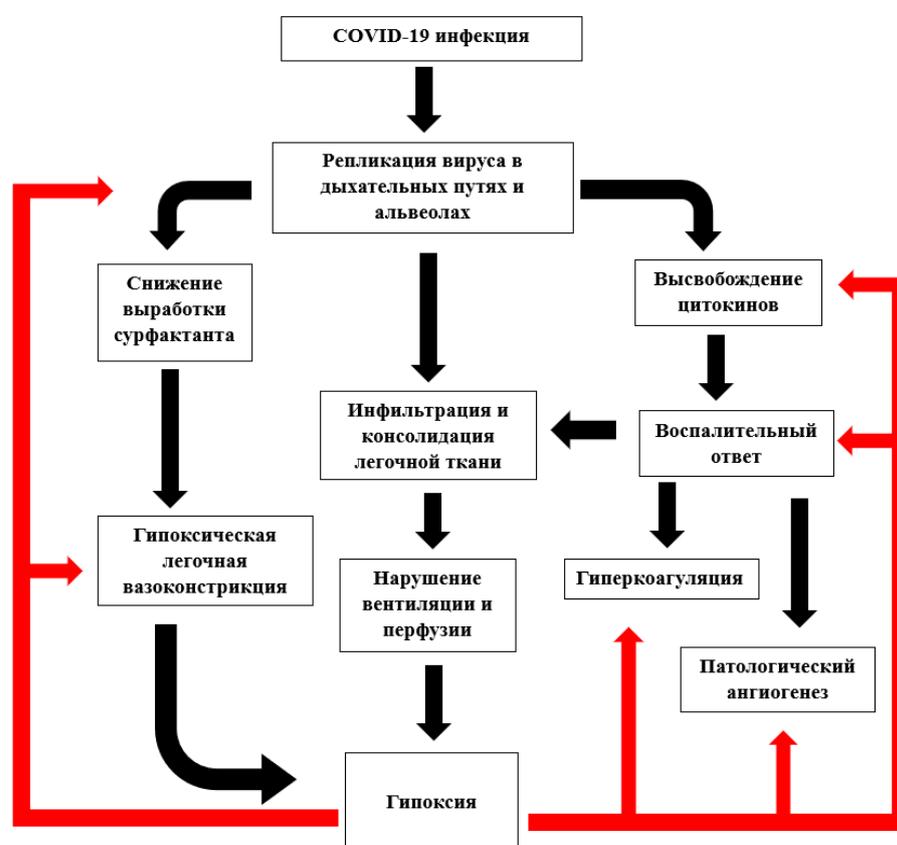


Рисунок 2 – Проявления прогрессирующей системной гипоксии [157, 204, 220]

Гипоксические условия способствуют репликации вируса (Рисунок 2) [46, 161]. В исследовании N. Vassilaki и соавторов было установлено, что низкое напряжение кислорода может усиливать репликацию вируса гепатита С [161]. D.M. López-Rodríguez с соавторами в своём исследовании на мышинных моделях показали, что гипоксическая микросреда играет ключевую роль в репликации и реактивации вируса Эпштейн-Барра [46]. Выше сказанное показывает, что гипоксия может усиливать размножение SARS-CoV-2 при COVID-19.

Системная гипоксия, развивающаяся при тяжёлой COVID-19 пневмонии, играет критическую роль в патогенезе заболевания, способствуя развитию полиорганной недостаточности, системного воспаления, эндотелиальной дисфункции и гиперкоагуляции (Рисунок 2), что может привести к летальному исходу [98, 133, 196, 220]. Гипоксия играет ключевую роль в развитии патологических процессов как при горной болезни, вызывая высвобождение провоспалительных цитокинов, воспаление и повышение проницаемости сосудов (Рисунок 2) и, так и при отторжении трансплантата, где тканевая гипоксия усиливает воспаление, приводя к его дисфункции [98].

Гипоксические условия способны повлиять на систему гемостаза, что может повышать риск образования тромбов (Рисунок 2). Гипоксия вызывает гиперреактивность тромбоцитов и способствует их адгезии к коллагену и фибриногену [53]. АФК инактивируют белок С и его агонист тромбомодулин, а также увеличивают превращение фибриногена в фибрин за счёт его окисления [200]. Кроме того, свободные радикалы кислорода в митохондриях под действием гипоксии активируют рецепторы протеинкиназы, усиливая экспрессию тканевого фактора на эндотелиальных клетках и моноцитах [175, 200]. При гипоксии экспрессируется NF-κB, отвечающий за регуляцию секреции провоспалительных цитокинов и экспрессию лигандов нейтрофилов на других клетках [107, 175, 235]. В работе V.S. Pilli и соавторов было продемонстрировано, что частичное усиление свёртывания крови, за счёт снижения экспрессии белка S, может быть связано с предрасположенностью к повышенному тромбообразованию у пациентов с COVID-19 пневмонией [133].

Клеточное кислородное голодание, характеризующееся повышенным образованием АФК и развитием окислительного стресса, стимулирует формирование патологического ангиогенеза и, как следствие, повреждение эндотелия сосудов (Рисунок 2) [157]. Исследования гистологического материала у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, демонстрируют повреждение эндотелиальных клеток сосудистого русла лёгких, почек и тонкого кишечника [99, 196]. Были обнаружены признаки эндотелиалита и эндотелиального отёка, а также апоптотические тельца, инфильтрация лимфоцитами и лейкоцитами, и наличие тромбоцитов у пациентов с COVID-19 пневмонией [99, 194, 230].

Высокие показатели уровня фибриногена, D-димера, протромбинового времени были связаны с ухудшением состояния пациентов с COVID-19 и повышали риск развития тромбозов, включая лёгочные микротромбозы, тромбозы глубоких вен, диссеминированное внутрисосудистое свёртывание и тромбозы лёгочных артерий [118, 121].

Характер, динамика и степень изменений организма зависят от типа, выраженности, скорости развития гипоксии, а также от реактивности организма [10]. Наиболее часто выделяют острую и хроническую гипоксию. При острой гипоксии недостаток кислорода в тканях возникает внезапно и развивается в течении непродолжительного периода времени (от 2 до 24 часов) [189]. В случаях недостатка кислорода в тканях более 24 часов развивается хроническая гипоксия, которая может сохраняться в течение недель или месяцев [189].

В качестве отдельного вида гипоксии можно выделить интермиттирующую гипоксию, наблюдаемую при синдроме обструктивного апноэ сна [131, 233]. Для данного типа гипоксии характерны колебания уровня кислорода в тканях, представляющие собой чередование периодов гипоксии и нормоксии, длящихся от нескольких минут до часов и даже дней [207]. Интермиттирующая гипоксия является наиболее злокачественным типом гипоксии, так как чередование циклов гипоксии и реоксигенации может привести к увеличению оксидативного стресса и повреждению клеток, повышенному тромбообразованию и стимулированию хронического системного воспаления [70, 223].

Известным методом оценки степени выраженности гипоксии и вентиляционно-перфузионных нарушений является анализ газового состава крови [60]. Однако в исследовании Н. Sanghani и соавторов было установлено, что у пациентов со среднетяжёлым и тяжёлым течением COVID-19 в результатах анализах газового состава крови на момент поступления в стационар у 55,4% больных наблюдался респираторный алкалоз, что предположительно связано с гипоксической гипервентиляцией [222]. У пациентов с тяжёлой формой COVID-19 пневмонией гипервентиляция и интенсивная респираторная поддержка могут затруднять интерпретацию результатов анализа газов крови и, следовательно, точную оценку степени гипоксии. Кроме того, рутинная оценка показателей газов крови в клинической практике имеет ряд трудностей, в частности, ограниченного материально-технического обеспечения медицинских организаций, а также дороговизну исследования.

Скрининговым методом диагностики дыхательной недостаточности и оценки выраженности гипоксемии является пульсоксиметрия с измерением уровня сатурации крови (SpO_2), которая позволяет определить потребность в респираторной поддержке [26-28].

Гипоксические условия способствуют запуску каскадов биохимических реакций, направленных на формирование механизмов адаптации и улучшение состояния пациентов [25]. Однако развитие системной гипоксии может привести к прогрессированию заболевания и неблагоприятному исходу, вследствие дезадаптации [127, 134]. Таким образом, поиск прикладных молекулярно-биологических методов оценки влияния отдельных видов гипоксии на организм человека может иметь решающее значение в прогнозировании исходов течения заболевания и в выборе метода и объёма респираторной терапии в клинической практике.

1.3. Фактор, индуцируемый гипоксией (HIF)

В последние годы учёными во всём мире активно изучаются

фундаментальные механизмы развития гипоксии и индуцируемых ею нарушений метаболизма и функции клеток. Обнаружен ряд морфофункциональных структур, участвующих в развитии срочной и долговременной адаптации организма к гипоксии [67, 143, 211, 225].

В процессах адаптации к гипоксическим условиям важная роль отведена специфическому регуляторному белку – фактору, индуцированному гипоксией (HIF), который относится к подсемейству PER-ARNT-SIM [139]. HIF имеет несколько изоформ, которые реагирует на снижение внутриклеточного содержания кислорода и на гипоксию [63,143]. Главными регуляторами транскрипции адаптивного ответа на гипоксию выступает HIF-1 и HIF-2. HIF является гетеродимерным белком, в котором β -субъединица, кодируемая геном ARNT, экспрессируется в клетке независимо от уровня кислорода, а синтез α -субъединицы регулируется кислородом и кодируется тремя генами: *HIF1A* (HIF1 α), *EPAS1* (HIF2 α) и *HIF3A* (HIF3 α) [92, 189]. Субъединицы HIF, и их соответствующие изоформы, имеют три домена: N-конец – домен bHLH связывает ДНК, центральный регион – домен PAS, облегчает гетеродимеризацию и C-конец, необходимый для пространственной ориентации транскрипционных корегуляторных белков [189].

Увеличение синтеза α -субъединиц фактора транскрипции происходит в ответ как на острую и хроническую гипоксию, так и на интермиттирующую [153]. HIF-1 α наиболее активен при острой, непродолжительной (2–24 ч) и выраженной гипоксии и аноксии, быстро накапливаясь в течение 4 часов, а затем значимо снижаясь к 24-му часу [102, 174, 189, 232]. При хронической, а также интермиттирующей гипоксии, уровень HIF-1 α повышается и увеличивает активность HIF-1 [131]. В случае умеренной хронической гипоксии за адаптацию преимущественно отвечает изоформа HIF-2 α , которая достигает максимума через 8 часов и не снижается в течение 24 часов [102, 174, 189, 232]. Однако при воздействии интермиттирующей гипоксии активность HIF-2 α снижается в результате повышенной деградации Ca^{2+} -активируемыми кальпаиновыми протеазами [190]. Биологическая роль изоформы HIF-3 α остаётся малоизученной и

активно исследуется, но предполагается, что она является отрицательным регулятором активности HIF-1 α и HIF-2 α за счёт конкуренции за связывание с субъединицами HIF-1 β [2, 198].

При нормоксии под влиянием O₂ и/или Fe-зависимых пролилгидроксилаз (PHD1, PHD2 и PHD3, кодируемыми *EGLN2*, *EGLN1* и *EGLN3*, соответственно) происходит гидроксилирование аминокислотных остатков пролина молекулы HIF- α , которая, впоследствии связываясь с адапторным белком фон Хиппеля-Линдау (pVHL), активирует систему убиквитинлигазы и подвергается протеасомной деградации [141]. В условиях гипоксии пролилгидроксилаза инактивируется, а HIF- α остаётся стабильной и накапливается. Субъединицы HIF- α и HIF- β димеризуются в клеточном ядре [34]. Образовавшийся в результате транскрипционный белок HIF при участии ко-активаторов CREB-связывающего белка (CBP/p300) связывается с элементами ответа на гипоксию (HRE) в промоторной области (Рисунок 3).

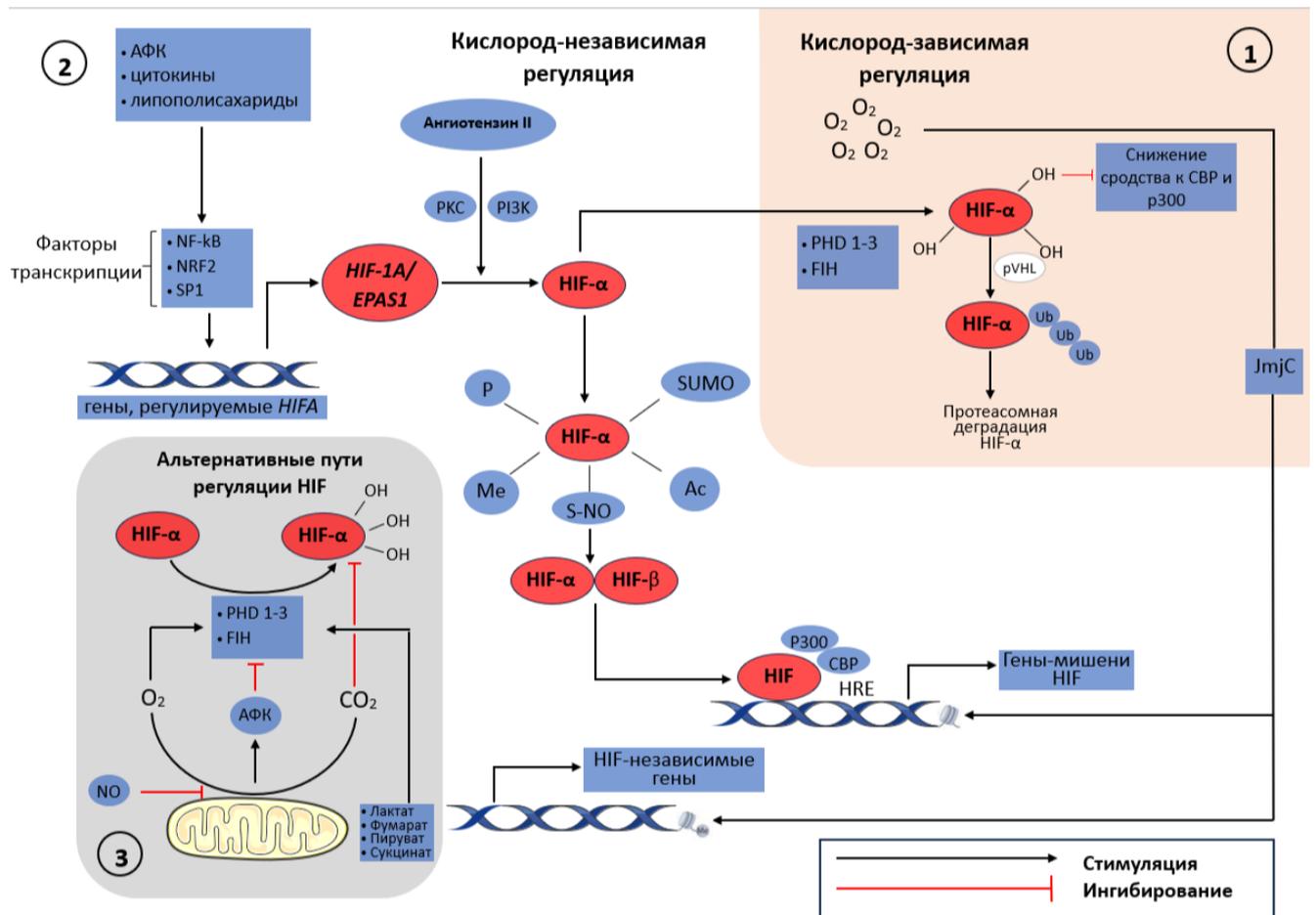


Рисунок 3 – Регуляция HIF [227]

Дополнительная кислород-зависимая регуляция HIF осуществляется с помощью гистоновых деметилаз (KDM), содержащих домен Jumonji C (JmjC). KDM используют молекулярный кислород для контроля гистонового метилирования, тем самым регулируя экспрессию гипоксия-зависимых генов [135].

Исследование С.А. Martinez и соавторов обнаружило различия в кислород-чувствительных механизмах при хронической и интермиттирующей гипоксии [153]. Эпигенетические изменения гистонов, управляемые балансом между гистоновыми метилтрансферазами (KMT) и KDM, играют ключевую роль в адаптации к обоим типам гипоксии [106, 153]. Как и PHD, KDM принадлежат к семейству 2-оксоглутарат-зависимых оксигеназ, требующих наличия кислорода и Fe^{2+} для ферментативной активности [106]. Отдельные представители этого семейства – KDM4A [228], KDM5A [135] и KDM6A [128] – функционируют как высокочувствительные кислородные сенсоры.

При нормоксии KDM поддерживают базальную экспрессию гена *HIF1A*, который подвергается непрерывной транскрипции и трансляции. Однако из-за кислород-зависимой деградации HIF-1 α белок не накапливается, и функционально активный HIF-1 не формируется (Рисунок 4) [153].

При хронической гипоксии стабилизация HIF-1 α усиливает его транскрипционную активность, повышая экспрессию генов-мишеней, включая сам *HIF1A* и гены KDM. Однако из-за выраженного дефицита кислорода ферментативная активность KDM подавляется, что приводит к недостаточному деметилированию гистона H3 по лизину 9 (H3K9) в промоторной области *HIF1A*. Это вызывает глобальное гиперметилирование H3K9 и последующее снижение экспрессии гена *HIF1A*, ограничивая накопление HIF-1 α несмотря на гипоксию (Рисунок 4) [155].

В отличие от хронической гипоксии, при интермиттирующей гипоксии повторяющиеся периоды оксигенации временно восстанавливают активность KDM. Это приводит к усиленному деметилированию H3K9 в регуляторной области *HIF1A*. В результате, несмотря на общий гипоксический фон, экспрессия *HIF1A* и уровень HIF-1 α превышают показатели, характерные для

хронической гипоксии [153]. Важно отметить, что при интермиттирующей гипоксии абсолютная экспрессия генов KDM ниже, чем при хронической, однако их функциональная активность выше благодаря кислород-зависимому восстановлению ферментативной функции в фазах реоксигенации. Это обеспечивает эффективное удаление метильных групп с H3K9, усиливая транскрипцию *HIF1A* (Рисунок 4). Таким образом, циклические колебания кислорода создают условия для более выраженной аккумуляции HIF-1 α по сравнению с устойчивой гипоксией, что подтверждается как эпигенетическими изменениями, так и уровнем мРНК *HIF1A*. Данный механизм объясняет адаптационную пластичность клеток при прерывистой гипоксии и может иметь значение для патогенеза состояний, сопровождающихся нестабильной оксигенацией тканей.

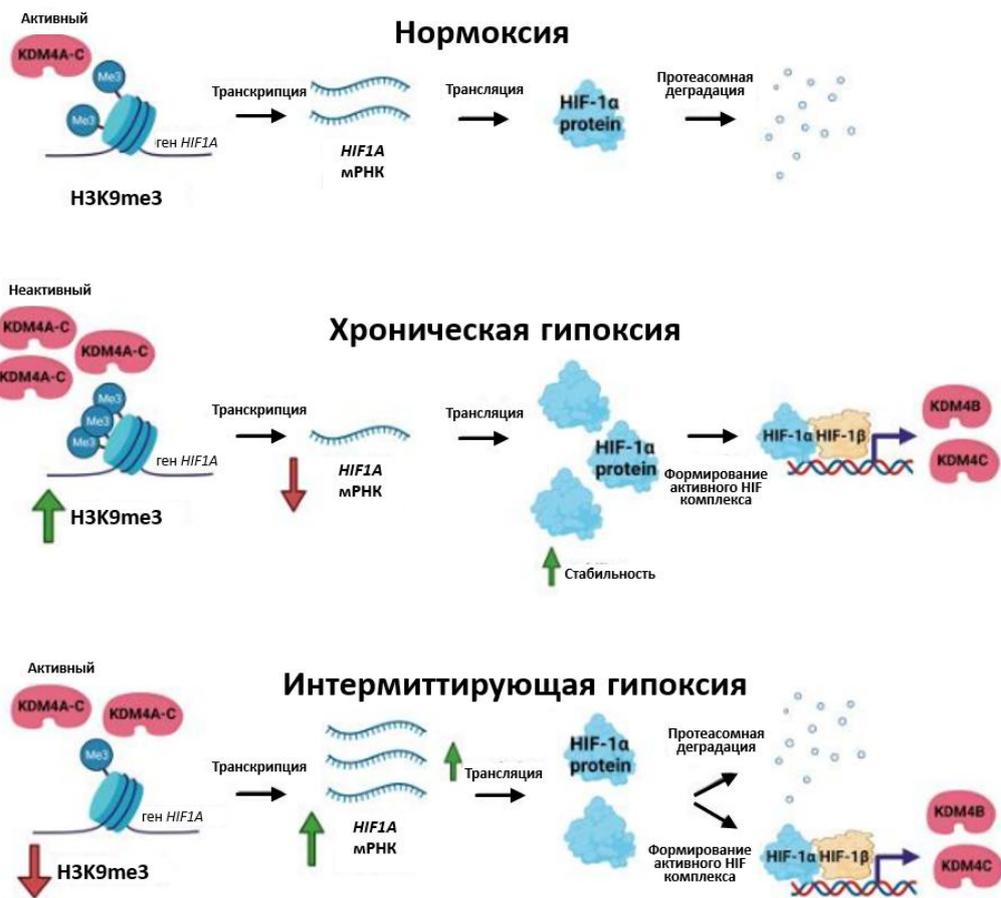


Рисунок 4 – Предполагаемый механизм активации HIF-1 при интермиттирующей гипоксии [153]

Помимо HIF-1 α , была изучена экспрессия гена *EPAS1* (кодирующего HIF-2 α) при обоих типах гипоксии [153]. В отличие от *HIF1A*, экспрессия *EPAS1* не демонстрирует аналогичной зависимости от типа гипоксии. Это указывает на различие молекулярных механизмов регуляции изоформ HIF, вероятно, связанное со специфической эпигенетической чувствительностью их промоторных регионов. Результаты подтверждают необходимость дифференцированного подхода к изучению HIF-1 α и HIF-2 α в патогенезе заболеваний с нарушением оксигенации.

Несмотря на то, что канонический, зависящий от кислорода путь HIF, широко распространён и хорошо изучен во многих типах клеток, исследования последних лет выявили, что его регуляция может подвергаться влиянию дополнительных факторов.

Биологическими сигналами регуляции активности HIF могут выступать физиологические газы, отличные от кислорода (NO, углекислый газ (CO₂) и сероводород (H₂S), кофакторы гидроксилазы HIF (Fe²⁺ и α -кетоглутарат), а также АФК (Рисунок 3) [25, 132, 183, 208, 227].

NO – это газовый медиатор, играющий важную роль в регуляции сосудистого тонуса, а значит, и в обеспечении перфузии тканей и поддержании общего кровяного давления [227]. В условиях гипоксии, когда PHD-белки ингибированы, а HIF-белки активированы, NO ингибирует цитохром-с-оксидазу (комплекс IV) в митохондриальной дыхательной цепи. Это перераспределяет кислород к HIF-гидроксилазам, что приводит к усилению гидроксилирования HIF, а затем к убиквитинированию и деградации HIF [202, 227].

CO₂, образуясь в митохондриях, подавляет стабильность HIF-1 α , в результате снижения внутриклеточного pH, что способствует деградации HIF-1 α по альтернативному лизосомальному пути [132].

Внутриклеточный лактат играет значимую роль в реализации адаптации к гипоксии, стабилизируя белки HIF- α , и N-тус нижестоящий регулируемый ген 3 путём ингибирования PHD [158]. Эта стабилизация HIF- α может происходить и в нормоксии (псевдогипоксия) из-за нарушений PHD, дефицита α -кетоглутарата или его кофакторов (Fe²⁺ и аскорбата), либо повышенной активности деубиквитиназы

[183, 208].

Пролилгидроксилирование HIF- α сопряжено с процессом утилизации α -кетоглутарата, аллостерическим ингибитором которого, выступает сукцинат [11, 26]. В нормоксических условиях сукцинат превращается в фумарат с помощью сукцинатдегидрогеназы, участвующей в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК) и цепи переноса электронов. Нарушение функции сукцинатдегидрогеназы приводит к накоплению сукцината, что связывают с дисфункцией комплекса II цепи переноса электронов, увеличением АФК, нарушением регуляции генов пролиферации и миграции, а также сукцинированием белков [152, 183, 244].

АФК, цитокины и липополисахариды могут вызывать экспрессию мРНК *HIF1A* и *EPAS1* в зависимости от активации сигнальных путей NF- κ B, сигнального белка 1 и связанного с NF-E2 фактор 2, являющимися универсальными факторами транскрипции, отвечающими за контроль экспрессии генов иммунного ответа, апоптоза, ангиогенеза, клеточного цикла и гомеостаза [61, 93, 107, 199, 248]. Ангиотензин II повышает экспрессию мРНК *HIF1A*, а также усиливает трансляцию HIF-1 α в гладкомышечных клетках сосудов через активацию сигнальных путей фосфоинозитид-3-киназы и протеинкиназы C, которая зависит от АФК (Рисунок 3) [150, 201].

Помимо основной модификации HIF, существует модулирование этого белка путём фосфорилирования, ацетилирования, сумоилирования, S-нитрозилирования и метилирования (Рисунок 3) [136, 239].

Ингибирование HIF белков может наблюдаться в гипоксических клетках по обратной связи за счёт увеличенной экспрессии гидроксилазных генов. В клетках с достаточным содержанием кислорода за ингибирование HIF отвечает фактор, ингибирующий HIF, который посредством гидроксилирования остатка аспарагина в HIF- α снижает сродство HIF к СВР и p300 (Рисунок 3) [111, 143, 166].

1.4. Биохимические нарушения при COVID-19 пневмонии, ассоциированные с гипоксией

Процессы адаптации к системной гипоксии регулируются изоформами HIF. Однако важно отметить, что при тяжёлом течении COVID-19 пневмонии эти механизмы могут быть нарушены [35], причём длительные гипоксические условия и избыточная экспрессия изоформ HIF могут приводить к дезадаптации и ухудшению течения COVID-19 пневмонии [35, 134]. Это подчёркивает сложную роль HIF при COVID-19, где адаптационные механизмы могут переходить в патологические.

В эндотелиальных клетках во время гипоксии как HIF-1 α , так и HIF-2 α быстро накапливаются на начальном этапе. Хотя субъединицы HIF-1 α и HIF-2 α обладают схожей стабильностью, более низкий уровень мРНК *HIF1A* и его дальнейшее снижение при длительной гипоксии, в результате перераспределения кислорода и последующей реактивации PHD, обуславливает более быстрое выведение HIF-1 α из клеток. Этот процесс является ключевым механизмом, определяющим переключение передачи сигналов с HIF-1 на HIF-2 для реализации адаптивных реакций на гипоксические условия [241].

Исследование на клеточных линиях показало, что при экспрессии HIF-1 α и HIF-2 α активируют 701 и 1454 гена соответственно [92]. HIF-1 α и HIF-2 α в основном регулируют гены-мишени согласованно или независимо, и только девять генов показывают противоположную регуляцию. Это предполагает, что их действие не является антагонистическим [92].

Проникновение SARS-CoV-2 в клетки

Установлено, что HIF-1 α участвует в регуляции проникновения SARS-CoV-2 в клетки, воздействуя на АПФ-2 через микроРНК *let-7b*, а также на экспрессию *TMPRSS2* и *ADAM17* [58, 95, 164, 173]. Это позволяет предположить, что уровень HIF-1 α может значительно влиять на восприимчивость к инфекции SARS-CoV-2,

модулируя возможность проникновения вируса [34, 58]. Действительно, показано, что гипоксия и роксадустат (ингибитор пролилгидроксилазы HIF-1 α) снижают экспрессию АПФ-2 и ингибируют проникновение и репликацию SARS-CoV-2 в эпителиальных клетках лёгких через HIF-1 α -зависимый механизм, что представляет интерес в контексте поиска потенциальных методов лечения COVID-19 [144].

Нарушение энергетического метаболизма

Несмотря на общие механизмы регуляции, структуры и функции, HIF-1 α и HIF-2 α демонстрируют существенные различия в запуске каскада транскрипционного ответа на гипоксию и патологические процессы [156]. В условиях тяжёлой гипоксии HIF-1 α активирует перепрограммирование метаболизма клеток [212]. HIF-1 α преимущественно регулирует гены, влияющие на метаболическое перепрограммирование, которое опосредует переход от кислород-зависимого окислительного фосфорилирования к анаэробному гликолизу [92]. HIF-1 α отвечает за регуляцию около 80% генов, вовлечённых в процессы гликолиза. Он активирует фосфофруктокиназу, лимитирующий фермент гликолиза, и перенаправляет метаболизм к анаэробному образованию лактата из пирувата, стимулируя пируватдегидрогеназы, лактатдегидрогеназу А (LDHA), обеспечивая дополнительное увеличение НАД⁺, однако ведёт к лактат-ацидозу [67, 189]. В тоже время, повышая активность гена пируватдегидрогеназы 1 (PDK1), HIF-1 α приводит к нарушению превращения пирувата в ацетил-КоА, ингибируя поступление субстрата в ЦТК, вызывая дефицит энергии и накопление цитозольного ацетил-КоА и НАДН [124]. Для детоксикации избыточного ацетил-КоА активируется карнитин-ацетилтрансфераза (CRAT), катализирующая его превращение в ацетилкарнитин [65]. Вследствие конвертации ацетил-КоА в ацетилкарнитин и нарушения целостности клеточных мембран при COVID-19 пневмонии CRAT предположительно высвобождается в системный кровоток. Несмотря на отсутствие предшествующих исследований, обнаружение CRAT в плазме крови может

служить потенциальным маркером как гипоксического повреждения клеток, так и метаболического переключения на гликолиз.

Нарушение липидного обмена

В условиях лактат-ацидоза и дефицита энергии клетка активирует β -окисление жирных кислот (ЖК). Ключевую роль в переносе активированных ЖК и ацетата через мембрану митохондрий занимает карнитин [64]. Карнитин оказывает регулирующее воздействие на воспалительные цитокины (IL-6 и TNF- α) [52]. Он также способствует снижению побочных эффектов от противокоронавирусных препаратов и оказывает протективное действие против некоторых повреждений, связанных с COVID-19, таких как нарушение функции лёгких и кардиотоксичность [210].

Перенос длинноцепочечных ЖК опосредован ферментом карнитин-пальмитоилтрансферазой 1А (CPT1A) [64]. Недавние исследования показали, что HIF-1 α подавляет экспрессию CPT1A [87, 237]. Это создаёт метаболический дисбаланс, когда потребность в β -окислении возрастает, но транспорт ЖК нарушен.

В тоже время, HIF-2 α способен индуцировать экспрессию генов, участвующих в поглощении ЖК и липопротеинов [126]. К этим генам относятся: рецептор липопротеинов очень низкой плотности; белок 2, родственник рецептор липопротеинов низкой плотности; липаза А; белок переноса фосфолипидов; перилипин 2 и транспортёр ЖК SLC27A3 [92]. Повышение активности вышеуказанных генов может способствовать нормализации обмена липидов.

Хотя роль карнитина в метаболизме хорошо известна, а гипоксия является характерной чертой тяжёлой COVID-19 пневмонии, патофизиологические механизмы, лежащие в основе дисрегуляции карнитин-зависимого транспорта ЖК в этих условиях, остаются неизученными. В частности, до настоящего времени отсутствуют исследования, направленные на детальное изучение динамики карнитинового профиля (общего, свободного карнитина и ацилкарнитинов) при COVID-19.

Дисрегуляция метаболизма железа

Высокий уровень HIF- α приводит к повышению экспрессии генов, обеспечивающих адаптацию клеток к гипоксии, благодаря стимуляции эритропоэза (ген эритропоэтина) [18, 94]. Эритропоэтин является ключевым гормоном, который стимулирует пролиферацию и дифференцировку эритроидных клеток-предшественников в костном мозге, приводя к увеличению количества эритроцитов. Однако другие исследования показывают, что основной изоформой, активирующей ген эритропоэтина, является HIF-2 α [115, 123]. Помимо эритропоэтина, HIF-2 α может влиять на экспрессию и других генов, связанных с эритропоэзом, таких как гены, участвующие в метаболизме железа, например, трансферрин и ферропортин [42, 56]. Гипоксия стимулирует эритропоэз, что приводит к увеличению потребности костного мозга в железе. Для удовлетворения этой потребности происходит усиление поглощения железа в кишечнике, возрастает способность сыворотки связывать железо, и железо мобилизуется из запасов организма [123].

Прогрессирование воспаления и окислительный стресс

Изоформы HIF играют роль ключевых посредников в адаптации макрофагов к условиям гипоксии в очаге воспаления [114]. Регуляция HIF-1 α , реализуемая различными классическими активаторами через сигнальный путь NF- κ B, приводит к продукции провоспалительных цитокинов (TNF α , IL6) и других медиаторов макрофагов M1 [39]. Как было отмечено ранее, активация HIF-1 α -сигнального пути способствует метаболическому переключению макрофагов на гликолиз, приводя к формированию провоспалительного фенотипа M1 [114]. iNOS является ключевым медиатором и маркером активации M1-макрофагов, регулируемым HIF-1 α . В гипоксических условиях HIF1 α -зависимая выработка NO через iNOS свидетельствует о его участии в бактерицидной активности [14, 91]. В результате M1-макрофаги оказывают провоспалительное и цитотоксическое действие в тканях лёгких, что проявляется прогрессированием системного

воспаления, повышенной продукцией АФК, массивным высвобождением цитокинов (таких как TNF- α , IL-1 β , IL-6) и хемокинов (например, CCL-5, CXCL9, CXCL10 и CXCL5) и в конечном итоге развитием «цитокинового шторма» [154, 165].

Важно отметить, что HIF-1 α , совместно с NF- κ B и воспалительным белком макрофагов 1 α , играет роль в нарушении естественного клиренса нейтрофилов, вызывая их избыточную внутрисосудистую активацию и NETs [34, 138]. Это, в свою очередь, способствует повышенному свёртыванию крови и повреждению стенки сосудов, что может приводить к тромбоэмболическим осложнениям [49].

С другой стороны, экспрессия HIF-2 α не зависит от NF- κ B и, предположительно, способствует развитию M2-макрофагов, что может быть связано с регулируемым HIF-2 α маркером M2-макрофагов, аргиназой 1 [231]. Функции M2-макрофагов опосредуют противовоспалительные процессы, таких как заживление ран, ремоделирование тканей и ангиогенез [24]. Они продуцируют цитокины и факторы роста, в том числе VEGF-A, эпидермальный фактор роста, трансформирующий фактор роста- β , интерлейкин 8 (IL-8), интерлейкин 13 (IL-13) и интерлейкин 1R (IL-1R) [24, 165].

Дисфункция эндотелия сосудов и развитие гемокоагуляционных нарушений

HIF-1 α и HIF-2 α отвечают за процессы регуляции ангиогенеза в условиях недостатка кислорода за счёт индукции множества сигнальных лигандов и рецепторов на клетках сосудов, эндотелия и иммунной системы [17, 92]. Кроме того, в условиях системной гипоксии и стабилизации HIF-1 α и HIF-2 α наблюдается активная экспрессия VEGF-A, ключевого фактора роста, стимулирующего ангиогенез [17, 92]. Избыток VEGF-A увеличивает проницаемость сосудов, способствуя разрушению межклеточных контактов, и активирует эндоцитоз, что приводит к экстравазации плазмы и отёку тканей [249, 251]. HIF1 α и HIF2 α регулируют гены вазодилатирующих пептидов и их рецепторов, включая адреномодулин, рецептор натрийуретического пептида, натрийуретический

пептид В, вазоактивный интестинальный пептид и синтазы простагландинов [92].

В свою очередь, HIF-2 α в большей степени, чем HIF-1 α , влияет на ремоделирование внеклеточного матрикса, опосредуя индукцию компонентов базальной мембраны (ламинин и коллаген IV), а также ферменты для посттрансляционной модификации и сборки фибрилл коллагена [42, 130]. Обе изоформы HIF способствуют восстановлению тканей, регулируя активность фибулина 2 и 7, периостина, версикана и тенасцина X, что позволяет формировать новые сосуды и поддерживать целостность их стенок [130].

Развивающаяся дисфункция эндотелия повышает риск развития отёка лёгких и ОРДС, что негативно влияет на течение COVID-19 пневмонии и способствует дальнейшему прогрессированию гипоксии [66, 250].

HIF-1 α и HIF-2 α увеличивают экспрессию генов, кодирующих молекулы клеточной адгезии и факторы, участвующие в прокоагулянтном каскаде (тканевой фактор и ингибитор активатора плазминогена-1) [117]. Более того, HIF-1 α и HIF-2 α ингибируют продукцию естественных антикоагулянтов – белка S и ингибитора пути тканевого фактора, что ещё больше повышает риск тромбообразования [117]. Развивающаяся коагулопатия и тромбоз в микроциркуляторной системе вносят существенный вклад в ухудшение состояния пациентов с COVID-19 пневмонией [12, 127].

Определение концентрации изоформ HIF- α

Классическим методом определения изоформ HIF- α является определение его уровня в тканях методом иммуногистохимии или вестерн-блоттинга. Однако определение уровней HIF- α в крови может быть предпочтительнее биопсии тканей, поскольку отличается практичностью и безопасностью. Стандартный забор крови легко выполним и не вызывает дискомфорта для пациента, позволяя регулярно оценивать динамику уровня HIF-1 α и адаптировать терапию в соответствии с полученными изменениями.

Определение уровня HIF- α в крови может иметь критическое значение ввиду

возможного присутствия изоформ HIF- α в системном кровотоке внутри экзосом [59, 125]. Экзосомы представляют собой мембранные везикулы диаметром 50–150 нм, образующиеся внутри клеток и секретируемые в экстрацеллюлярное пространство. Данные структуры транспортируют разнообразные биомолекулы, включая белки, РНК, ДНК и липиды. После экзоцитоза экзосомы способны осуществлять транспорт своего содержимого в клетки-мишени, выступая в качестве ключевого механизма межклеточной коммуникации. Биогенез, секреция и молекулярный состав экзосом являются контекстно-зависимыми и подвержены регуляции в рамках различных патофизиологических состояний, в том числе при системной гипоксии [78 125, 197]. В исследовании Х.У. Chen и соавторов впервые было обнаружено динамическое изменение уровня HIF-1 α в сывороточных экзосомах при бактериальном перитоните с помощью колориметрической методики [59]. Эти результаты открывают перспективы для использования HIF-1 α , циркулирующего в составе экзосом, в качестве раннего биомаркера различных патологических состояний, связанных с системной гипоксией.

В последние годы сторонние исследования также подтвердили значимость изменений уровня HIF-1 α в крови – для оценки различных патологических состояний. В работе, посвящённой немелкоклеточному раку лёгкого, подчёркивается значимость уровня HIF-1 α в плазме крови как прогностического маркера исхода заболевания [236].

Определение концентрации HIF-1 α в крови может быть использовано для оценки состояния микроциркуляторного русла. L.A. Neger и соавторы оценили уровень HIF-1 α в сыворотке крови у пациентов со вторичным синдромом Рейно и определили, что показатели HIF-1 α имеют потенциальную полезность в качестве биомаркера для диагностики и мониторинга заболевания [108]. В исследовании сосудистых нарушений при системной красной волчанке также подчёркивается клиническая ценность показателей HIF-1 α в крови – в оценке микроциркуляторных нарушений и рисков их прогрессирования [142].

В исследовании, направленном на оценку рисков реперфузионных аритмий после чрескожных коронарных вмешательств, было установлено, что повышенные

концентрации HIF-1 α в сыворотке крови ассоциированы с более тяжёлым течением реперфузионных аритмий [192]. Определение уровня HIF-1 α в сыворотке крови может иметь клиническое значение для оценки состояния при внутричерепном кровоизлиянии и прогнозирования исхода [213].

В нашей стране уже проводились исследования уровней HIF-1 α в крови. В исследовании злокачественных новообразований молочной железы высокие уровни HIF-1 α в сыворотке крови были связаны с более агрессивной характеристикой опухоли [40]. Уровень HIF-1 α был ассоциирован с исходом заболевания у пациентов с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточностью [41]. В исследовании И. А. Андриевской и соавторов было установлено, что у беременных пациенток с COVID-19 лёгкой и средней степени тяжести, уровни HIF-1 α повышались по мере утяжеления состояния [3].

Таким образом, недостаточное изучение динамики и диагностической ценности растворимых форм HIF-1 α и HIF-2 α в плазме крови при COVID-19 и, практически полностью отсутствующие данные о комплексном карнитиновом профиле (общий, свободный, ацилкарнитины) и его связи с гипоксией и уровнем HIF стали предпосылкой для нашего исследования.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика исследования

Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (протокол №2 от 11.10.2021 и протокол №2 от 16.09.2022), выполнено на базе кафедры биологической химии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России в соответствии с требованиями Национального стандарта Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика – Good Clinical Practice (GCP) ГОСТ Р 52379- 2005» и Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2013 года.

В соответствии с целью и задачами исследования был разработан дизайн одноцентрового ретроспективного исследования при участии 112 субъектов. Отбор пациентов для исследования проходил на базе Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» в период первой и второй волны COVID-19 (с января 2021 года по июль 2021 года) [4] с преимущественным распространением штаммов Alpha и Delta вируса SARS-CoV-2.

2.2. Общеклинические методы исследования

Клиническое обследование пациентов проводилось на базе Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» при госпитализации и на седьмые сутки лечения. Этиологическая диагностика SARS-CoV-2 осуществлялась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) [90]. Биоматериалом для проведения ПЦР являлся мазок из носоглотки и ротоглотки.

Для оценки степени поражения лёгких выполнялась компьютерная томография органов грудной клетки (КТ) на компьютерном томографе Aquilion PRIME («Canon», Япония) ввиду более высокой чувствительности для первичной диагностики, относительно рентгенографии [5, 80].

Выраженность дыхательной недостаточности оценивалась по уровню SpO₂ при госпитализации без кислородной поддержки и на фоне начатой респираторной терапии, и на седьмой день лечения с кислородной поддержкой с помощью пульсоксиметра Армед YX200 («Армед», Россия).

Для определения эффективности проводимой респираторной терапии был использован индекс частоты дыхания-оксигенации (ROX), который определялся как отношение уровня сатурации крови к фракции кислорода во вдыхаемом воздухе и к частоте дыхательных движений (SpO₂/FiO₂/ЧДД) [55, 205].

Для оценки степени тяжести COVID-19 была использована шкала NEWS-2 (National Early Warning Score 2) [180]. Шкала включает оценку следующих физиологических параметров: ЧДД, SpO₂, потребность в дополнительной кислородной поддержке, температура тела, систолическое артериальное давление и уровень сознания.

Рассчитывался индекс массы тела (ИМТ) как отношение массы тела в килограммах к квадрату роста в метрах (кг/м²). Полученное значение использовалось для классификации степени ожирения.

Ввиду наличия двух и более сопутствующих хронических заболеваний у пациентов с COVID-19 для оценки влияния коморбидного фона нами был использован индекс коморбидности Чарлсона (CCI) [229]. CCI основан на наличии 19 состояний, каждое из которых оценивается в баллах (от 1 до 6) в зависимости от их прогностической значимости. Суммарный балл CCI рассчитывался путём сложения баллов по всем присутствующим заболеваниям.

2.3. Характеристика исследуемых групп

Наблюдаемые пациенты были разделены на 3 группы (Рисунок 5, Таблица 1):

1-я группа – больные с ОРВИ, (n=10);

2-я группа – больные с подтверждённой COVID-19 пневмонией, (n=90);

3-я группа – здоровые добровольцы (n=12).

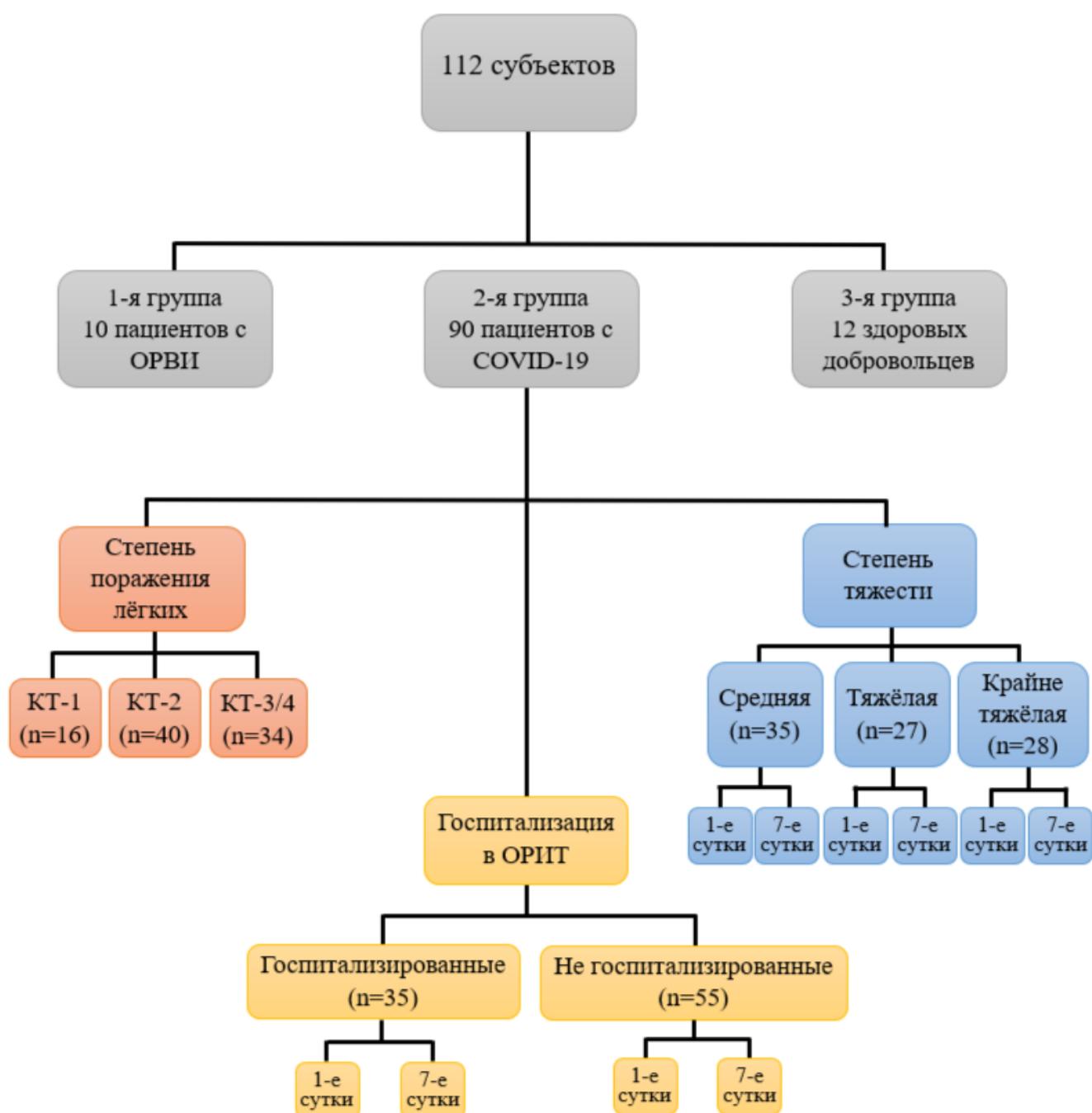


Рисунок 5 – Дизайн исследования

Все обследования проводились на добровольной основе с согласия участников исследования. После подписания информированного согласия проводилась оценка соответствия участников исследования критериям включения, невключения и исключения (Таблица 1).

Таблица 1 – Критерии включения / невключения / исключения в исследование

	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Критерии включения	Подписанное добровольное информированное согласие на участие в исследовании; Возраст старше 30 лет		
	Отрицательный результат ПЦР-теста; Отсутствие изменений в лёгких, характерных для вирусной пневмонии по данным компьютерной томографии	Верифицированный диагноз «коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV2 (COVID-19)»	Отсутствие в анамнезе бронхолёгочных заболеваний, сахарного диабета 1-го и 2-го типа, ишемической болезни сердца, хронические заболевания почек
Критерии невключения	Возраст моложе 30 лет и старше 90 лет; Беременность.		
	Хроническая обструктивная болезнь лёгких и бронхиальная астма в анамнезе	Перенесённые ОРВИ в течение 1 месяца	
Критерии исключения	Онкологические заболевания в анамнезе; Вирус иммунодефицита человека и синдром приобретённого иммунного дефицита в анамнезе; Отказ от участия в исследовании; Приём глюкокортикостероидов в течение 14 дней до начала исследования; Назначение генно-инженерных биологических препаратов в период проведения исследования		

На лечении в стационаре находились больные с ОРВИ без подтверждённой коронавирусной инфекции и пациенты с положительным результатом ПЦР-теста и клиническими проявлениями COVID-19 пневмонии.

Диагноз «коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV2 (COVID-19)» был выставлен на основании результатов ПЦР-теста, клиничко-анамнестических данных, объективного обследования пациента, данных компьютерной томографии в соответствии с временными клиническими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия 9 от 26.10.2020, версия 10 от 08.02.2021, версия 11 от 07.05.2021 [26–28].

В группе больных с COVID-19 наблюдалось наибольшее количество человек

(80%) по сравнению с пациентами с ОРВИ (9%) и здоровыми добровольцами (11%). Различия полу и возрасту в исследуемых группах не носили статистически значимых характер (Таблица 2).

В группе больных с COVID-19 пневмония ССІ был значимо выше в сравнении со здоровыми добровольцами ($p=0,002$) и сопоставим с группой ОРВИ ($p=0,855$). ИМТ был сопоставим во всех исследуемых группах (критерий Краскела-Уоллиса = 1,19; $p=0,551$) (Таблица 2).

Таблица 2 – Характеристика исследуемых групп (Me [Q1;Q3])

Показатель	ОРВИ (1 группа)	COVID-19 пневмония (2 группа)	Здоровые добровольцы (3 группа)
Количество пациентов	n=10	n=90	n=12
Мужчины	6	43	5
Женщины	4	47	7
Возраст, лет	63 [47;66,5]	65 [56;71]	58,5 [52,5;62]
ССІ, баллы	4,5 [2,25;5,75]	4 [3;6] *	2 [2;3]
ИМТ, кг/м ²	26,8 [22,6;36]	29,7 [26;35,5]	29,1 [24,8;33,7]
ГБ в анамнезе	7	71	5
ИБС в анамнезе	3	31	0
ХСН в анамнезе	2	23	0
СД 2 типа в анамнезе	2	35	0
Ожирение	3	35	6
ХБП в анамнезе	0	15	0
Примечание – * – $p_{1-2} < 0,05$, ССІ – индекс коморбидности Чарлсона, ИМТ – индекс массы тела, ГБ – гипертоническая болезнь, ИБС – ишемическая болезнь сердца, СД – сахарный диабет, ХБП – хроническая болезнь почек, ХСН – хроническая сердечная недостаточность			

С целью определения связи между объёмом поражения лёгких и тяжестью респираторных нарушений, пациенты с COVID-19 были стратифицированы по результатам КТ органов грудной клетки (Таблица 3). При этом использовалась «эмпирическая» визуальная шкала [79], позволяющая разделить пациентов на три подгруппы: КТ-1 (поражение менее 25%), КТ-2 (поражение 25–50%) и КТ-3/4 (поражение более 50%).

В группе больных КТ-2 наблюдалось наибольшее количество больных (44%) в сравнении с группой КТ-1 (18%) и КТ-3/4 (38%). Распределение по полу в группах КТ-2 (50% мужчин, 50% женщин) и КТ-3/4 (53% мужчин, 47% женщин) было примерно равным. В группе КТ-1 преобладали женщины – 69%. Количество баллов по шкале NEWS-2 у пациентов группы КТ-3/4 было значимо выше, чем в группе

КТ-1 и КТ-2 ($p=0,003$ и $p=0,002$ соответственно). Значимых различий по возрасту (критерий Краскела-Уоллиса = 2,056; $p=0,358$) ССИ (критерий Краскела-Уоллиса = 0,733; $p = 0,693$) и ИМТ (критерий Краскела-Уоллиса = 4,266; $p=0,119$) не было (Таблица 3).

Таблица 3 – Характеристика исследуемых подгрупп в соответствии с степенью поражения лёгочной ткани по данным компьютерной томографии (Me [Q1;Q3])

Показатель	КТ-1 (n=16)	КТ-2 (n=40)	КТ-3/4 (n=34)
Мужчины	5	20	18
Женщины	11	20	16
Возраст, лет	69 [57,8;72,5]	64,5 [54,8;69]	63,5 [55,5;70,8]
Шкала NEWS-2, баллы	5 [3;6]	5 [4;7] **	7 [6;8] *
ССИ, баллы	4 [2,75;7,25]	5 [3;6]	4 [3;6]
ИМТ, кг/м ²	28,2 [23,5;30,7]	31,4 [26,3;36,4]	29,6 [26,7;35,3]
Примечание – * – $p_{1-3} < 0,05$, * – $p_{2-3} < 0,05$, ССИ – индекс коморбидности Чарлсона, NEWS-2 – шкала тяжести течения COVID-19 пневмонии, ИМТ – индекс массы тела			

Учитывая, что оценка тяжести состояния пациентов с COVID-19 пневмонией не может быть основана исключительно на степени поражения лёгких, использовалась стратификация в соответствии с клиническими рекомендациями по COVID-19, определяющими степень тяжести заболевания (Таблица 4) [26–28].

Для среднетяжёлого течения COVID-19 пневмонии характерны следующие проявления: температура тела выше 38 °С, ЧДД более 22 в минуту, одышка при физических нагрузках, изменения на КТ лёгких, типичные для вирусного поражения, снижение SpO₂ ниже 95% и увеличение СРБ более 10 мг/л [26–28].

Тяжёлое течение COVID-19 пневмонии характеризуется: ЧДД > 30 в минуту, SpO₂ < 93%, нарушением газообмена (респираторный индекс ≤ 300 мм рт. ст.), нарушениями сознания и гемодинамики, а также признаками полиорганной недостаточности (лактат > 2 ммоль/л, шкала быстрой последовательной оценки органной недостаточности (quick Sequential Organ Failure Assessment, qSOFA) > 2 балла) и изменениями на КТ лёгких [26–28].

Крайне тяжёлое течение COVID-19 характеризуется комплексом жизнеугрожающих состояний, включающих стойкую лихорадку, ОРДС, острую дыхательную недостаточность, требующую ИВЛ, септический шок, полиорганную недостаточность и выраженные изменения лёгочной ткани по данным КТ [26–28].

Таблица 4 – Характеристика исследуемых подгрупп в соответствии со степенью тяжести течения COVID-19 инфекции (Me [Q1;Q3])

Показатель	Ср (1), n= 35	Т (2), n= 28	КрТ (3), n= 27
Мужчины	14	15	14
Женщины	21	13	13
Летальность:			
Выписался	35	18	0
Скончался	0	10	27
Пребывание в ОРИТ:			
Госпитализирован	0	11	23
Не госпитализирован	35	17	4
Койко-дни в стационаре	13 [11;17]	19 [12;28] *	11 [8;17] ***
Койко-дни в ОРИТ	0 [0;0] **	0 [0;3] *	6 [1;10] ***
Возраст, лет	60 [50,5;68,5]	65 [57,8;69]	69 [61,5;74]
Шкала NEWS-2, баллы	5 [2;5] **	6 [5;8] *	7 [6;7]
CCI, баллы	4 [2;5]	4 [3;6]	5 [4;6]
ИМТ, кг/м ²	28,5 [26;31,4]	30,5 [26,5;36,6]	30,2 [26,3;37,4]
КТ органов грудной клетки, степень	2 [1;2]	2 [2;3]	3 [2;3]
Примечание – * – $p_{1-2} < 0,05$, ** – $p_{1-3} < 0,05$, *** – $p_{2-3} < 0,05$, CCI – индекс коморбидности Чарлсона, NEWS-2 – шкала тяжести течения COVID-19 пневмонии, ИМТ – индекс массы тела, Ср – среднетяжёлое течение COVID-19 пневмонии, Т – тяжёлое течение COVID-19 пневмонии, КрТ – крайне тяжёлое течение COVID-19 пневмонии, ЧДД – частота дыхательных движений			

В группе больных со средней степенью тяжести COVID-19 наблюдалось большее количество больных (39%) в сравнении с группами тяжёлого (31%) и крайне тяжёлого течения (30%). Количество женщин в 1 группе преобладало над мужчинами (60% и 40% соответственно). Во 2 и 3 группах распределение по полу было в равных долях (Таблица 4).

Все пациенты со средней степенью тяжести COVID-19 получали терапию в профильном отделении вне ОРИТ и были выписаны на амбулаторное лечение. В группе тяжёлого течения COVID-19 пневмонии 39% пациентов находились на лечении в ОРИТ, а в исходе заболевания 64% были выписаны. В группе крайне тяжёлого течения 85% пациентов находились в отделении реанимации, летальность составила 100% (Таблица 4).

Пациенты с тяжёлым течением находились на лечении в стационаре дольше в сравнении с остальными группами (с группой 1 – $p=0,039$, с группой 3 – $p=0,021$). Группа крайне тяжёлого течения значимо дольше, чем остальные группы

находилась в ОРИТ (с группой 1 – $p < 0,001$, с группой 2 – $p = 0,002$), а группа тяжёлого течения, в свою очередь, дольше, чем группа 1 ($p < 0,001$) (Таблица 4).

Значимых различий по возрасту (критерий Краскела-Уоллиса = 4,42; $p = 0,11$), ССИ (критерий Краскела-Уоллиса = 4,38; $p = 0,112$) и ИМТ (критерий Краскела-Уоллиса = 3,59; $p = 0,166$) выявлено не было (Таблица 4).

При оценке тяжести состояния пациентов с COVID-19 по шкале NEWS-2 было установлено статистически значимо низкое количество баллов в группе среднетяжёлого течения по сравнению с группами тяжёлого и крайне тяжёлого течения ($p = 0,003$ и $p < 0,001$, соответственно) (Таблица 4).

Степень поражения лёгких, по данным КТ, у пациентов со средней степенью тяжести COVID-19 пневмонии была значимо ниже, чем в группах тяжёлого и крайне тяжёлого течения ($p = 0,021$ и $p < 0,001$, соответственно) (Таблица 4).

Согласно временным методическим рекомендациям по COVID-19 [26–28], перевод в ОРИТ осуществлялся при ухудшении состояния и наличии не менее двух из следующих критериев: нарушение сознания, снижение SpO_2 ниже 92% на фоне респираторной поддержки, или ЧДД более 35 в минуту. Соответственно, пациенты, включённые в группу COVID-19, были разделены на тех, кто был госпитализирован в ОРИТ, и тех, кто получал лечение вне ОРИТ (Таблица 5).

Таблица 5 – Характеристики исследуемых подгрупп в соответствии с нахождением в ОРИТ (Me [Q1;Q3])

Показатель	ОРИТ (n=35)	Вне ОРИТ (n=55)
Мужчины	15	28
Женщины	20	27
Возраст, лет	67 [59,5;71,5]	63 [52;70]
Шкала NEWS-2, баллы	7 [5;7] *	5 [4;7]
ССИ, баллы	5 [4;7]	4 [2;6]
ИМТ, кг/м ²	31,9 [27,4;36,7]	29 [26;32,4]
Степень поражения лёгких, %	50 [30;60] *	35 [25;40]
Примечание – * – $p < 0,05$, ССИ – индекс коморбидности Чарлсона, NEWS-2 – шкала тяжести течения COVID-19 пневмонии, ИМТ – индекс массы тела		

Под наблюдение и проведение интенсивной терапии в ОРИТ было госпитализировано 39% пациентов. В группе ОРИТ преобладали женщины (57%), в группе пациентов из профильного отделения вне ОРИТ распределение по

гендерному признаку было равным. Статистически значимых различий по возрасту ($p=0,304$), ССИ ($p=0,075$) и ИМТ ($p=0,072$) установлено не было. Степень тяжести состояния по шкале NEWS-2 и степень поражения лёгких, по данным КТ, у пациентов группы ОРИТ были значимо выше, чем у пациентов профильного отделения ($p=0,012$ и $p<0,001$, соответственно) (Таблица 5).

Всем больным при госпитализации обеспечивалась низкопоточная доставка кислорода со скоростью потока от 1 до 15 литров в минуту посредством назальных канюль и ороназальных масок. При малой эффективности низкопоточной оксигенации пациентам применялась прона-позиция, а в случае неэффективности обеспечивалась доставка увлажнённого кислорода с помощью приборов с высокой скоростью потока кислорода (до 70 л/мин), неинвазивной искусственной вентиляции лёгких (НИВЛ), а также инвазивной ИВЛ через эндотрахеальную или трахеостомическую трубку.

Все пациенты с COVID-19 пневмонией получали антикоагулянтную, глюкокортикостероидную и противовирусную терапию в зависимости от тяжести течения заболевания и в соответствии с актуальными на момент проведения исследования методическими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19) [26–28]. При наличии у больных хронических заболеваний, им была назначена соответствующая терапия.

При стандартизации глюкокортистероидной терапии в эквивалентные дозы дексаметазона было установлено, что объём глюкокортистероидной терапии у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 пневмонии был сопоставим, что соответствует методическим рекомендациям [26–28]. В качестве антикоагулянтной терапии использовали эноксапарин натрия или нефракционированный гепарин. Объём антикоагулянтной терапии был сопоставим у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 пневмонии.

Размер выборки соответствовал достаточному уровню мощности ($d=0,829$). В качестве первичного показателя был использован уровень фактора, индуцированного гипоксией 1α (HIF- 1α) в плазме крови.

2.4. Дизайн лабораторной части исследования

В крови участников исследования определялись параметры общего и биохимического анализа крови для характеристики системного воспаления и нарушений окислительного гомеостаза. Для проведения лабораторных исследований использовали сыворотку и плазму крови. Сыворотка получалась путём сбора крови в вакуумные пробирки (BD Vacutainer) с активатором свёртывания и последующим отделением жидкой фракции (сыворотки). Плазму получали из цельной крови, собранной в вакуумные пробирки (BD Vacutainer Plus, США) с гепарином натрия (17 МЕ/мл) в качестве антикоагулянта, путём центрифугирования при 3000 об/мин в течение 10 минут. Все полученные образцы сыворотки и плазмы крови подвергались визуальному контролю на предмет гемолиза. Пробы с видимым гемолизом исключались из исследования.

2.4.1. Общеклинические лабораторные исследования

На базе Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» проводилось определение общего анализа крови методом проточной цитометрии на системе клеточного анализа UniCel DxH 800 Coulter («Beckman Coulter, Inc.», США). Рассчитывался индекс NLR и индекс PLR [234]. Определяли активность С-реактивного белка, сывороточного ферритина, фибриногена иммунотурбидиметрическим методом на автоматическом биохимическом анализаторе Indiko Plus («Thermo Scientific», Финляндия). Основной целью данных исследований являлось определение выраженности системного воспалительного ответа. Определяли активность трансаминаз (АСТ и АЛТ), уровень общего белка, глюкозы, креатинина, мочевины, билирубина для оценки метаболического статуса и выраженности органной недостаточности.

2.4.2. Лабораторные исследования маркеров формирования адаптационных механизмов к условиям гипоксии

Анализ показателей, характеризующих влияние гипоксии при COVID-19, выполнялся на кафедре биологической химии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Исследуемые показатели оценивались в плазме крови, полученной из венозной крови с использованием антикоагулянта – гепарина натрия. Был проведён анализ факторов, индуцированных гипоксией, с целью определения вида и степени выраженности гипоксических условий. Определены факторы, потенцирующие прогрессирование системного воспаления при гипоксии. Были проанализированы лабораторные показатели, свидетельствующие о развитии эндотелиальной дисфункции в условиях гипоксии. Выполнен анализ метаболического стресса при COVID-19 (Рисунок 6).

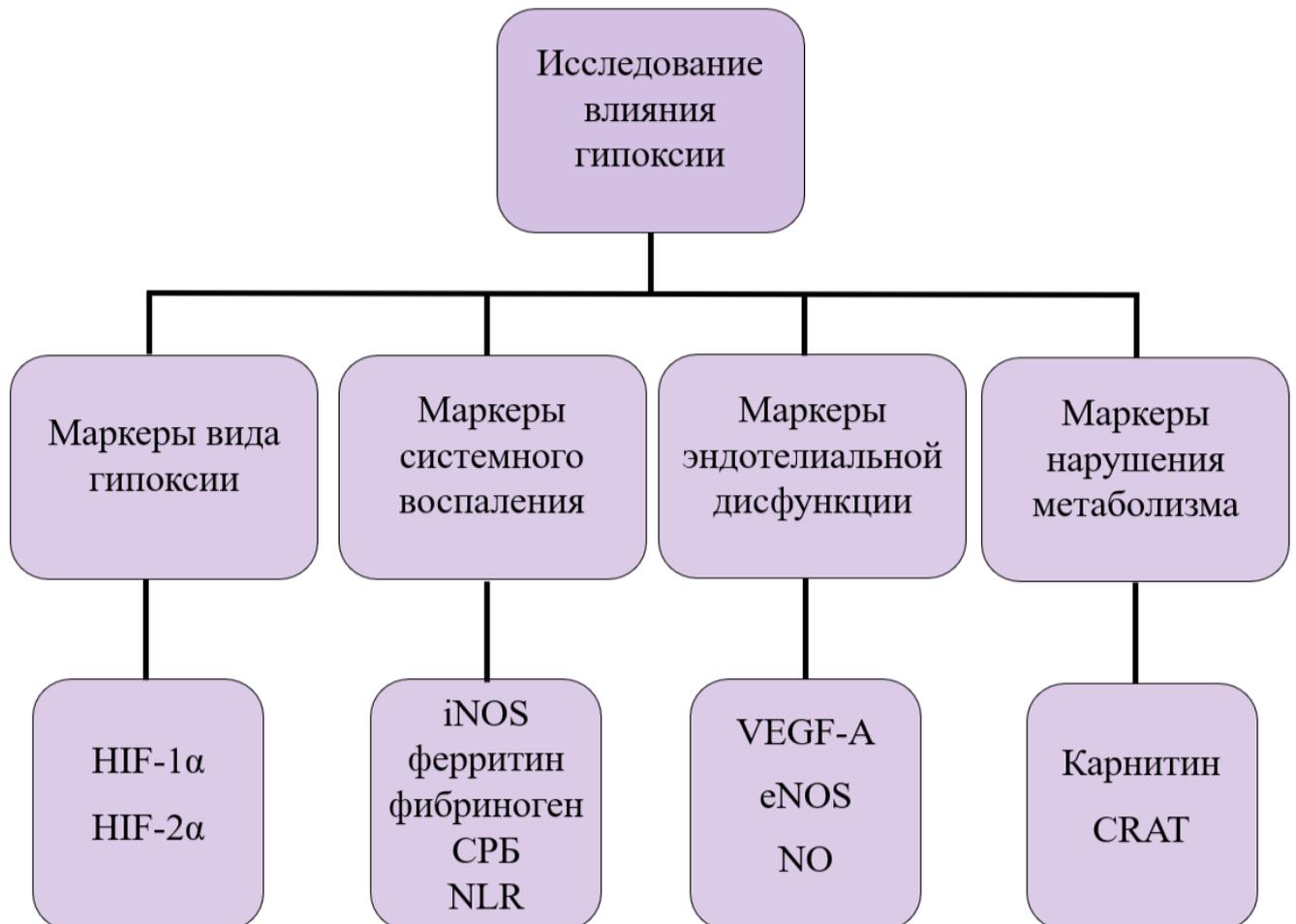


Рисунок 6 – Схема лабораторного этапа исследования

2.4.2.1. Иммуноферментный анализ (ИФА)

Иммуноферментные методики исследования включали в себя:

1. Определение концентрации фактора, индуцированного гипоксией 1α (HIF- 1α) в плазме крови. Набор ELISA Kit for Hypoxia Inducible Faktor 1α (HIF- 1α) (Cloud-Clone Corp., КНР).
2. Определение концентрации фактора, индуцированного гипоксией 2α (HIF- 2α). Набор ELISA Kit for Hypoxia Inducible Faktor 2α (HIF- 2α) (Cloud-Clone Corp., КНР).
3. Определение концентрации индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS). Набор ELISA Kit for Nitric Oxide Synthase 2, Inducible (NOS2) (Cloud-Clone Corp., КНР).
4. Определение концентрации эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS). Набор ELISA Kit for Endothelial NOS (eNOS) (Cloud-Clone Corp., КНР).
5. Определение концентрации фактора роста эндотелия сосудов А (VEGF-A). Набор ELISA Kit for Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGF-A) (Cloud-Clone Corp., КНР).
6. Определение концентрации карнитин-ацетилтрансферазы (CRAT). Набор ELISA Kit for Carnitine Acetyltransferase (CRAT) (Cloud-Clone Corp., КНР).

Выполнение исследования проводилось со строгим соблюдением инструкции по применению набора. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (приказ МЗ РФ от 06.06.2012 №4н).

Состав набора

- 1) Разборный 96-луночный микропланшет;
- 2) Стандартный антиген;
- 3) Детективный реагент А;
- 4) Детективный реагент В;
- 5) ТМВ;
- 6) Стоп-реагент;

7) Моющий раствор.

Валидация коммерческих наборов

Процедура валидации ИФА-системы включала 6 аналитических серий. В составах каждой аналитической серий были проанализированы калибровочные стандарты для построения зависимостей, а также интактные образцы плазмы крови пациентов и образцы контроля качества с определёнными концентрациями исследуемых показателей. Определялись верхние и нижние пределы количественного определения.

Подготовка образцов и реактивов

Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы плазмы крови выдерживались в течение 30 минут при комнатной температуре. Подготовка калибровочных, контрольных образцов, конъюгата и раствора ТМБ проводилось непосредственно перед использованием. Для внесения материала и растворов в лунки использовались одноразовые наконечники. Исследуемые образцы центрифугировали при 1000 g в течение 15 минут. Затем плазму извлекали и добавляли по 100 мкл в соответствующие лунки и инкубировали в течение 1 часа при температуре 37 °С. Далее жидкость удалялась, лунки не промывали.

Ход определения

На первом этапе анализа исследуемые образцы инкубировали в лунках с иммобилизованными на стенках лунки моноклональными антителами (детективный реагент А) с последующим связыванием в течение 1 часа при температуре 37 °С. Затем трёхкратно промывали моющим раствором (350 мкл).

На второй стадии, при инкубации в течение 30 минут при температуре 37 °С, связавшийся субстрат взаимодействует с биотинилированными поликлональными антителами. Затем пятикратно промывали моющим раствором (350 мкл).

На третьей стадии полученный ранее комплекс взаимодействует со стрептавидином, конъюгированный с пероксидазой хрена, в течение 20 минут при температуре 37 °С, жидкость окрашивалась синим цветом.

Затем добавляли стоп-реагент, жидкость приобретала жёлтый цвет, и измеряли оптическая плотность фотометрическим методом на длине волны 450 нм

на планшетном анализаторе STAT FAX 3200 (Awareness Technologies, США) (Рисунок 10). Расчёт содержания исследуемых факторов проводили по калибровочному графику, используя калибровочные растворы, входящие в состав набора, и выражали в нг/мл и пг/мл. Все полученные результаты находились в пределах от 75 до 125% низкого и высокого пределов количественного определения концентрации.

2.4.2.2. Определение концентрации метаболитов оксида азота в плазме крови

Прямой количественный анализ NO затруднителен, так как представляет собой короткоживущее соединение (период полураспада в водной среде – несколько мс). В связи с этим для оценки обмена NO в настоящее время определяют его стабильные конечные метаболиты – нитриты и нитраты.

Метод определения метаболитов NO основан на восстановлении нитратов в нитриты с помощью хлорида ванадия (VCl_3). Нитриты диазотируют сульфаниламид, образовавшееся вещество вступает в реакцию азосочетания с нафтилэтилендиамином с образованием соединения розового цвета. Интенсивность окраски пропорциональна суммарной концентрации нитритов и нитратов в образце [13].

Реактивы

- 1) Этиловый спирт 96%;
- 2) 8% раствор VCl_3 (Acros Organics, США) в 1 М HCl – готовится ex tempore.
- 3) 10% раствор реактива Грисса (ООО «НеваРеактив», Россия) в 12% уксусной кислоте (ЗАО «База №1 Химреактивов», Россия) – готовится ex tempore.

Ход определения

Пробы депротеинизируют путём добавления 96% этилового спирта в соотношении 1:2, проводится экспозиция в течение 15 минут. Затем пробы центрифугируют при 4000 оборотах в минуту в течение 10 минут. Затем в пробирки отмеряют равные объёмы надосадка, растворов Грисса и VCl_3 и инкубируют в

течение 30 минут при температуре 37°C. Далее определяют оптическую плотность при длине волны 540 нм против контроля реактивов (анализ проводился на иммуноферментном анализаторе Stat Fax 1904+, Awareness Technology Inc., США). Расчёт концентрации метаболитов NO проводят по калибровочной кривой, построенной по серии разведений водного раствора NaNO₂, используя формулы:

$$C=A/f, \quad (1)$$

где C – концентрация нитритов, мкмоль/г,

A – оптическая плотность,

f – фактор для пересчёта концентрации в мкмоль/мл, полученный исходя из калибровочного графика

2.4.2.3. Определение концентрации общего и свободного карнитина в плазме крови

Концентрацию карнитина в плазме крови пациентов определяли по методу L. Wan и R.W. Hubbard [254]. В основе метода лежит реакция L-карнитина с ацетил-КоА, катализируемой карнитинацетилтрансферазой, протекающей с образованием ацетилкарнитина и свободного КоASH, реагирующего неэнзиматически с 5,5-дितिобис-2-нитробензоатом (DNTB) и образующего окрашенный продукт – 5-тио-2-нитробензоат, интенсивность которого, пропорциональна содержанию L-карнитина.

Реактивы

1) 50 мМ HEPES/КН₂РО₄/К₂НРО₄ буфер с рН=7,5.

5 мл 1 М HEPES («Sigma», США) буфера разбавляли до 100 мл фосфатным буфером, полученным путём разбавления 1,19 г одноосновного фосфата калия (ЗАО «Вектрон», Россия) и 2,83 г двухосновного фосфата калия (ЗАО «Вектрон», Россия) в 100 мл воды;

2) 0,25% водный раствор ацетил-КоА («Sigma», США);

3) 0,02% раствор DTNB («Sigma», США) в 100 мл 50 мМ

HEPES/ KH_2PO_4 / K_2HPO_4 буфера;

- 4) Карнитинацетилтрансфераза (EC 2.3.1.7, «Sigma», США), 50 мкл фермента разводили дистиллированной водой 1:100;
- 5) 70% HClO_4 («Sigma», США), 18 мл кислоты разводили в 100 мл дистиллированной воды;
- 6) 2М водный раствор КОН (ЗАО «Вектрон», Россия);
- 7) 5 мМ водный раствор L-карнитина («Sigma», США).

Ход определения

Подготовка образцов для определения концентрации общего карнитина

200 мкл образца плазмы крови смешивали с 10 мкл 2 М КОН и инкубировали в течение 45 минут при комнатной температуре для полного гидролиза эфирных связей. Затем в смесь вносили 40 мкл раствора HClO_4 , перемешивали в течение 10 секунд и добавляли 30 мкл 2 М КОН для нейтрализации. Полученный раствор центрифугировали при 3000 g 5 минут, супернатат использовали для определения.

Подготовка образцов для определения концентрации свободного карнитина

К 200 мкл образца плазмы крови добавляли 40 мкл раствора HClO_4 , смешивали и вносили 40 мкл 2 М КОН для нейтрализации и центрифугирования при 3000 g 5 мин.

В микропробирку иммуноферментного анализатора добавляли среду инкубации, содержащую 180 мкл 50 мМ HEPES/ KH_2PO_4 / K_2HPO_4 буфера с 0,02% DNTB, pH=7,5; 25 мкл опытной пробы; 20 мкл раствора ацетил-КоА. Реакцию инициировали внесением 35 мкл раствора карнитин-ацетилтрансферазы. После этого определяется оптическую плотность при длине волны 410 нм против контроля (буферный раствор) на иммуноферментном анализаторе Stat Fax 3200, (Awareness Technologies, США). Расчёт концентрации карнитина проводили по калибровочной кривой, построенной из серии разведённого водного 5мМ раствора L-карнитина. Результаты выражали в мкмоль/л плазмы крови.

2.5. Статистическая обработка полученных результатов

Сбор и формирование таблиц проводили с помощью программ Microsoft Office Excel 365, статистическую обработку полученных данных с помощью программ StatSoft Statistica 10.0, Jamovi 2.3. Для оценки соответствия количественных показателей нормальности распределения в группах размером $n > 50$ применяли критерий Колмогорова-Смирнова, в группах с размером $n < 50$ – критерий Шапиро-Уилка. Распределение полученных результатов было отличным от нормального, поэтому показатели характеризовали с помощью медианы (Me), первого и третьего квартилей (Q1 и Q3). Оценку значимости различий для 2-х групп проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни, для множественных сравнений использовали критерий Краскела-Уоллиса, с последующим пост-хок анализом с помощью критерия Двасс-Стил-Кричлоу-Флигнера. Для определения различий в зависимых группах использовали критерий Вилкоксона. Направление и сила корреляционных взаимосвязей между двумя количественными показателями определялась с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена, между двумя качественными показателями – с помощью коэффициента Кейдалла. Прогностическая модель, определяющая зависимость количественной переменной от факторов, осуществлялась с помощью метода линейной регрессии и анализа ROC-кривых, метода логистической регрессии и коэффициента R^2 Макфаддена. Расчёт минимально необходимого числа наблюдений проводился методом априорного анализа с использованием программы G*Power 3.1. для критерия Манна-Уитни при уровне значимости $\alpha = 0,05$ и мощности критерия $1 - \beta = 0,80$. Статистически значимыми считали отличия исследуемых показателей при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В литературном обзоре обсуждалось, что системное воспаление рассматривается как ключевое звено патогенеза тяжёлых форм COVID-19 пневмонии. Инфицирование SARS-CoV-2 приводит к поражению лёгочной ткани, сопровождающееся высвобождением избыточного количества провоспалительных медиаторов, что инициирует каскад системных воспалительных реакций. Прогрессирование системного воспаления в тканях и эндотелии сосудов лёгких усугубляет альвеолярное повреждение, нарушает газообмен, потенцирует развитие и прогрессирование гипоксии.

3.1. Анализ показателей системного воспаления и органной дисфункции в условиях системной гипоксии у пациентов с COVID-19 пневмонией

Известно, что при стационарном наблюдении пациентов с COVID-19 пневмонией для оценки выраженности воспалительных реакций в рутинной практике в биохимических анализах оцениваются показатели С-реактивного белка (СРБ), сывороточного ферритина и фибриногена.

Проведённый анализ биохимических показателей крови не выявил статистически значимых различий между группами пациентов, стратифицированных по степени поражения лёгких, определяемой по данным компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ-1, КТ-2, КТ-3/4). В частности, не было обнаружено значимых различий в уровнях СРБ (критерий Краскела-Уоллиса = 3,47; $p=0,176$), сывороточного ферритина (критерий Краскела-Уоллиса = 1,08; $p=0,582$ – женщины; критерий Краскела-Уоллиса = 3,16; $p=0,206$ – мужчины) и фибриногена (критерий Краскела-Уоллиса = 3,25; $p=0,197$). Тем не менее во всех группах отмечалось превышение референсных значений по всем исследуемым показателям, а также наблюдались тенденции к увеличению

медианных значений СРБ и фибриногена по мере возрастания объёма поражения лёгочной ткани. Уровень сывороточного ферритина также демонстрировал существенное превышение референсных значений вне зависимости от половой принадлежности (Таблица 6).

Таблица 6 – Показатели активности воспаления в сыворотки крови больных с COVID-19 пневмонией, разделённых в соответствии со степенью поражения лёгких (Me [Q1;Q3])

Показатели	Референсные значения	КТ-1	КТ-2	КТ-3/4
СРБ, мг/л	До 5	53,9 [18;106]	57,4 [35;100]	90 [35,6;143]
Сывороточный ферритин, мкг/л	Ж – 10-120	214 [166;328]	230 [183;335]	243 [210;360]
	М – 20-250	280 [236;377]	239 [235;273]	337 [239;500]
Фибриноген, г/л	2-4	5,8 [5;6,27]	6,12 [5,38;6,73]	6,4 [5,95;7,35]
Примечание – Ж – женщины, М – мужчины, СРБ – С-реактивный белок				

Несмотря на широкое использование КТ-классификации объёма поражения лёгких для стратификации пациентов с COVID-19 пневмонией, данные нашего исследования демонстрируют отсутствие статистически значимых различий по ключевым биохимическим маркерам системного воспаления (СРБ, ферритин, фибриноген) между группами КТ-1, КТ-2 и КТ-3/4 ($p > 0,05$). При этом у значимой доли пациентов с минимальными изменениями на КТ (КТ-1) уровни маркеров превышали клинически значимые пороги (например, СРБ > 100 мг/л в 25% случаев КТ-1), ассоциированные с риском «цитокинового шторма» и тромбозов, тогда как в группе с обширным поражением (КТ-3/4) медианные показатели воспаления не всегда достигали критических значений. Это подтверждает несоответствие радиологической картины и клинического течения COVID-19 пневмонии, обнаруженное ранее другими авторами [19]. Учитывая, что исход COVID-19 пневмонии определяется не только лёгочным поражением, но и внелёгочными осложнениями (гиперкоагуляция, гемофагоцитоз, гипоксемия), опираться исключительно на КТ-классификацию недостаточно [245]. Оценка тяжести должна включать интегральные клинико-лабораторные критерии (уровень сатурация крови, маркеры воспаления, органной дисфункции), что может обеспечить более точную стратификацию риска и в соответствии с принципами

персонализированной медицины. С учётом вышесказанного, мы отказались от градации по КТ-группам в пользу классификации по степени тяжести состояния (средняя/тяжёлая/крайне тяжёлая) в соответствии с критериями временных методических рекомендаций по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции [26–28].

При проведении сравнительного анализа динамики биохимических параметров у пациентов с COVID-19 пневмонией различной степени тяжести были выявлены существенные межгрупповые различия как на момент госпитализации, так и в процессе терапии.

При поступлении в стационар отмечалось многократное увеличение выше референсных значений уровня СРБ во всех наблюдаемых группах (в 9,66, 11 и 20,2 раза, соответственно, для 1, 2 и 3 групп; $p < 0,001$ для всех сравнений). Кроме того, наблюдались статистически значимо более высокие уровни СРБ у пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии относительно пациентов со среднетяжёлой формой заболевания (Таблица 7). Прогрессивное возрастание уровня СРБ с увеличением тяжести состояния при COVID-19 пневмонии позволяет использовать данный показатель в качестве ключевого маркера системного воспаления, ассоциированного с риском «цитокинового шторма».

Таблица 7 – Показатели активности воспаления в сыворотке крови больных, классифицированных по степени тяжести COVID-19 пневмонии на первые и седьмые сутки госпитализации (Me [Q1;Q3])

Показатель и	Референсные значения	Группы, №					
		Среднетяжёлое течение (1)		Тяжёлое течение (2)		Крайне тяжёлое течение (3)	
		I сутки	VII сутки	I сутки	VII сутки	I сутки	VII сутки
СРБ, мг/л	До 5	48,3 [21,1;84,5]	4 [0;10]	55 [32,6;117]	4,3 [2;7,78] **	101 [65,6;167] *	73,9 [37;92] *
Сывороточный ферритин, мкг/л	Ж – 10-120	225 [193;331]	166 [153;192]	190 [140;333]	151 [112;191]	262 [215;447]	478 [316;704]
	М – 20-250	237 [235;272]	177 [158;219]	280 [245;364]	230 [157;270]	240 [230;386]	477 [411;532]
Фибриноген, г/л	2-4	6 [5,11;6,59]	3,71 [3,13;4,34]	6,27 [5,83;7,06]	4,42 [3,15;5]	6,41 [6,06;8]	5,15 [3,66;5,81] *

Примечание – * – $p_{1-3} < 0,05$; ** – $p_{2-3} < 0,05$, Ж – женщины, М – мужчины, СРБ – С-реактивный белок

Подобный характер сдвигов сохранялся для показателей фибриногена, уровень которого во всех группах соответствовал гиперкоагуляционному статусу, достигая максимума в третьей группе, хотя межгрупповые различия не достигли статистической значимости ($p > 0,17$) (Таблица 7).

Во всех наблюдаемых группах существенно был повышен уровень сывороточного ферритина относительно референсных значений, что может быть объяснено гиперферритинемией, вследствие воспаления, гемолиза и гипоксии [215]. Однако при этом значимых различий в показателях ферритина при поступлении вне зависимости от пола установлено не было.

К седьмым суткам терапии выявлены качественные различия в динамике лабораторных параметров. В группах среднетяжёлого и тяжёлого течения зафиксировано выраженное снижение СРБ на 92% в обеих группах ($p < 0,001$), что свидетельствовало о снижении острофазового ответа и эффективности проведённой терапии (Таблица 7) [214]. В отличие от этого, у пациентов крайне тяжёлой группы сохранялись лабораторные признаки персистирующего системного воспаления – уровень СРБ оставался статистически значимо выше, чем в первой группе, что указывает на процессы неконтролируемого воспаления и истощение компенсаторных возможностей организма.

Показатели фибриногена характеризовались прогрессивным снижением во всех группах ($p < 0,001$ в группах 1 и 2; $p = 0,011$ в группе 3), что отражает эффект антикоагулянтной терапии (Таблица 7). Однако в группе крайне тяжёлых пациентов сохранялись субоптимальные значения, указывающие на незавершённость процессов репарации эндотелия и неполную эффективность лечения.

В динамике сывороточного ферритина к 7-м суткам у мужчин тяжёлой группы зафиксировано нормализация и значимое снижение ($p = 0,036$), в то же время у женщин данный показатель оставался выше референсных значений (Таблица 7).

Полученные результаты активности системного воспаления у пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии отражают формирование порочного круга: системное воспаление приводит к поражению сосудистой стенки с развитием микротромбозов, что, в свою очередь, обуславливает гипоперфузию и

развитие тканевой гипоксии, усиливающей выработку провоспалительных цитокинов, усугубляющих воспаление и органную дисфункцию.

Наряду с оценкой системного воспаления, не менее значимым аспектом лабораторной диагностики при прогрессировании COVID-19 пневмонии является ранняя идентификация органной дисфункции. Объективизация степени повреждения печени, почек и эндотелия с использованием биохимических маркеров позволяет не только комплексно оценить тяжесть состояния, но и играет ключевую роль в стратификации риска и выборе персонализированных терапевтических стратегий.

Анализ динамики биохимических показателей выявил закономерные изменения, отражающие развитие полиорганной дисфункции при прогрессировании COVID-19 пневмонии.

Во всех группах наблюдалось статистически значимое снижение уровня общего белка к 7-м суткам госпитализации, достигающее максимальной выраженности в группе крайне тяжёлого течения ($p < 0,001$ в группах 1 и 3; $p = 0,033$ в группе 2) (Таблица 8). Гипопротеинемия, вероятно, обусловлена сочетанием катаболического действия «цитокинового шторма», нутритивного дефицита и нарушения синтетической функции печени, формируя порочный круг за счёт снижения онкотического давления и тканевой гипоксии [214].

Гипергликемия сохраняла патологические значения на протяжении всего исследования, демонстрируя наиболее устойчивый характер в группе критических пациентов. В ходе исследования выявлены статистически значимые различия в уровне глюкозы крови между пациентами со средней и крайне тяжёлой степенью тяжести COVID-19 пневмонии как при поступлении, так и на седьмые сутки лечения ($p = 0,02$ и $p = 0,002$, соответственно) (Таблица 8). Наблюдаемая гипергликемия обусловлена инсулинорезистентностью, развивающейся на фоне как системой глюкокортикостероидной терапии, так и в результате «цитокинового шторма» – ключевого патогенетического механизма тяжёлых форм COVID-19 [83].

Таблица 8 – Биохимические показатели сыворотки крови больных, классифицированных по степени тяжести COVID-19 пневмонии на первые и седьмые сутки госпитализации (Me [Q1;Q3])

Показатели	Референсные значения	Группы, №					
		Среднетяжёлое течение (1)		Тяжёлое течение (2)		Крайне тяжёлое течение (3)	
		I сутки	VII сутки	I сутки	VII сутки	I сутки	VII сутки
Общ. белок, г/л	64-84	69,2 [66,5;71,5]	62,1 [58,3;65,9]	69 [65,6;71,3]	64,1 [58,5;68,4]	68,8 [63,2;73]	58,6 [54,9;62,9]
Глюкоза, ммоль/л	3,3-5,5	6,82 [6;8,16]	5,79 [4,92;8,06]	8,5 [6,24;14]	6,63 [5,54;16,3]	9,33 [7,5;13,2] *	9,81 [7,7;13,8] *
АЛТ, ед/л	Ж – до 31	33,5 [22,8;45]	36 [31,4;52,5]	34,5 [25,5;57,9]	32,4 [28,2;46]	34,3 [20,1;53,4]	32,6 [18,8;53,5]
	М – до 45	60,1 [25,4;96,8]	56,8 [41,2;250]	30,4 [20,9;97]	44,5 [35,4;69,2]	32,7 [24,8;92,9]	61,2 [47;66,7]
АСТ, ед/л	Ж – до 31	36,3 [29,8;53,2]	24,9 [15,6;29,9]	47,7 [29,8;53,2]	22,2 [15,1;36]	44,8 [33,1;56,1]	35 [20,8;50,8]
	М – до 45	70,3 [37,8;89,8]	45,8 [20,4;64,8]	46 [33,2;92,7]	24,1 [20,2;34,6]	45,9 [40,4;85,9]	49,8 [33,3;61,6]
Мочевина, ммоль/л	2,5-8,3	6,9 [5,23;8,3] **	8,25 [6,25;9,07]	8,5 [6,83;10,6]	8,9 [6,64;12,2]	9,01 [7,42;14,5] *	10,6 [9,3;25,7] *
Креатинин, ммоль/л	Ж – 53-97	89,5 [74;94]	87 [74,5;95]	94 [79;107]	66 [62;78]	99 [82;134]	90 [71,5;218]
	М – 62-115	92 [81;102] **	88 [73;96]	120 [106;133]	111 [80,5;145]	114 [99;120]	86 [74,7;116]
Общий билирубин, мкмоль/л	5-20	10,4 [9,02;13,5]	10,9 [9,35;13,9]	10,7 [9,45;13,1]	11,4 [9,04;15,6]	10,7 [7,79;13,8]	11,9 [8,9;13,6]
Прямой билирубин, мкмоль/л	0-5,1	3,5 [2,62;5,1]	3,65 [3,23;4,72]	3,6 [2,81;4,5]	3,6 [3,04;4,95]	4 [2,59;5,45]	4,2 [2,6;6]

Примечание – * – $p_{1-3} < 0,05$; ** – $p_{1-2} < 0,05$, Ж – женщины, М – мужчины, АЛТ – аланинаминотрансфераза, АСТ – аспартатаминотрансфераза

В наблюдаемых группах в зависимости от пола различия в динамике печёночных трансаминаз не были выявлены. Обращает на себя внимание статистически значимое снижение АСТ как у женщин, так и у мужчин в группе со среднетяжёлым течением ($p=0,004$ и $p=0,002$ соответственно), а также у мужчин в группе с тяжёлым течением ($p=0,019$). Статистически значимое снижение уровня АЛТ зафиксировано лишь у мужчин со среднетяжёлым течением ($p=0,03$) (Таблица 8). В целом, положительная динамика трансаминаз в группах со среднетяжёлым и тяжёлым течением свидетельствует об эффективности проводимой терапии, в то время как в группе с крайне тяжёлым течением отмечалась тенденция к росту АЛТ,

что может указывать на сохраняющееся цитолитическое повреждение гепатоцитов, возможно, обусловленное прямым вирусным воздействием через АПФ-2-рецепторы [85].

При поступлении в стационар у пациентов наблюдались статистически значимые различия в концентрации мочевины в сыворотке крови при сравнении группы со среднетяжёлым течением с группами с тяжёлым и крайне тяжёлым течением ($p=0,023$ и $p=0,005$ соответственно). К седьмым суткам эти различия сохранялись только между группами со среднетяжёлым и крайне тяжёлым течением ($p=0,002$) (Таблица 8). Концентрация креатинина у мужчин значительно возрастала при переходе от среднетяжёлой к тяжёлой степени течения COVID-19 пневмонии ($p=0,028$), превышая при этом физиологические референсные значения. В целом, динамика показателей азотистого обмена характеризовалась статистически значимым приростом мочевины в группе с крайне тяжёлым течением ($p=0,03$), в то время как изменения концентрации креатинина не достигли уровня статистической значимости (Таблица 8). Прогрессивное увеличение уровня мочевины по мере нарастания тяжести состояния отражает развитие метаболических нарушений и ренальной дисфункции, обусловленной гипоперфузией почек вследствие системной эндотелиопатии, гиповолемии, а также, возможно, прямым цитопатическим действием SARS-CoV-2 на тубулярный эпителий путём связывания с АПФ-2-рецепторами [82]. Таким образом, концентрация мочевины является высокочувствительным маркером нарушения почечной функции на фоне цитокининдуцированного повреждения почечной паренхимы.

Отсутствие значимых сдвигов в уровнях общего и прямого билирубина во всех группах исключает тяжёлое холестатическое поражение печени как компонент органной дисфункции при COVID-19.

Пневмония, ассоциированная с COVID-19, часто осложняется гемокоагуляционными и иммунными нарушениями, отражающимися в изменениях общего анализа крови. Анализ лейкоцитарной формулы, тромбоцитарных показателей и гематокрита позволяет идентифицировать маркеры тяжёлого течения

и прогнозировать риск развития осложнений, что обуславливает необходимость своевременной коррекции терапии для улучшения исходов заболевания.

Оценка гематологических параметров выявила выраженные изменения, коррелирующие с тяжестью течения COVID-19 пневмонии. На первые сутки госпитализации между группами не выявлено значимых различий по уровню лейкоцитов ($p > 0,05$), что согласуется с ранней фазой воспалительного ответа (Таблица 9). Однако к 7-м суткам во всех группах наблюдался лейкоцитоз, а группа крайне тяжёлого течения достоверно отличалась от группы среднетяжёлого течения по выраженности лейкоцитоза, преимущественно за счёт нейтрофилии. В группе крайне тяжёлого течения выявлена глубокая персистирующая лимфопения, тогда как в группах 1–2 динамика лимфоцитов имела разнонаправленный характер. Это отражает фундаментальное различие в иммунном ответе: при среднетяжёлой форме отмечалась тенденция к восстановлению лимфоидного ростка ($+35\%$, $p < 0,001$), а при критических состояниях – прогрессирующая иммунная дисфункция. Также в каждой группе наблюдалась эозинопения, являющаяся маркером вирус-ассоциированного иммунного дисбаланса [221]. Изменение содержания моноцитов указывало на истощение костномозгового резерва при критических состояниях: снижение в группе 3 (-32% , $p = 0,723$) на фоне значимого прироста в группе 1 ($+60\%$, $p = 0,002$) (Таблица 9).

Индекс отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR) – ключевой интегральный маркер – продемонстрировал критический рост исключительно в группе 3 ($p = 0,001$), достоверно превышая значения групп 1-2 на 7-е сутки ($p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,025$). Эта динамика соответствует данным о $NLR > 25,58$ как предикторе летальности при COVID-19 [162].

Уровень тромбоцитов на первые сутки демонстрировал обратную зависимость с тяжестью состояния: минимальные значения зафиксированы в группе 3, что на 23% ниже группы 1 ($p = 0,033$) (Таблица 9). К седьмым суткам в группах 1 и 2 отмечался реактивный тромбоцитоз ($+30\%$ и $+45\%$ соответственно), тогда как в группе 3 сохранялась тромбоцитопения, формируя значимые различия с группами 1 и 2 ($p < 0,001$ в обоих сравнениях) что соответствует модели

коагулопатии потребления при терминальных состояниях [16].

Таблица 9 – Показатели общего анализа крови больных, классифицированных по степени тяжести COVID-19 пневмонии на 1 и 7 сутки лечения (Ме [Q1;Q3])

Показатели	Референсные значения	Группы, №					
		Среднетяжёлое течение (1)		Тяжёлое течение (2)		Крайне тяжёлое течение (3)	
		I сутки	VII сутки	I сутки	VII сутки	I сутки	VII сутки
WBC, тыс/мкл	4-9	6,58 [4,65;8,6]	9,41 [6,8;11,8]	7,55 [5,77;11,6]	9,6 [8,1;11,8]	6,5 [4,45;8,67]	11,5 [10,2;15,5] *
NE, тыс/мкл	2-7	5,43 [3,58;6,95]	7,48 [5,57;9,28]	6,52 [4,55;8,43]	8,16 [6,67;10,2]	4,89 [3,24;7,09]	10,6 [8,55;14,4] *
LY, тыс/мкл	1-3	0,815 [0,552;1,02]	1,1 [0,78;1,41] **	0,795 [0,538;1,32]	0,76 [0,42;0,89] ***	0,615 [0,497;0,82]	0,455 [0,265;0,63] *
MO, тыс/мкл	0,1-0,6	0,435 [0,26;0,67]	0,695 [0,47;0,96] **	0,465 [0,33;0,75]	0,47 [0,29;0,7]	0,385 [0,25;0,54]	0,26 [0,16;0,74] *
EO, тыс/мкл	0,02-0,3	0 [0;0,01]	0 [0;0,01]	0 [0;0,01]	0 [0;0,02]	0 [0;0,01]	0,01 [0;0,03]
BA, тыс/мкл	0-0,065	0,01 [0,002;0,03]	0,02 [0,02;0,05]	0,02 [0,01;0,03]	0,02 [0,01;0,03]	0,015 [0;0,02]	0,02 [0,01;0,06]
NLR	1-3	7,09 [4,27;10,8]	7,52 [5,35;9,39] **	8,38 [5,77;13]	10,5 [6,99;18,4] ***	8,04 [5,29;13,9]	23,2 [12;59,7] *
RBC, млн/мкл	Ж – 3,7-4,7	4,58 [4,19;4,86]	4,29 [3,98;4,65]	4,7 [4,42;5,22]	4,73 [4,63;4,78]	4,49 [4,2;4,73]	4,56 [3,99;4,78]
	М – 4-5	4,74 [4,57;5,21]	4,98 [4,71;5,06]	4,66 [4,24;5,12]	5,11 [4,61;5,47]	5,06 [4,9;5,34]	4,96 [4,51;5,13]
HGB, г/л	Ж – 120-150	127 [117;137]	123 [117;135]	131 [121;138]	128 [117;137]	128 [115;133]	124 [108;134]
	М – 130-170	141 [129;149]	143 [133;149]	136 [112;141]	139 [116;145]	150 [136;159]	139 [124;153]
HCT, %	Ж – 36-48	39 [37;41]	38 [36,3;39,8]	40 [38;41]	39 [36;42]	39 [36;39]	38 [33,8;41,5]
	М – 40-52	43 [40;44,8]	43 [40;44,8]	37 [34,5;43] ***	37 [34,5;43]	44,5 [41,5;48,7]	44,5 [41,5;48,7]
PLT, тыс/мкл	180-320	222 [162;295]	289 [203;355]	191 [152;249]	277 [200;325] ***	172 [145;208] *	147 [127;219] *
PLR	61-239	304 [201;397]	265 [201;337] **	283 [117;383]	392 [264;463]	266 [193;353]	335 [213;592]

Примечание – * – $p_{1-3} < 0,05$; ** – $p_{1-2} < 0,05$; *** – $p_{2-3} < 0,05$, Ж – женщины, М – мужчины, WBC – лейкоциты, NE – нейтрофилы, LY – лимфоциты, MO – моноциты, EO – эозинофилы, BA – базофилы, NLR – индекс отношения нейтрофилов к лимфоцитам, RBC – эритроциты, HGB – гемоглобин, HCT – гематокрит, PLT – тромбоциты, PLR – индекс отношения тромбоцитов к лимфоцитам

Наблюдаемые к седьмым суткам лечения высокий уровень СРБ, рост NLR>

25,58 и тромбоцитопения являются неблагоприятными прогностическими признаками крайне тяжёлого течения COVID-19 пневмонии.

На 7-е сутки лечения индекс PLR в группе тяжёлого течения превышал аналогичный показатель в группе среднетяжёлого течения ($p=0,031$), что, вероятно, обусловлено сочетанным влиянием лимфопении и относительной сохранности тромбоцитарного ростка. Кроме того, в группе тяжёлого течения отмечалось статистически значимое увеличение самого индекса PLR к 7-му дню ($p=0,041$).

У мужчин с крайне тяжёлым течением зарегистрирован относительный эритроцитоз, который может быть компенсаторной реакцией на хроническую гипоксию [31]. Кроме того, у пациентов мужского пола во второй группе зафиксировано достоверно низкий уровень гематокрита относительно группы крайне тяжёлых пациентов ($p=0,047$). В группе 3 у женщин наблюдалось значимое снижение общего количества эритроцитов к 7-м суткам ($p=0,046$), что, вероятно, связано с гемодилюцией на фоне интенсивной инфузионной терапии (Таблица 9).

Проведённый анализ динамики лабораторных параметров при COVID-19 пневмонии выявил взаимосвязанные паттерны, отражающие тяжесть системного воспаления, степень органной дисфункции и нарушения гемостаза. Полученные данные создают предпосылки мультипараметрического подхода к лабораторному мониторингу, где динамическая оценка воспалительных, метаболических и гематологических параметров служит основой для персонализации терапии при COVID-19 пневмонии.

Данные исследования также подчёркивают, что классификация по степени тяжести состояния, основанная на интегральной оценке клинико-лабораторных параметров, является более информативной для прогнозирования исхода и выбора тактики лечения, чем классификация, опирающаяся исключительно на объём поражения лёгочной ткани по данным КТ.

3.2. Анализ взаимосвязи биохимических показателей системного воспаления, коагулопатии и органной дисфункции с клинико-инструментальными показателями дыхательной недостаточности

Пандемия COVID-19 актуализировала необходимость разработки предиктивных моделей, интегрирующих клинические, лабораторные и инструментальные данные для оптимизации терапии критических состояний. Результаты анализа системного воспаления, включая гиперферритинемию, индекс $NLR > 25,58$ и прогрессирующую гипопротеинемию, демонстрируют ключевую роль тканевой гипоксии в патогенезе COVID-19 пневмонии. Однако патогенетическая связь между этими процессами и клиническими проявлениями дыхательной недостаточности, а также эффективностью респираторных стратегий остаются недостаточно изученными. В контексте этого, одной из ведущих задач исследования становится анализ выраженности респираторных нарушений и динамики оксигенации в зависимости от исходной тяжести заболевания.

Результаты сравнительного анализа клинических показателей гипоксии выявили значимые различия между группами пациентов с ОРВИ, COVID-19 пневмонией и здоровыми добровольцами (Таблица 10).

Таблица 10 – Показатели клинического обследования наблюдаемых групп (Ме [Q1;Q3])

Показатели	COVID-19 пневмония (1 группа)	ОРВИ (2 группа)	Здоровые добровольцы (3 группа)
SpO ₂ без кислородной поддержки, %	90 [86;92] **	96 [93;97] ***	99 [98;99] *
ЧДД, д/мин	20 [20;22] **	20 [19;20]	12 [11;12] *
ЧСС, уд/мин	81 [72;88] **	82 [77;88]	72 [69;74] *
Примечание – * – $p_{1-3} < 0,05$; ** – $p_{2-3} < 0,05$; *** – $p_{1-2} < 0,05$, SpO ₂ – сатурация крови, ЧДД – частота дыхательных движений, ЧСС – частота сердечных сокращений			

Показатели сатурации крови (SpO₂) без кислородной поддержки было статистически значимо ниже у пациентов с COVID-19 пневмонией по сравнению как с группой ОРВИ ($p < 0,001$), так и с контрольной группой ($p < 0,001$) (Таблица

10). При этом у пациентов с ОРВИ значение SpO_2 также значительно отличалось от показателей здоровых добровольцев ($p < 0,001$). Значительное снижение SpO_2 в группе COVID-19 пневмонии на 6 процентных пунктов относительно ОРВИ и на 9 пунктов относительно контроля отражает выраженную гипоксемию, характерную для вирусного поражения лёгочной паренхимы при SARS-CoV-2, что согласуется с результатами других исследований [191]. Частота дыхания в группе COVID-19 пневмонии и ОРВИ статистически не отличалась между собой ($p = 0,374$), но была существенно выше, чем у здоровых добровольцев ($p < 0,001$ для обоих сравнений). Умеренное увеличение ЧДД на фоне существенной гипоксемии у пациентов с COVID-19 может свидетельствовать о компенсаторной гипервентиляции в условиях нарушения диффузионной способности лёгких [191]. ЧСС была выше в группах пациентов с COVID-19 ($p = 0,012$) и ОРВИ ($p = 0,005$) относительно контроля. При этом межгрупповых различий между COVID-19 и ОРВИ не выявлено ($p = 0,765$), что указывает на универсальность тахикардического ответа при респираторных инфекциях [20].

Полученные данные демонстрируют, что COVID-19 пневмония ассоциирована со статистически значимо более выраженной гипоксемией по сравнению с ОРВИ, при сопоставимой тахикардии и частоте дыхания. Комбинация сниженного SpO_2 с сохранёнными показателями ЧДД может отражать феномен «тихой гипоксии», характерный для COVID-19 [216]. Выявленные изменения подчёркивают необходимость мониторинга оксигенации даже у пациентов без явных признаков респираторного дистресса.

Нами были проанализированы показатели респираторной системы и также объём и эффективность респираторной терапии у пациентов с COVID-19 пневмонией различной степени тяжести (Таблица 11).

У пациентов со среднетяжёлым течением к 7-м суткам зафиксировано статистически значимое снижение потребности в кислородной поддержке: уровень FiO_2 уменьшился на 47,5% ($p < 0,001$), а скорость потока кислорода достигла нулевых значений у большинства пациентов. Это сопровождалось улучшением оксигенации (SpO_2 , $p = 0,043$) и ростом индекса ROX на 90% ($p < 0,001$), что

свидетельствует о восстановлении баланса между оксигенацией и дыхательными усилиями. Важно подчеркнуть, что индекс ROX объединяет SpO_2 , FiO_2 и ЧДД, что делает его комплексным показателем. В группе тяжёлого течения к 7-му дню сохранялась высокая зависимость от респираторной поддержки: уровень FiO_2 и скорость потока кислорода остались стабильно высокими, а индекс ROX не продемонстрировал значимой динамики ($p=0,855$), что отражает ограниченную эффективность терапии. У пациентов с крайне тяжёлым течением к 7-м суткам отмечено нарастание гипоксии (снижение индекса ROX; $p<0,001$) на фоне увеличения FiO_2 до 70% ($p<0,001$) и скорости потока кислорода до 20 л/мин ($p<0,001$), что соответствует критериям перевода на ИВЛ.

Таблица 11 – Показатели клинико-инструментального обследования и объём респираторной терапии у пациентов с COVID-19 пневмонией различной степени тяжести

Показатели	Группы, №					
	Ср (1)		Т (2)		КрТ (3)	
	I сутки	VII сутки	I сутки	VII сутки	I сутки	VII сутки
Степень поражения лёгких, %	30 [20;35] ***	15 [0;30] ***	40 [30;57,5]	35 [25;55]	50 [32,5;60] *	45 [35;60] *
SpO_2 , %	96 [94;97] ***	97 [96;98] ***	94 [93;95]	94 [92;97]	92 [88;95] *	90 [87;93] *
FiO_2 , %	40 [38;40]	21 [21;39] ***	40 [40;54]	46 [40;60] **	52 [40;60] *	70 [60;85] *
Скорость потока O_2 , л/мин	5 [4;5]	0 [0;3,75] ***	5 [5;10]	6 [5;12,5] **	8 [5;12,5] *	20 [15;20] *
ЧДД, д/мин	20 [18;20] ***	18 [18;19] ***	20 [20;22]	20 [18;22]	22 [20;23] *	22 [19;22] *
ROX	12,4 [11;13,6]	23,6 [13,7;25,6] ***	11,5 [8,21;13,2] **	11,1 [7,29;13] **	8,33 [6,48;10,9] *	6,08 [5,58;6,82] *

Примечание – * – $p_{1-3} < 0,05$; ** – $p_{2-3} < 0,05$; *** – $p_{1-2} < 0,05$, FiO_2 – фракция кислорода во вдыхаемом воздухе, ROX – индекс частоты дыхания-оксигенации ($SpO_2/FiO_2/ЧДД$), SpO_2 – сатурация крови, Ср – среднетяжёлое течение COVID-19 пневмонии, Т – тяжёлое течение COVID-19 пневмонии, КрТ – крайне тяжёлое течение COVID-19 пневмонии, ЧДД – частота дыхательных движений, ЧСС – частота сердечных сокращений

Степень поражения лёгких при поступлении у пациентов 3-ей группы была статистически значимо выше, чем у первой группы ($p<0,001$) и сохраняла значимую разницу к 7-м суткам ($p<0,001$), что подчёркивает роль исходного объёма

повреждения в прогнозе респираторной недостаточности [69]. Индекс ROX при поступлении продемонстрировал чёткую стратификацию групп: у пациентов с крайне тяжёлым течением его значения были на 33% ниже, чем в группе 1 ($p<0,001$). На 7-е сутки различия стали ещё более выраженными ($p<0,001$), что подтверждает его роль как ключевого предиктора неблагоприятных исходов.

В Таблице 12 представлены результаты корреляционного анализа биохимических показателей, характеризующих ранние патогенетические механизмы COVID-19 пневмонии.

Таблица 12 – Анализ корреляционных взаимосвязей клинико-инструментальных методов обследования и биохимических показателей у пациентов с COVID-19 пневмонией на момент поступления (Me [Q1;Q3])

	ROX	SpO ₂	КТ	СРБ	Ферритин	NLR	LY	PLT	Мочевина	Общ. белок
ROX		0,452 ***	-0,407 ***	-0,182 *	-0,05	-0,114	0,235 *	0,172	-0,294 **	0,07
SpO ₂	0,452 ***		-0,448 ***	-0,335 **	-0,109	-0,041	0,004	-0,009	-0,24 *	0,262 *
КТ	-0,407 ***	-0,448 ***		0,2 *	0,209 *	0,23*	-0,114	0,043	0,145	-0,054
СРБ	-0,182 *	-0,335 **	0,2 *		0,239 *	-0,02	-0,01	-0,168	-0,039	-0,165
Ферритин	-0,05	-0,109	0,209*	0,239 *		0,072	-0,16	-0,271 *	-0,092	-0,054
NLR	-0,114	-0,041	0,23*	-0,02	0,072		-0,613 ***	0,09	0,256 *	0,015
LY	0,235*	0,004	-0,114	-0,01	-0,16	-0,613 ***		0,278 *	-0,199 *	-0,054
PLT	0,172	-0,009	0,043	-0,168	-0,271 *	0,09	0,278 *		0,038	-0,095
Мочевина	-0,294 **	-0,24 *	0,145	-0,039	-0,092	0,256 *	-0,199 *	0,038		0,027
Общ. белок	0,07	0,262 *	-0,054	-0,165	-0,054	0,015	-0,054	-0,095	0,027	

Примечание – * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$, КТ – степень поражения лёгких, СРБ – С-реактивный белок, LY – лимфоциты, NLR – индекс отношения нейтрофилов к лимфоцитам, PLT – тромбоциты, ROX – индекс частоты дыхания-оксигенации, SpO₂ – сатурация крови

Ферритин, как острофазный белок, выступает не только маркером запасов железа, но и индикатором системного воспаления [215]. Его значимое повышение коррелировало с уровнем СРБ и процентом поражения лёгких по КТ, что

согласуется с ролью провоспалительных цитокинов (особенно IL-6) в стимуляции его синтеза [215]. Кроме того, выявленная отрицательная взаимосвязь сывороточного ферритина с количеством тромбоцитов сигнализирует о подавлении эритропоэза на фоне гипервоспаления [121] (Таблица 12).

Индекс NLR продемонстрировал сильную обратную корреляцию с уровнем лимфоцитов и положительную связь с объёмом поражения лёгких. Активация нейтрофилов приводит к повышенной продукции протеаз и АФК, что вызывает прямое повреждение альвеолярного эпителия и эндотелия, усугубляя гипоксию [167, 176]. В тоже время провоспалительные цитокины (IL-6, TNF- α) индуцируют апоптоз лимфоцитов, подавляя адаптивный иммунитет и повышая риск вторичных инфекций [33, 170] (Таблица 12).

Уровень мочевины отрицательно коррелировал с индексом ROX и уровнем SpO₂, указывая на раннее гипоксическое повреждение. Показатели общего белка продемонстрировали слабую положительную связь с уровнем SpO₂, что может отражать зависимость гипопроотеинемии от выраженности дыхательных нарушений (Таблица 12).

При исследовании корреляционных взаимосвязей, представленных выше показателей на 7-е сутки лечения наблюдалось усиление интегрированности патологических процессов (Таблица 13).

Индекс ROX продемонстрировал высокую отрицательную корреляцию с уровнями СРБ, сывороточного ферритина и индексом NLR, что подтверждает формирование порочного круга, где гипоксические условия стимулирует выброс провоспалительных цитокинов, усиливая тканевое повреждение [98]. Одновременно наблюдалось прогрессирующее истощение адаптивного иммунитета, о чём свидетельствовало усиление обратной корреляции между индексом NLR и лимфоцитами, а также прямая связь лимфопении с тяжестью дыхательных нарушений (уровень SpO₂) (Таблица 13).

Резкое усиление обратной связи между уровнем тромбоцитов и СРБ (с $r=-0,168$ до $r=-0,426$) к 7 дню может указывать на их потребление в микрососудистых тромбах, что объясняет тромбоцитопению как предиктор неблагоприятного

исхода. Усиление связей уровня тромбоцитов с маркерами воспаления и иммунитета подчёркивает их вовлечённость в тромбовоспалительный каскад, характерный для поздних стадий COVID-19.

Таблица 13 – Анализ корреляционных взаимосвязей клинико-инструментальных методов обследования и биохимических показателей у пациентов с COVID-19 пневмонией на 7-е сутки лечения (Me [Q1;Q3])

	ROX	SpO ₂	КТ	СРБ	Ферритин	NLR	LY	PLT	Мочевина	Общ. белок
ROX		0,688 ***	-0,598 ***	-0,607 ***	-0,514 **	-0,552 ***	0,594 ***	0,449 ***	-0,282 *	0,126
SpO ₂	0,688 ***		-0,5 ***	-0,371 **	-0,435 *	-0,378 ***	0,382 ***	0,217 *	-0,161	0,213 *
КТ	-0,598 ***	-0,5 ***		0,363* *	0,384 *	0,353 **	-0,362 **	-0,164	0,102	-0,237 *
СРБ	-0,607 ***	-0,371 **	0,363 **		0,7 ***	0,3 *	-0,429 ***	-0,426 ***	0,309 *	-0,03
Ферритин	-0,514 **	-0,435 *	0,384 *	0,7 ***		0,264	-0,349 *	-0,318 *	0,17	-0,12
NLR	-0,552 ***	-0,378 ***	0,353 **	0,3 *	0,264		-0,78 ***	-0,346 **	0,29 *	-0,196
LY	0,594 ***	0,382* **	-0,362 **	-0,429 ***	-0,349 *	-0,78 ***		0,538 ***	-0,142	0,194
PLT	0,449 ***	0,217 *	-0,164	-0,426 ***	-0,318	-0,346 **	0,538 ***		-0,189	0,307 **
Мочевина	-0,282 *	-0,161	0,102	0,309*	0,17	0,29 *	-0,142	-0,189		-0,043
Общ. белок	0,126	0,213 *	-0,237 *	-0,03	-0,12	-0,196	0,194	0,307 **	-0,043	

Примечание – * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001, КТ – степень поражения лёгких, СРБ – С-реактивный белок, LY – лимфоциты, NLR – индекс отношения нейтрофилов к лимфоцитам, PLT – тромбоциты, ROX – индекс частоты дыхания-оксигенации, SpO₂ – сатурация крови

На основании полученных взаимосвязей была проведена количественная оценка прогностической ценности выявленных клинико-лабораторных маркеров, используя методы многомерного регрессионного анализа. С целью разработки валидированного инструмента для прогнозирования летального исхода у пациентов с тяжёлыми формами COVID-19 пневмонии был проведён анализ логистической регрессии. В модель были включены наиболее значимые предикторы, идентифицированные на предыдущих этапах исследования: индекс ROX как маркер гипоксической дисфункции, возраст как фактор, отражающий

общее состояние здоровья и иммунный статус, степень поражения лёгких по данным КТ как количественная оценка тяжести поражения органов дыхания, и уровень тромбоцитов как индикатор коагулопатии и тромбовоспалительного процесса.

Результатом данного анализа стала разработка способа прогнозирования рисков летального исхода у пациентов с COVID-19 пневмонией различной степени тяжести, был получен патент (Рисунок 7) [21].

Интеграция данных о гипоксическом статусе (ROX), возрастных особенностях, объёме поражения лёгких и коагуляционном профиле (тромбоциты) позволяет с высокой точностью стратифицировать пациентов по риску неблагоприятного исхода, что является критически важным для своевременного начала интенсивной терапии и оптимизации лечебной тактики. Данный патент подтверждает практическую ценность и инновационность нашего подхода к прогнозированию летальности при COVID-19.

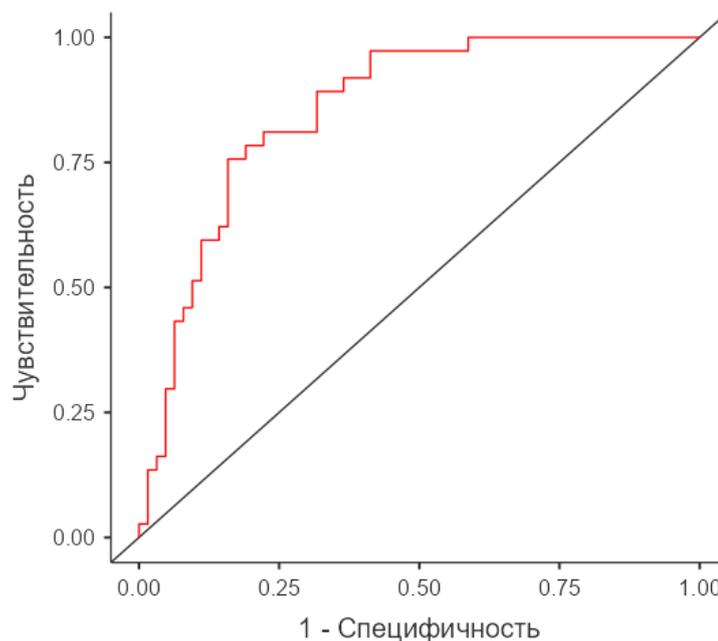


Рисунок 7 – ROC-кривая, характеризующая прогностическую модель способа прогнозирования летального исхода у пациентов с тяжёлыми формами COVID-19 пневмонии при пороге классификации 0,5

Примечание – площадь под кривой (AUC) 0,856. R-квадрат Макфаддена составил 0,318 ($R^2=0,318$), чувствительность модели – 78,4 %, специфичность – 81%, точность – 80%

Полученные данные подтверждают, что индекс ROX является доступным и высокоинформативным маркером для ранней стратификации риска и оптимизации респираторной поддержки. Сохранение его низких значений к 7-м суткам указывает на необходимость смены тактики лечения, включая переход на высокопоточную оксигенацию или ИВЛ. Выраженная связь индекса ROX с летальностью подчёркивает целесообразность его рутинного мониторинга у пациентов с COVID-19 пневмонией.

Таким образом, наше исследование демонстрирует тесную взаимосвязь между нарушениями в биохимических показателях (гиперферритинемия, высокий индекс NLR, гипопротеинемия, изменение уровня тромбоцитов) и степенью дыхательной недостаточности, оцениваемой по индексу ROX. Это подтверждает ключевую роль системного воспаления, коагулопатии и метаболических нарушений в патогенезе гипоксии при COVID-19 пневмонии и обосновывает целесообразность интеграции биохимических и клиничко-инструментальных данных в прогностические модели.

3.3. Анализ содержания и динамики уровней изоформ HIF- α и регулируемых ими факторов в плазме крови у пациентов с COVID-19 пневмонией

Несмотря на установление клиничко-инструментальной взаимосвязи между гипоксией, респираторными нарушениями и прогнозом у пациентов с COVID-19 пневмонией, ключевым вопросом остаётся идентификация молекулярных механизмов, опосредующих адаптацию тканей к кислородному голоданию. Если неинвазивные параметры (уровень SpO₂, индекс ROX, степень поражения лёгких по данным КТ) отражают манифестацию гипоксических состояний, то оценка гипоксия-индуцируемых факторов в плазме крови позволяет приблизиться к сути патогенетических процессов, определяющих фенотип заболевания. Концентрации HIF-1 α , HIF-2 α и их регулируемых факторов (VEGF-A, iNOS, NO) служат индикаторами активации гипоксических каскадов и оксидативного стресса,

которые могут опосредовано приводить к коагулопатии, что имеет не только объяснительную, но и прогностическую ценность.

Проведённая оценка содержания HIF-1 α и опосредованных им факторов в плазме крови у пациентов с респираторными заболеваниями выявила определённые закономерности (Таблица 14).

Таблица 14 – Результаты исследуемых биохимических показателей у пациентов с COVID-19 пневмонией относительно пациентов с ОРВИ и группой контроля (Ме [Q1;Q3])

Показатели	COVID-19 пневмония (1 группа)	ОРВИ (2 группа)	Здоровые добровольцы (3 группа)
HIF-1 α , нг/мл	1,82 [1,6;2,25]	1,81 [1,64;2,11] **	0,565 [0,56;0,582] *
iNOS, нг/мл	2,61 [2,52;3,02] ***	2,38 [2,19;2,58]	2,44 [2,34;2,56] *
NO, мкмоль/мл	66,5 [54,4;78,6]	74,4 [49,5;82] **	42,5 [37,2;43,9] *
VEGF-A, пг/мл	668 [655;688]	659 [651;669]	687 [663;737]
Примечание – * – $p_{1-3} < 0,05$; ** – $p_{2-3} < 0,05$; *** – $p_{1-2} < 0,05$, HIF-1 α – фактор, индуцируемый гипоксией 1 α , iNOS – индуцибельная ситазы оксида азота, NO – метаболиты оксида азота, VEGF-A – фактор роста эндотелия сосудов A [8]			

Уровень HIF-1 α в плазме крови был выше в группах пациентов с COVID-19 пневмонией ($p < 0,001$) и ОРВИ ($p = 0,009$) относительно здоровых добровольцев, но не имел достоверных различий между патологическими группами ($p = 0,977$) (Таблица 14). Это свидетельствует о том, что активность HIF-1 α в плазме крови проявляется как неспецифический ответ на гипоксию при различных респираторных вирусных инфекциях.

В отличие от этого, уровень iNOS значительно различался между группами: он был выше при COVID-19 по сравнению как с ОРВИ ($p = 0,034$), так и с контрольной группой ($p = 0,002$) (Таблица 14). Данные изменения, предположительно, указывают на специфическую активацию оксидативного стресса при SARS-CoV-2 [71, 157, 209]. Концентрация метаболитов NO была значимо выше при COVID-19 ($p < 0,001$) и ОРВИ ($p = 0,006$) по сравнению с контролем, но не имела различий между группами пациентов ($p = 0,819$) (Таблица 14). Повышение уровней iNOS может быть обусловлено ответом на гипоксию в условиях активного воспаления при респираторных заболеваниях, что позволяет провести дифференциальную

диагностику в отличии от уровней метаболитов NO.

Исследование уровня VEGF-A в плазме крови не выявило статистически значимых различий между группами (Таблица 14). Это, предположительно, указывает на сохранность компенсаторного ангиогенеза, опосредованного VEGF-сигнализацией, на момент поступления пациентов в стационар, несмотря на выраженную гипоксию. Однако важно отметить, что значения VEGF-A при COVID-19 имели тенденцию к снижению относительно здоровых лиц, что потенциально может отражать диссоциацию между активацией HIF-1 α и продукцией VEGF-A. Данный феномен, возможно, связан с прямым ингибирующим действием провоспалительных цитокинов (например, IL-1 β , IL-6 и TNF- α) на VEGF-зависимый ангиогенез [119]. Меньший прирост VEGF-A на фоне гипоксии способствует нарушению микроциркуляции и перфузионно-вентиляционного соотношения, усугубляя тканевую ишемию при COVID-19.

Таким образом, важность измерения изучаемых показателей именно в плазме крови обусловлена их высокой клинико-диагностической значимостью для оценки системного гипоксического ответа при COVID-19 пневмонии. Определение HIF-1 α , iNOS и метаболитов NO в плазме предоставляет уникальную возможность неинвазивно и динамически оценивать тяжесть гипоксического состояния, минуя необходимость инвазивных биопсий. Более того, сравнение с группой ОРВИ показывает, что хотя HIF-1 α повышается при респираторных инфекциях в принципе, его комбинация с iNOS позволяет выделить специфические для COVID-19 паттерны. Важно, что iNOS в плазме служит высокоспецифичным маркером оксидативного стресса, ассоциированного именно с SARS-CoV-2 инфекцией. Диагностическая ценность этого показателя подтверждается его способностью дифференцировать COVID-19 от других респираторных инфекций, что недоступно маркерам системного воспаления. Уровень метаболитов NO в плазме отражает адаптивную сосудистую реакцию на гипоксию и может служить ориентиром для коррекции вазоактивной терапии.

Анализ уровня HIF-1 α в плазме крови выявил значимые различия в его динамике и регуляции в зависимости от тяжести течения COVID-19 пневмонии, что

согласуется с концепцией ступенчатой дезадаптации к гипоксии (Рисунок 8) [140]. Наибольшие изменения зафиксированы у пациентов третьей группы, у которых при поступлении обнаружено достоверное снижение уровня HIF-1 α (1,57 [1,48;1,77] нг/мл) по сравнению с первой группой (2,33 [1,97;2,7] нг/мл; $p=0,002$). Предположительно это может быть связано с подавлением HIF-1 α под действием провоспалительных цитокинов, таких как IL-6 и TNF- α , блокирующих его стабилизацию в условиях выраженного оксидативного стресса, что приводит к дисфункции адаптивных механизмов – угнетению гликолиза, синтеза эритропоэтина и ангиогенеза [134]. Несмотря на незначительный прирост HIF-1 α к 7-м суткам в группе 3 (1,94 [1,87;2,15] нг/мл), исходный дефицит указывает на нарушение адаптивного ангиогенеза и энергетического метаболизма. В группе тяжёлого течения уровень HIF-1 α в плазме крови статистически значимо повысился от момента поступления (1,93 [1,71;2,15] нг/мл) к седьмому дню лечения (2,44 [2,13;2,67] нг/мл; $p=0,031$), что, вероятно, отражает попытку компенсаторной активации в ответ на прогрессирующую гипоксию.

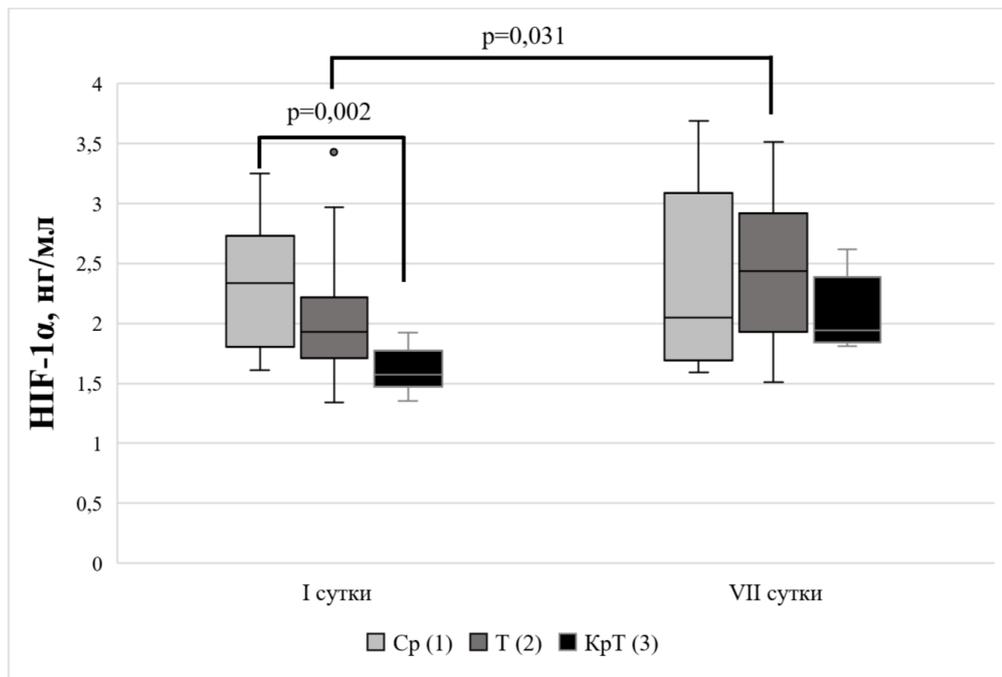


Рисунок 8 – Количество HIF-1 α в плазме крови у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 пневмонии (Me [Q1;Q3])

Примечание – HIF-1 α – фактор, индуцированный гипоксией 1 α , Cr – среднетяжёлое течение COVID-19 пневмонии, T – тяжёлое течение COVID-19 пневмонии, CrT – крайне тяжёлое течение COVID-19 пневмонии [6]

В отличие от HIF-1 α , уровень HIF-2 α в плазме крови не продемонстрировал значимых межгрупповых различий ни при поступлении, ни к седьмым суткам лечения ($p>0,05$), что подчёркивает его вторичную роль в остром гипоксическом ответе (Рисунок 9). При этом в группе среднетяжёлого течения к 7-м суткам зафиксировано умеренное повышение HIF-2 α (1,67 \rightarrow 1,73 нг/мл; $p=0,029$), коррелирующее с индексом ROX ($r=0,461$; $p<0,05$).

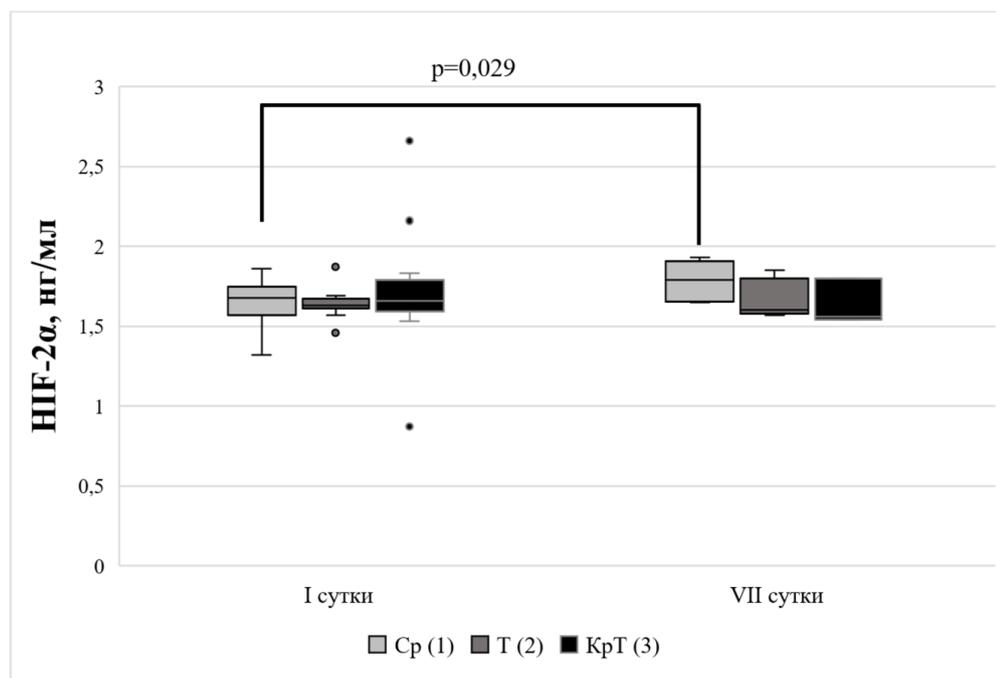


Рисунок 9 – Количество HIF-2 α в плазме крови у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 пневмонии (Me [Q1;Q3])

Примечание – HIF-2 α – фактор, индуцированный гипоксией 2 α , Ср – среднетяжёлое течение COVID-19 пневмонии, Т – тяжёлое течение COVID-19 пневмонии, КрТ – крайне тяжёлое течение COVID-19 пневмонии [6]

Проведённый корреляционный анализ выявил значимые взаимосвязи между уровнями HIF-1 α и HIF-2 α и клиническими параметрами (Таблица 15).

При поступлении HIF-1 α продемонстрировал умеренную отрицательную корреляцию с летальностью и продолжительностью пребывания в ОРИТ. При этом положительная корреляция с индексом ROX, шкалой NEWS-2 и отрицательная со степенью поражения лёгких подтверждают его роль как интегрального маркера, отражающего как тяжесть гипоксии, так и адаптационный потенциал организма (Таблица 15).

Таблица 15 – Анализ корреляционных взаимосвязей уровней HIF-1 α на момент поступления и HIF-2 α на 7-е сутки лечения

	Летальность	Количество койко-дней	Количество койко-дней в ОРИТ	NEWS-2	Поражение лёгких	Индекс ROX
HIF-1 α 1-е сутки	-0,383 **	0,131	-0,451 **	0,325 **	-0,461 **	0,545 ***
HIF-2 α 7-е сутки	-0,408 *	-0,619 **	-0,686 **	-0,144	-0,315	0,461 *

Примечание – * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии, HIF-1 α – фактор, индуцированный гипоксией 1 α , HIF-2 α – фактор, индуцированный гипоксией 2 α , NEWS-2 – шкала тяжести течения COVID-19 пневмонии, ROX – индекс частоты дыхания-оксигенации

В динамике лечения было установлено, что уровень HIF-2 α на 7-е сутки показал выраженную связь с продолжительностью госпитализации, пребыванием в ОРИТ, индексом ROX и исходом заболевания, что указывает на его потенциальную роль в оценке долгосрочных исходов (Таблица 15).

Обнаруженные корреляционные взаимосвязи между уровнем HIF-1 α и ключевыми клинико-инструментальными параметрами, отражающими гипоксию и тяжесть состояния пациентов с COVID-19 пневмонией, послужили основанием для дальнейшей разработки предиктивной модели, где молекулярные механизмы дезадаптации играют критическую роль. В разработанную модель были включены предикторы, идентифицированные на предыдущих этапах исследования: уровень HIF-1 α , как маркер гипоксического ответа, частота сердечных сокращений, отражающая сердечно-сосудистую адаптацию, степень поражения лёгких по КТ, отражающая тяжесть респираторных нарушений, и уровень креатинина, индикатор поражения почек. Результатом проведённого комплексного анализа было получено патентное подтверждение (Рисунок 10) [23], а также написана программа для ЭВМ [36].

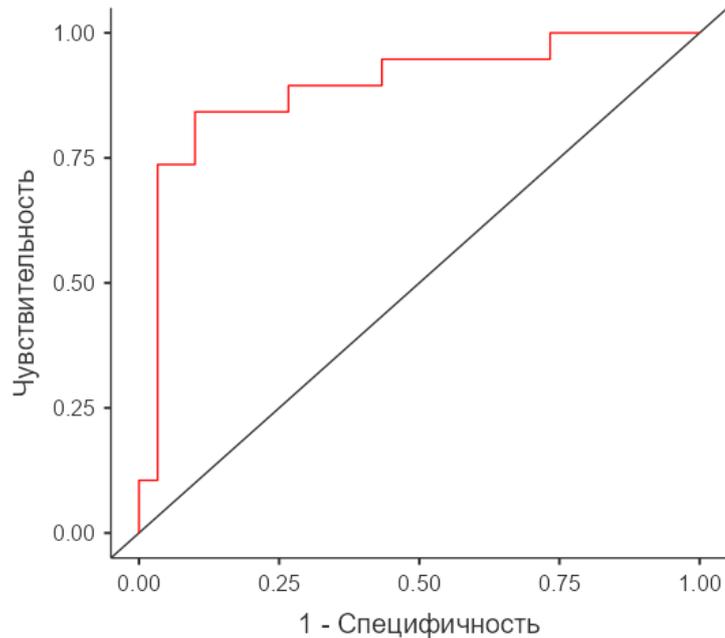


Рисунок 7 – ROC-кривая, характеризующая прогностическую модель способа прогнозирования исхода у пациентов с тяжёлыми формами COVID-19 пневмонии при пороге классификации 0,42

Примечание – площадь под кривой (AUC) 0,856. R-квадрат Макфаддена составил 0,395 ($R^2=0,395$), чувствительность модели – 84,2%, специфичность – 86,7%, точность – 85,7%

Полученные данные подтверждают, что уровень HIF-1 α в плазме крови является доступным и высокоинформативным маркером наряду с индексом ROX, о котором упоминалось выше, для ранней стратификации риска и оптимизации респираторной поддержки. Выраженная связь уровня HIF-1 α с индексом ROX, шкалой NEWS-2 и исходом заболевания подчёркивает целесообразность его рутинного определения у пациентов с респираторными нарушениями, в частности, с COVID-19 пневмонией.

Анализ уровней iNOS и метаболитов NO выявил двойственную роль этих факторов. На момент поступления уровень iNOS в группе 3 (2,51 [2,46;2,605] нг/мл) был значимо ниже, чем в группе 1 (2,68 [2,57;3,03] нг/мл; $p=0,016$), что может отражать нарушение адаптационных способностей организма к гипоксии в условиях активного системного воспаления и оксидативного стресса (Рисунок 11) [7]. Кроме того, к 7-м суткам в группе 3 наблюдалось значимое повышение метаболитов NO (74 [62,8;76,6] мкмоль/мл; $p=0,036$), так же указывающее на переход к дезадаптивным процессам и нарушению микроциркуляции. Избыток

метаболизм NO, связанный с персистирующей активацией iNOS, нивелирует позитивные эффекты HIF-опосредованной сигнализации, усугубляя нитрозативный стресс и повреждение альвеол. Кроме того, высокое содержание NO может вести к нитрозилированию белков HIF-сигнального пути, ингибируя их функцию, или конкурентно связываться с кислород-чувствительными сайтами, нарушая кислород-зависимую регуляцию [202, 227].

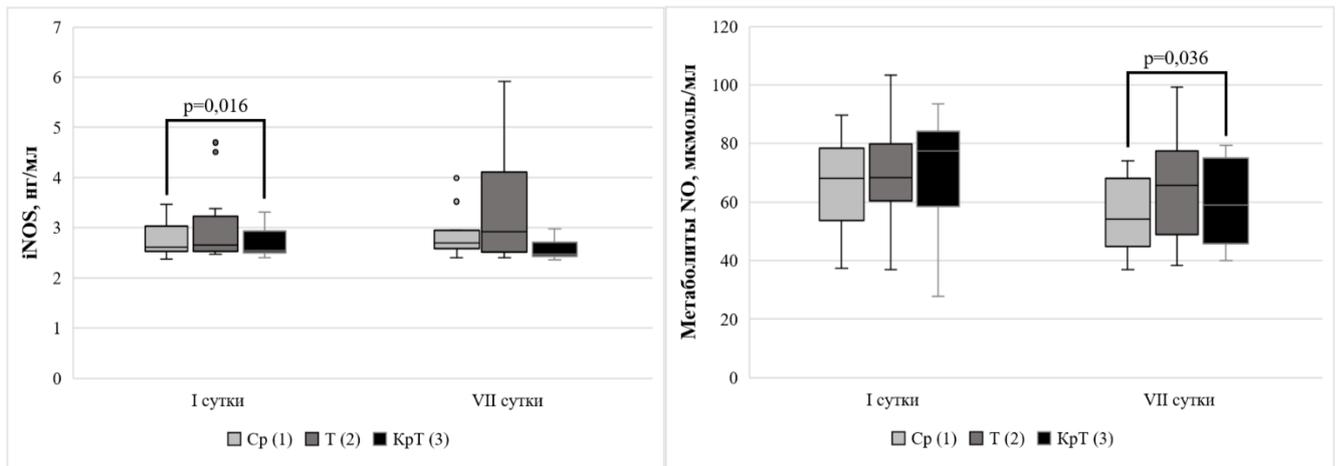


Рисунок 8 – Уровень iNOS и метаболитов NO в плазме крови у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 пневмонии (Me [Q1;Q3])

Примечание – iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота, NO – метаболиты оксида азота. Ср – среднетяжёлое течение COVID-19 пневмонии, Т – тяжёлое течение COVID-19 пневмонии, КрТ – крайне тяжёлое течение COVID-19 пневмонии [7]

Проведя анализ корреляционных взаимосвязей между уровнями HIF-1 α и HIF-2 α и маркером оксидативного стресса (iNOS), выявил значимые паттерны, дополняющие понимание патогенеза COVID-19.

HIF-1 α на момент поступления продемонстрировал умеренную положительную корреляцию с уровнем iNOS ($r=0,375$; $p<0,05$), что подтверждает гипотезу о сопряжённости раннего гипоксического ответа с активацией оксидативных механизмов (Рисунок 12) [71]. К 7-м суткам эта взаимосвязь усиливалась ($r=0,481$; $p<0,05$) (Рисунок 13), особенно в группах с тяжёлым течением, где рост HIF-1 α сопровождался повышением iNOS, что может отражать попытку компенсации гипоксии через усиление NO-зависимых процессов.

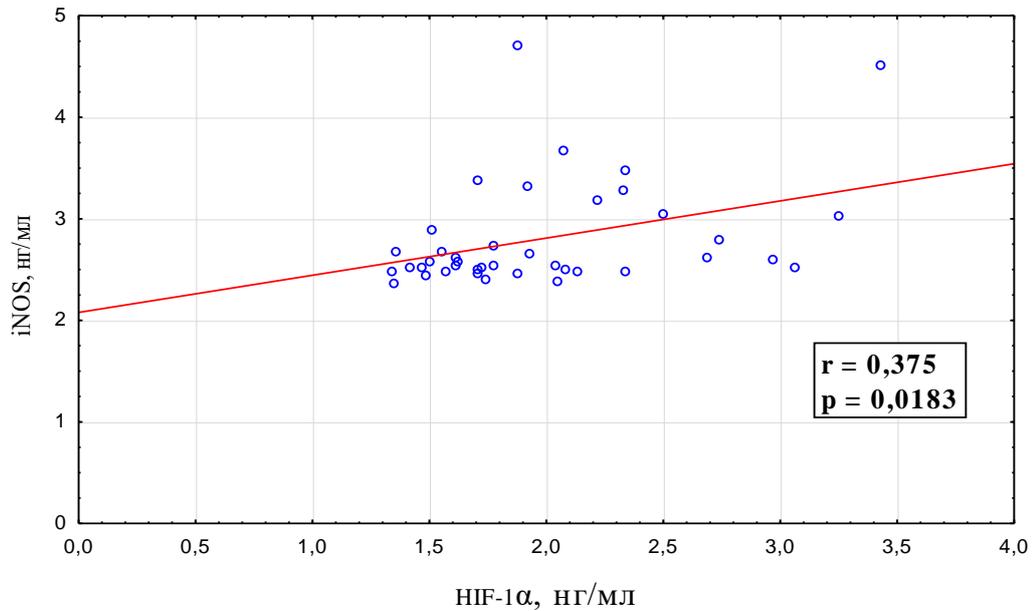


Рисунок 9 – Корреляционный анализ между уровнем фактора, индуцированного гипоксией 1α (HIF-1α) и уровнем индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) в плазме крови при поступлении

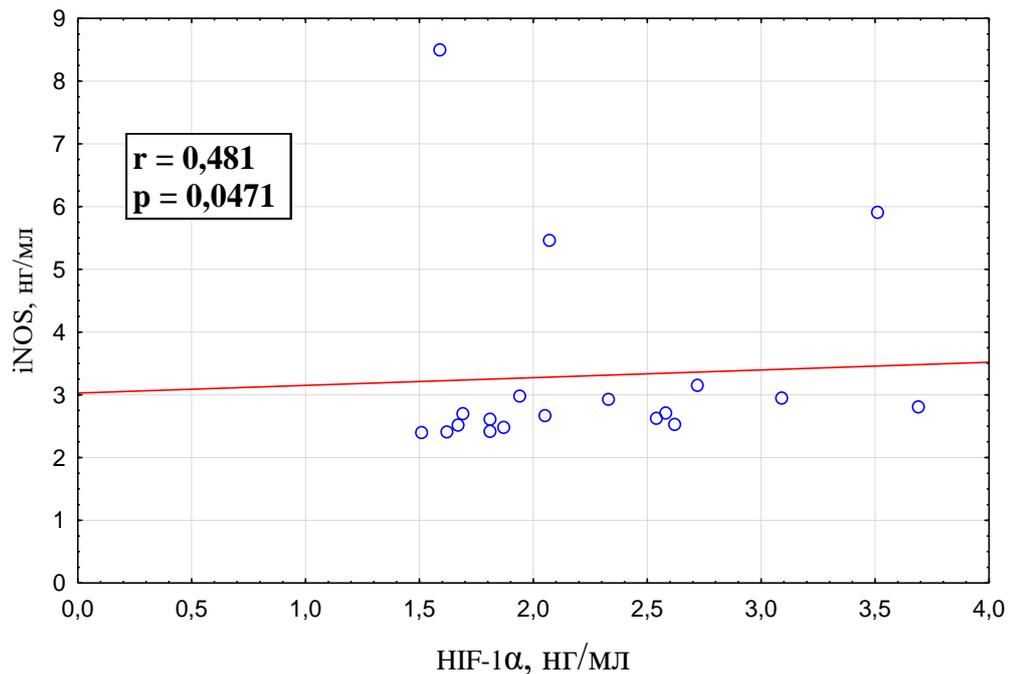


Рисунок 10 – Корреляционный анализ между уровнем фактора, индуцированного гипоксией 1α (HIF-1α) и уровнем индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) в плазме крови на 7-е сутки лечения

HIF-2α при поступлении также показал слабую, но значимую корреляцию с iNOS ($r=0,289$; $p<0,05$) (Рисунок 14), однако к 7-м суткам эта связь теряла значимость ($r=0,063$; $p>0,05$) (Рисунок 15). Это указывает на то, что роль HIF-2α в

регуляции оксидативного стресса ограничивается ранними стадиями заболевания, тогда как при прогрессировании патологии доминируют механизмы, связанные с HIF-1 α .

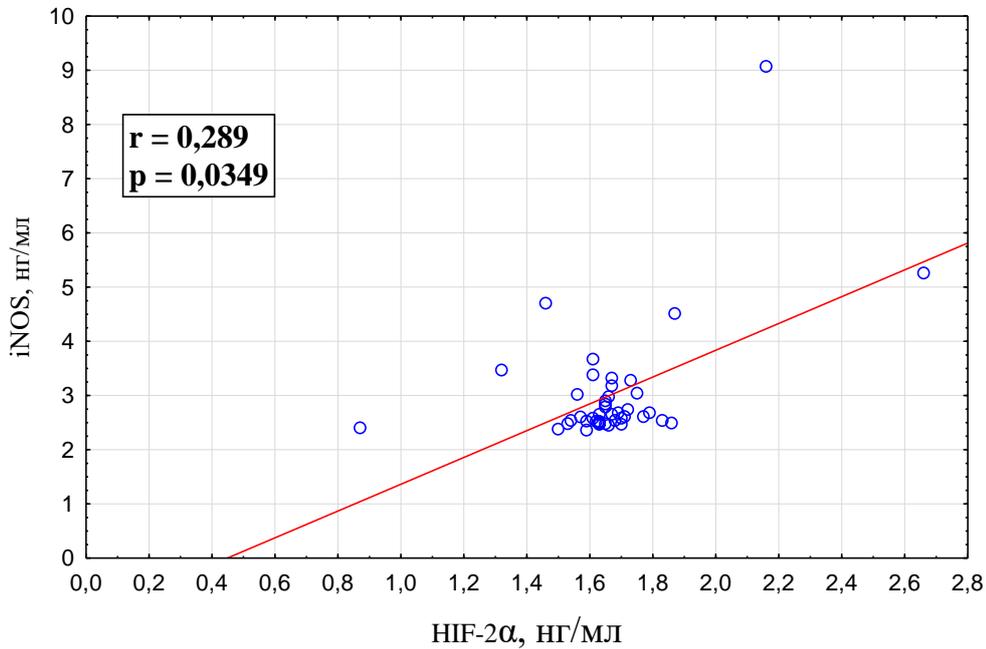


Рисунок 11 – Корреляционный анализ между уровнем фактора, индуцированного гипоксией 2 α (HIF-2 α) и уровнем индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) в плазме крови при поступлении

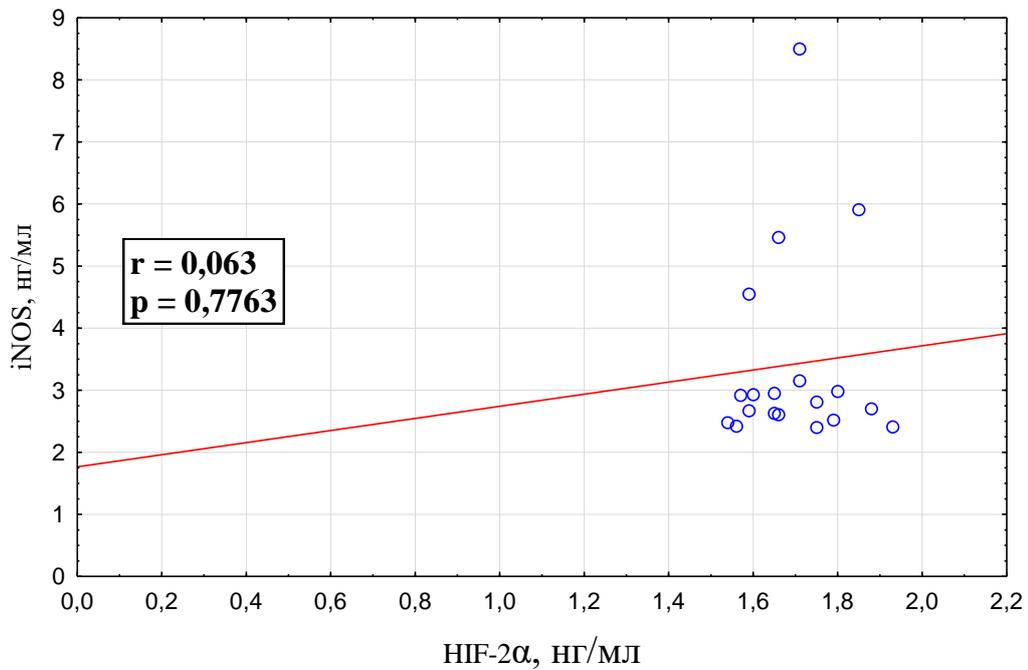


Рисунок 12 – Корреляционный анализ между уровнем фактора, индуцированного гипоксией 2 α (HIF-2 α) и уровнем индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) в плазме крови на 7-е сутки лечения

Динамика ангиогенного фактора VEGF-A указывает на истощение компенсаторных резервов при крайне тяжёлом течении COVID-19 пневмонии [196]. При поступлении уровни VEGF-A в группах 2 (684 [662;690] пг/мл) и 3 (685 [666;696] пг/мл) были значимо выше, чем в группе 1 (660 [646;668] пг/мл; $p=0,038$ и $p=0,027$, соответственно), что свидетельствует о ранней компенсаторной активации ангиогенеза в ответ на гипоксию (Рисунок 16).

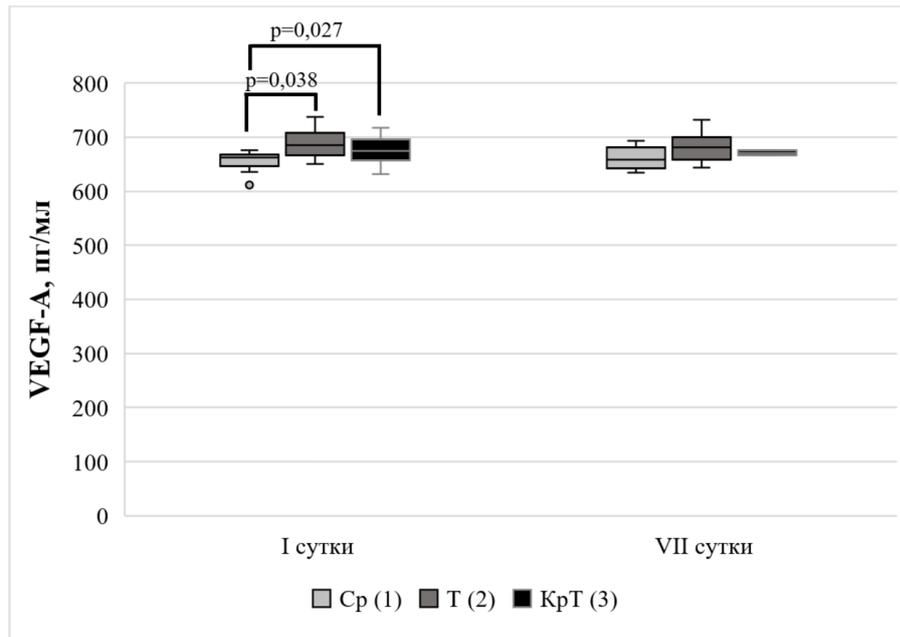


Рисунок 13 – Количество VEGF-A в плазме крови у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 пневмонии (Me [Q1;Q3])

Примечание – VEGF-A – фактор роста эндотелия сосудов А, Ср – среднетяжёлое течение COVID-19 пневмонии, Т – тяжёлое течение COVID-19 пневмонии, КрТ – крайне тяжёлое течение COVID-19 пневмонии [6]

Однако к 7-м суткам в группе 3 зафиксирована тенденция к снижению VEGF-A, что согласуется с данными о подавлении ангиогенной функции на фоне персистирующего воспаления и фиброзного ремоделирования лёгких [196].

Интересно, что в группах пациентов с тяжёлым и крайне тяжёлым течением выявлена сильная положительная корреляция между уровнями HIF-1 α и VEGF-A на момент госпитализации ($r=0,812$; $p<0,05$ для группы 2; $r=0,886$; $p<0,05$ для группы 3). Это подтверждает ключевую роль HIF-1 α как основного регулятора VEGF-A-опосредованного ангиогенеза при остром гипоксическом стрессе, что согласуется с данными о его способности индуцировать транскрипцию VEGF [166, 211].

Подводя промежуточный итог можно предположить, что выявленные при COVID-19 пневмонии нарушения гипоксия-опосредованной регуляции, в частности, дисбаланс между ангиогенезом и оксидативным стрессом, формируют патогенетическую основу для развития системных сосудистых осложнений. Активация эндотелия гипоксией и провоспалительными цитокинами запускает каскад реакций, приводящих к микротромбообразованию, усилению сосудистой проницаемости и органной гипоперфузии [196, 249, 251]. В контексте этих патогенетических нарушений критически важным представляется дальнейшее исследование взаимосвязи ангиогенных и гипоксических маркеров с показателями гемостаза у пациентов, находящихся под наблюдением и лечением в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Углублённое понимание этих взаимодействий позволит более полно раскрыть патогенетические механизмы, определяющие тяжесть течения и исход COVID-19 у наиболее уязвимой группы пациентов.

3.4. Оценка уровней HIF-1 α и HIF-2 α в плазме крови и их вклад в эндотелиальную дисфункцию у пациентов с COVID-19 пневмонией, получавших интенсивную терапию в отделении реанимации

Проведённый нами ранее анализ патогенеза COVID-19 пневмонии выявил ключевые нарушения адаптивных механизмов к гипоксии, включая дисрегуляцию HIF-1 α и VEGF-A, ассоциированные с исходом критических состояний. Однако взаимосвязь между динамикой HIF-1 α , HIF-2 α , развитием эндотелиальной дисфункции и гемокоагулопатии у пациентов ОРИТ остаётся недостаточно изученной. В литературном обзоре обсуждалось, что гипоксия в условиях хронического воспаления не только стимулирует ангиогенез через VEGF-A, но и провоцирует эндотелиальную активацию, сопровождающуюся экспрессией провоспалительных (ICAM-1) и вазоконстрикторных (эндотелин-1) молекул, что усугубляет микроциркуляторные расстройства [117]. Параллельно активация HIF-зависимых путей может модулировать экспрессию тканевого фактора (TF) и

ингибитора активатора плазминогена (РАI-1), формируя протромботический фон [117].

Анализ межгруппового сравнения при госпитализации выявил более низкие уровни HIF-1 α у пациентов ОРИТ относительно группы не реанимационных пациентов ($p=0,005$), что может отражать угнетение гипоксической адаптации при критическом течении COVID-19 пневмонии (Рисунок 17) [8]. В динамике лечения отмечалось значимый прирост к 7-м суткам уровня HIF-1 α в плазме крови у пациентов ОРИТ на 31% ($p=0,031$), что свидетельствует об активации транскрипционного ответа на острую гипоксию. В группе пациентов, получавших лечение в профильном терапевтическом отделении, напротив, наблюдалась тенденция к снижению HIF-1 α к 7-м суткам (Рисунок 17).

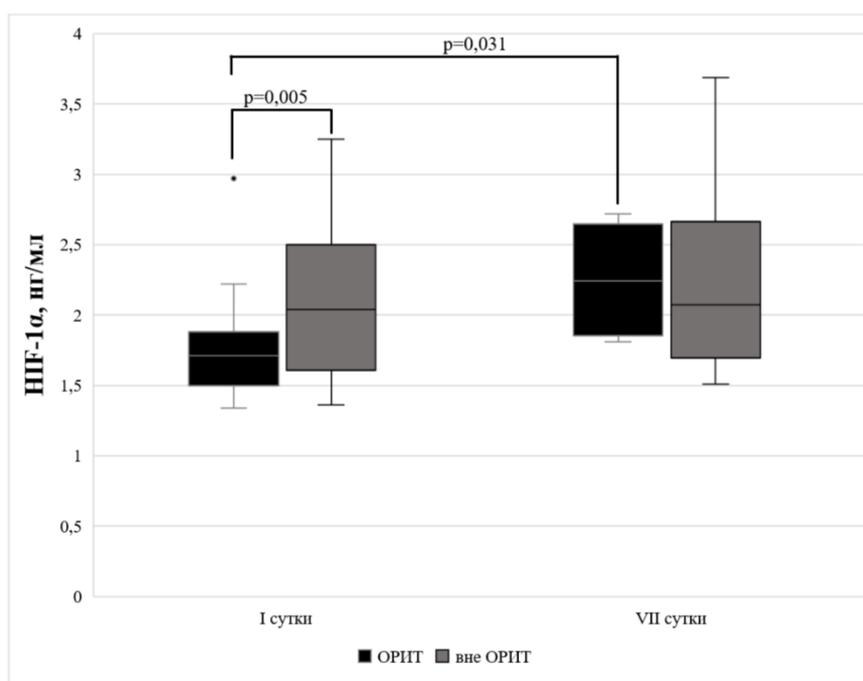


Рисунок 14 – Сравнение количества HIF-1 α в плазме крови у пациентов с COVID-19 пневмонии, проходивших лечение в ОРИТ и в профильном отделении вне ОРИТ (Me [Q1;Q3])

Примечание – HIF-1 α – фактор, индуцированный гипоксией 1 α , ОРИТ – группа пациентов, наблюдавшихся в отделении реанимации, вне ОРИТ – группа пациентов, получавших лечения вне реанимационного отделения

При анализе уровней HIF-2 α в плазме крови наблюдался противоположный паттерн: на момент поступления различия между исследуемыми группами отсутствовали, а к 7-му дню лечения у пациентов из не реанимационного отделения

был статистически значимо выше, чем в группе ОРИТ ($p=0,006$) (Рисунок 18) [8]. В динамике уровень HIF-2 α у пациентов ОРИТ имел тенденцию к снижению на седьмые сутки ($p>0,05$), тогда как в группе пациентов профильного отделения значимо повышался на 6% ($p=0,016$).

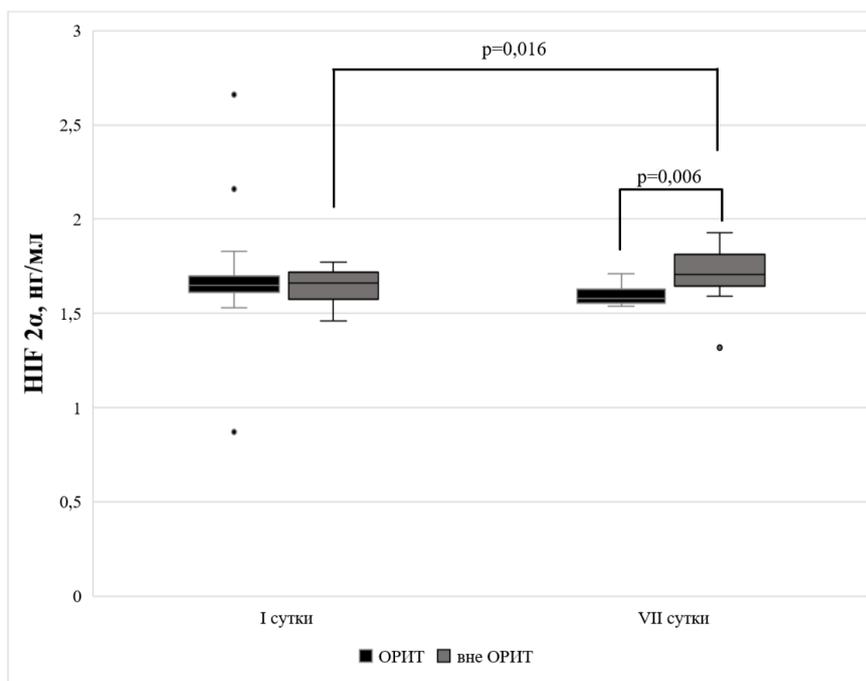


Рисунок 15 – Сравнение количества HIF-2 α в плазме крови у пациентов с COVID-19 пневмонией, проходивших лечение в ОРИТ и в профильном отделении вне ОРИТ (Me [Q1;Q3])

Примечание – HIF-2 α – фактор, индуцированный гипоксией 2 α , ОРИТ – группа пациентов, наблюдавшихся в отделении реанимации, вне ОРИТ – группа пациентов, получавших лечения вне реанимационного отделения

Выявленные разнонаправленные изменения уровней HIF-1 α и HIF-2 α предположительно указывают на феномен переключения ведущей изоформы HIF: в условиях критической гипоксии доминирует HIF-1 α , ответственный за быстрый ангиогенный ответ, тогда как HIF-2 α , регулирующий долгосрочную адаптацию, подавляется [241].

Параллельно у пациентов ОРИТ выявлено значимое повышение VEGF-A на 1-е сутки (686 [666;700] пг/мл) по сравнению с группой вне ОРИТ (662 [648;676] пг/мл; $p=0,012$), что согласуется с ранее описанной сильной корреляцией между HIF-1 α и VEGF-A в тяжёлых случаях течения COVID-19 пневмонии (Рисунок 19). К 7-м суткам в группе ОРИТ уровень VEGF-A имел тенденцию к снижению (668

[667;671] пг/мл; $p>0,05$), тогда как в группе вне ОРИТ отмечалась обратная тенденция (676 [658;694] пг/мл; $p>0,05$) (Рисунок 19). Это отражает истощение ангиогенного ответа у критических пациентов, связанное с переходом от компенсаторных процессов (активация HIF-1 α и VEGF-A) к дезадаптивным – фиброзному ремоделированию и эндотелиальной дисфункции [196].

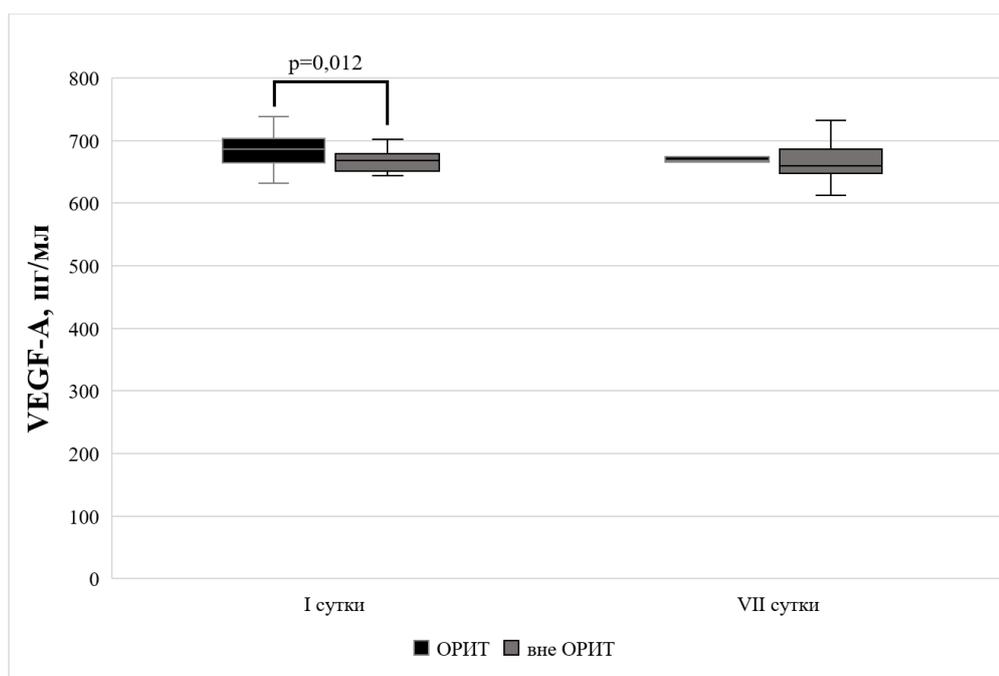


Рисунок 19 – Сравнение количества VEGF-A в плазме крови у пациентов с COVID-19 пневмонии, проходивших лечение в ОРИТ и в профильном отделении вне ОРИТ (Me [Q1;Q3])

Примечание – VEGF-A – фактор роста эндотелия сосудов А, ОРИТ – группа пациентов, наблюдавшихся в отделении реанимации, вне ОРИТ – группа пациентов, получавших лечения вне реанимационного отделения

Полученные данные подчёркивают взаимосвязь динамики HIF-изоформ с развитием эндотелиальной дисфункции: ранняя активация HIF-1 α /VEGF-A направлена на восстановление микроциркуляции, однако при персистирующей гипоксии истощение этого механизма (на фоне подавления HIF-2 α) усугубляет микротромбозы и сосудистую проницаемость.

На следующем этапе исследования нами был проведён корреляционный анализ, который выявил ключевые паттерны взаимодействия между ангиогенезом, функцией эндотелия и оксидом азота (NO) у пациентов с COVID-19 пневмонией.

Результаты корреляционного анализа демонстрируют динамику

взаимодействия VEGF-A, eNOS и метаболитов NO на 1-е и 7-е сутки госпитализации у пациентов с COVID-19 пневмонией. На 1-е сутки выявлена статистически значимая отрицательная корреляция между VEGF-A и eNOS (Таблица 16), что подтверждает конкурентный характер их регуляции в условиях острой гипоксии.

Таблица 16 – Результаты корреляционного анализа у пациентов с COVID-19 пневмонией при поступлении

	VEGF-A	eNOS	NO
VEGF-A		-0,602 **	0,473
eNOS	-0,602 **		-0,411 **
NO	0,473	-0,411 **	
Примечание – ** – $p < 0,01$, VEGF-A – фактор роста эндотелия сосудов А, eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота, NO – метаболиты оксида азота			

Одновременно отмечается положительная, но не достигающая статистической значимости связь VEGF-A с метаболитами NO (Таблица 16), что, предположительно, может отражать компенсаторное вовлечение альтернативных источников NO (например, iNOS) на фоне воспаления.

К 7-м суткам сохраняется сильная отрицательная корреляция VEGF-A с eNOS, в то время как связь VEGF-A с метаболитами NO исчезает (Таблица 17), что может быть результатом истощения резервов ангиогенеза и прогрессирования эндотелиальной дисфункции.

Таблица 17 – Результаты корреляционного анализа с COVID-19 пневмонией на 7-сутки лечения

	VEGF-A	eNOS	NO
VEGF-A		-0,659 *	0,136
eNOS	-0,659 *		-0,475 *
NO	0,136	-0,475 *	
Примечание – * – $p < 0,05$, VEGF-A – фактор роста эндотелия сосудов А, eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота, NO – метаболиты оксида азота			

Важным паттерном является усиление отрицательной корреляции eNOS с метаболитами NO к 7-м суткам (Таблицы 16–17), что подтверждает гипотезу о нарастающем «разобщении» фермента – переходе от продукции вазопротективного NO к генерации супероксида (O_2^-) [100]. Этот механизм

объясняет накопление токсичного пероксинитрита (ONOO^-) и прогрессирование оксидативного стресса, что усугубляет микроциркуляторные нарушения и коагулопатию [100].

Полученные данные подчёркивают, что дисбаланс оси VEGF-A–eNOS–NO создаёт патогенетическую основу для фиброзного ремоделирования тканей и полиорганной недостаточности, особенно у пациентов реанимационного профиля. Эти результаты мотивируют дальнейшее изучение таргетной коррекции данной оси (антиоксиданты, ингибиторы HIF-1 α) для предотвращения фатальных осложнений COVID-19 [169, 171, 188].

В контексте выявленных нарушений эндотелиальной функции и прогрессирующей полиорганной недостаточности ключевым звеном патогенеза COVID-19 остаётся гипоксия, опосредующая не только сосудистые, но и глобальные метаболические сдвиги. Значимая роль HIF-1 α в регуляции энергетического гомеостаза, включая окисление жирных кислот, позволяет предположить, что его дисрегуляция при COVID-19 может лежать в основе вторичных метаболических нарушений.

3.5. Влияние HIF-1 α на обмен карнитина у пациентов с COVID-19 пневмонией

Метаболические нарушения при COVID-19, в частности, дисбаланс карнитинового обмена, представляют собой малоизученный аспект патогенеза, обладающий значимым клиническим потенциалом. В условиях гипоксии, как уже было описано ранее, активация HIF-1 α перепрограммирует клеточный метаболизм, переключая его с окислительного фосфорилирования на гликолиз [212]. Опосредованная HIF-1 α активация генов киназы пируватдегидрогеназы 1 (PDK1) подавляет превращение пирувата в ацетил-КоА, ингибируя поступление субстрата в ЦТК, а стимуляция активности лактатдегидрогеназы А (LDHA), в свою очередь, приводит к лактат-ацидозу [67, 124]. В результате описанных выше изменений

клеточного метаболизма, получение энергии может происходить по альтернативному пути, в частности, за счёт β -окисления ЖК [64]. Однако при персистирующей гипоксии, характерной для тяжёлых форм COVID-19 β -окисление ЖК, где ключевую роль играет карнитиновая система, может быть нарушено [163].

Проведённый анализ выявил значимые различия в исследуемых показателях между группой пациентов с COVID-19 пневмонией и группой здоровых добровольцев.

Представленные ранее результаты показали, что уровень HIF-1 α в плазме крови у пациентов с COVID-19 пневмонией был статистически значимо в 3 раза выше, чем у здоровых добровольцев ($p < 0,05$), что подтверждает индуцированную гипоксией активацию фактора адаптации к респираторной недостаточности (Таблица 14).

У пациентов с COVID-19 пневмонией выявлено значимое снижение общего карнитина (на 11,7%; $p = 0,043$) и ацилкарнитинов (на 40%; $p = 0,016$) в плазме крови в сравнении с контрольной группой (Рисунок 20), что даёт основание предполагать дефицит синтеза ацетилированных форм, необходимых для проникновения жирных кислот в митохондрии при COVID-19 пневмонии [30]. Кроме того, установлено повышение концентрации свободного карнитина (на 35%; $p = 0,029$) (Рисунок 20), что может быть обусловлено нарушением его использования в результате HIF-1 α -опосредованной блокады CPT1A, о которой упоминалось в обзоре литературы [30, 87, 237].

Как уже было сказано ранее, в условиях гипоксии высокий уровень HIF-1 α активирует экспрессию PDK1 и LDHA, что приводит к переключению клеточного метаболизма на гликолиз [67, 212]. Это, в свою очередь, подавляет ЦТК и вызывает накопление ацетил-КоА. В таких условиях карнитин-ацетилтрансфераза (CRAT) играет ключевую роль в утилизации избыточных ацетильных групп, что может приводить к его выходу за пределы клеток [65].

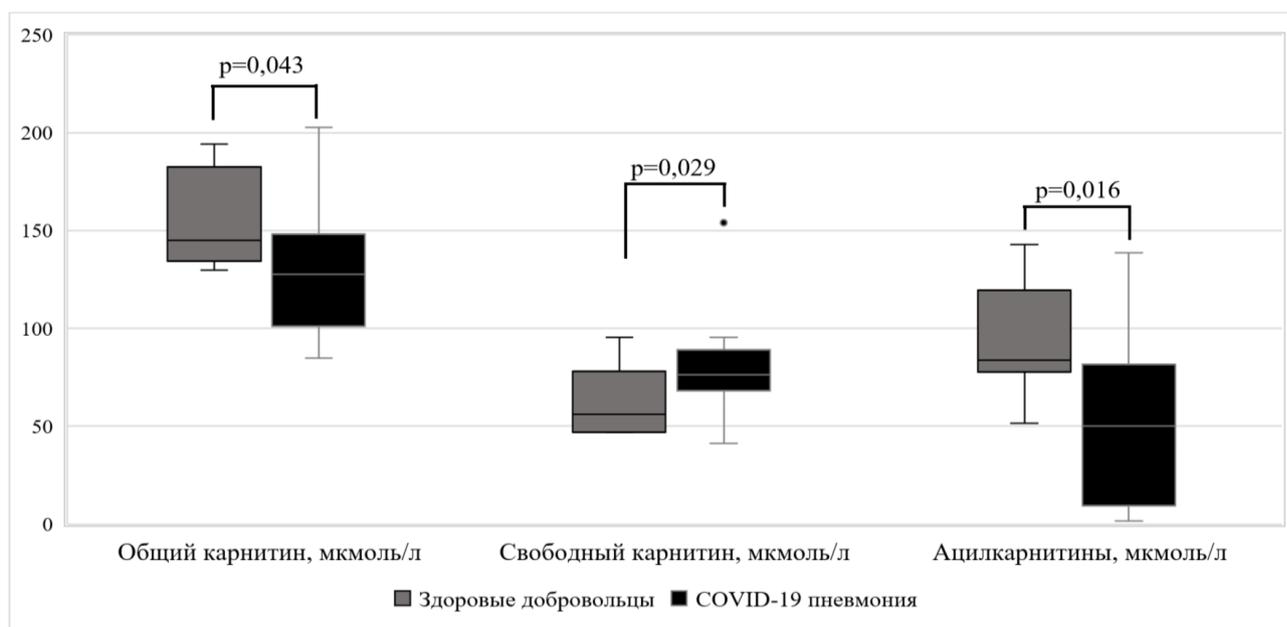


Рисунок 16 – Результаты исследования карнитинового обмена в плазме крови у пациентов с COVID-19 пневмонией и здоровых добровольцев (Me [Q1;Q3]) [30]

Анализ уровня CRAT в плазме крови у пациентов с COVID-19 пневмонией выявил её статистически значимое повышение (на 35%; $p=0,043$) по сравнению с контрольной группой (Рисунок 21). Это может свидетельствовать как о накоплении токсичных ацетил-КоА вследствие подавления β -окисления жирных кислот, так и о компенсаторной активации синтеза ацетилкарнитина для детоксикации избытка ацетильных групп.

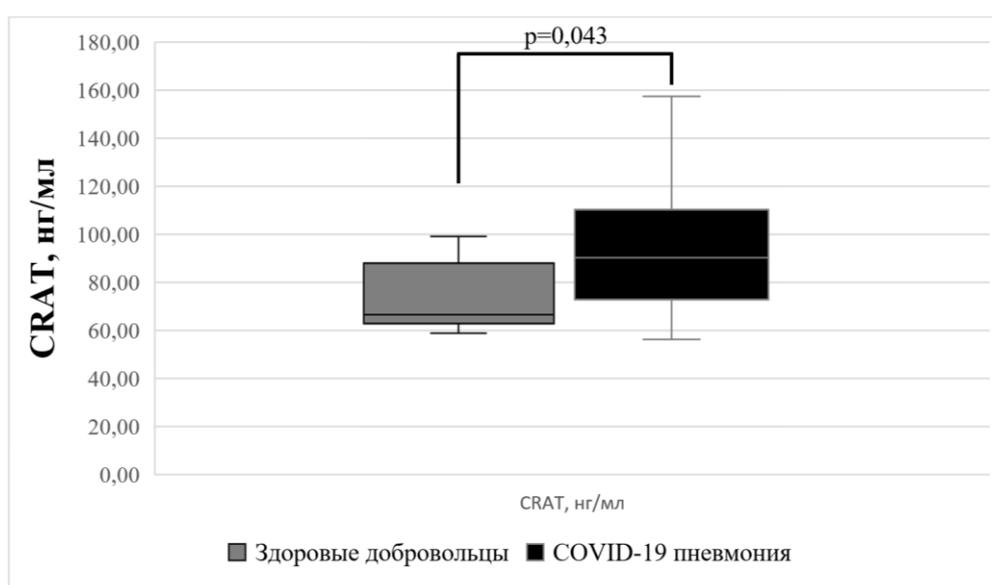


Рисунок 17 – Уровень карнитин-ацетилтрансферазы (CRAT) в плазме крови у пациентов с COVID-19 пневмонией и здоровых добровольцев (Me [Q1;Q3]) [30]

Выявленные изменения подтверждают, что у пациентов с COVID-19 пневмонией на фоне гипоксии возникает системный дисбаланс карнитинового обмена, ведущий к нарушению липидного метаболизма и энергетического гомеостаза. Учитывая, что индуцированные гипоксией стресс и метаболические перестройки носят градуальный характер, логично предположить, что выраженность нарушений карнитиновой системы может быть связана с клинической тяжестью COVID-19 пневмонии. На ранних стадиях заболевания компенсаторное повышение CRAT и ацетилкарнитина может временно нейтрализовать накопление токсичных ацил-КоА, однако при прогрессирующей гипоксии и полиорганной недостаточности дефицит карнитина и истощение адаптационных механизмов способны стать критическими факторами, усугубляющими энергетический дефицит и выживаемость [163].

Анализ уровней CRAT в плазме крови выявил у пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии статистически значимое повышение относительно первой и второй группы (на 32%; $p=0,015$ и 28%; $p=0,048$, соответственно) (Рисунок 22). Полученные данные позволяют использовать уровень CRAT в плазме крови в качестве универсального индикатора массивного клеточного повреждения и выхода внутриклеточных ферментов в системный кровоток [30].

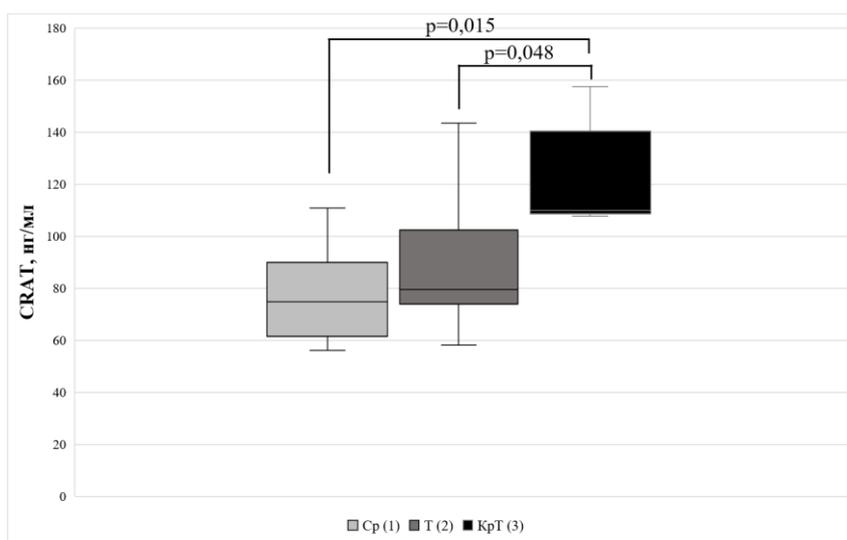


Рисунок 18 – Уровень карнитин-ацетилтрансфераза (CRAT) в плазме крови у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 пневмонии (Me [Q1;Q3]) [30]

Примечание – Sp – среднетяжёлое течение COVID-19 пневмонии, T – тяжёлое течение COVID-19 пневмонии, KpT – крайне тяжёлое течение COVID-19 пневмонии

При оценке карнитинового обмена у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 пневмонии не было установлено статистически значимых различий не по одному из исследуемых параметров. Однако были установлены разнонаправленные тенденции при прогрессировании заболевания. Во второй группе отмечалась тенденция к снижению концентрации ацилкарнитинов и общего карнитина при повышении свободного карнитина. В 3-й группе наблюдалась инверсия паттерна: снижение свободного карнитина при увеличении общего карнитина и ацилкарнитинов (Таблица 18).

Таблица 18 – Результаты исследования карнитинового обмена в плазме крови у пациентов с разной степенью тяжести COVID-19 пневмонии (Me [Q1;Q3])

Показатели	Ср (1)	Т (2)	КрТ (3)
Свободный карнитин, мкмоль/л	76,3 [70,9;80,2]	88,4 [69,9;94,1]	69,9 [65,6;89,1]
Общий карнитин, мкмоль/л	128,0 [108,0;148,0]	124,0 [107,0;140,0]	136,0 [113,0;147,0]
Ацилкарнитины, мкмоль/л	50,0 [29,4;83,6]	24,3 [5;69,3]	60,0 [34,3;70,7]
Примечание – Ср – среднетяжёлое течение COVID-19 пневмонии, Т – тяжёлое течение COVID-19 пневмонии, КрТ – крайне тяжёлое течение COVID-19 пневмонии [30]			

На следующем этапе исследования нарушений карнитинового обмена при COVID-19 пневмонии нами был проведён анализ корреляционных взаимосвязей (Таблица 19).

Таблица 19 – Анализ корреляционных взаимосвязей исследуемых биохимических показателей (Me [Q1;Q3])

	CRAT	Свободный карнитин	Общий карнитин	Ацилкарнитины
Койко-дни	-0,084	-0,487 *	0,167	0,501 *
Койко-дни в ОРИТ	0,588 **	-0,222	0,114	0,188
Шкала NEWS-2	0,533 *	0,337	0,331	-0,08
Индекс ROX	-0,6 **	-0,173	-0,588 **	-0,2
HIF-1 α	-0,651 *	-0,247	-0,207	-0,009
Примечание – * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$, ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии, HIF-1 α – фактор, индуцированный гипоксией 1 α , NEWS-2 – шкала тяжести течения COVID-19 пневмонии, ROX – индекс частоты дыхания-оксигенации [30]				

Наблюдалась умеренная обратная зависимость между концентрацией свободного карнитина и длительностью пребывания пациентов в стационаре: более высокие уровни свободного карнитина ассоциированы с более коротким сроком

госпитализации. Напротив, концентрация ацилкарнитинов положительно коррелировала с продолжительностью пребывания в стационаре, указывая на их связь с более затяжным течением заболевания. Кроме того, обнаружена обратная корреляция средней силы между уровнем общего карнитина и индексом ROX (респираторный индекс оксигенации), что свидетельствует о влиянии гипоксии на метаболизм карнитина.

Уровень CRAT в плазме крови имел прямую зависимость средней силы с тяжестью состояния пациентов по шкале NEWS-2 и длительностью пребывания больных в ОРИТ, при этом наблюдалась обратная зависимость с индексом ROX.

Обнаруженная обратная корреляция между уровнями HIF-1 α и CRAT в плазме требует отдельного обсуждения. Мы предполагаем, что на ранних стадиях COVID-19 пневмонии HIF-1 α стимулирует компенсаторное повышение CRAT, но при крайне тяжёлом течении заболевания и массивной гибели клеток эти механизмы истощаются. Повышение CRAT в плазме при тяжёлых формах COVID-19 пневмонии может быть связано не с активным синтезом, а с выходом внутриклеточного содержимого при некрозе клеток, что указывает на возможность использования CRAT в качестве маркера гипоксии и органной дисфункции. В этом случае обратная корреляция с HIF-1 α может отражать разные фазы процесса.

Выявленные взаимосвязи уровней CRAT с тяжестью течения заболевания и длительностью пребывания пациентов в стационаре, явились основанием для поиска модели прогнозирования исходов COVID-19 пневмонии. В разработанную модель включались рутинные для клинической практики и идентифицированные ранее предикторы: ИМТ, отражающий степень ожирения, уровень сывороточного ферритина как маркер гипервоспалительного ответа, уровень креатинина, как индикатор почечного повреждения, уровень CRAT как ключевой фермент обмена ацилкарнитинов.

Результатом данного этапа исследования стала разработка способа прогнозирования исходов заболевания у пациентов с тяжёлыми формами острой COVID-19 инфекции (Рисунок 23) [22].

Интеграция ИМТ, ферритина, креатинина и CRAT в единую модель

позволяет учесть комплексное влияние воспаления, гипоксии, органических дисфункций и метаболических сдвигов на прогноз COVID-19.

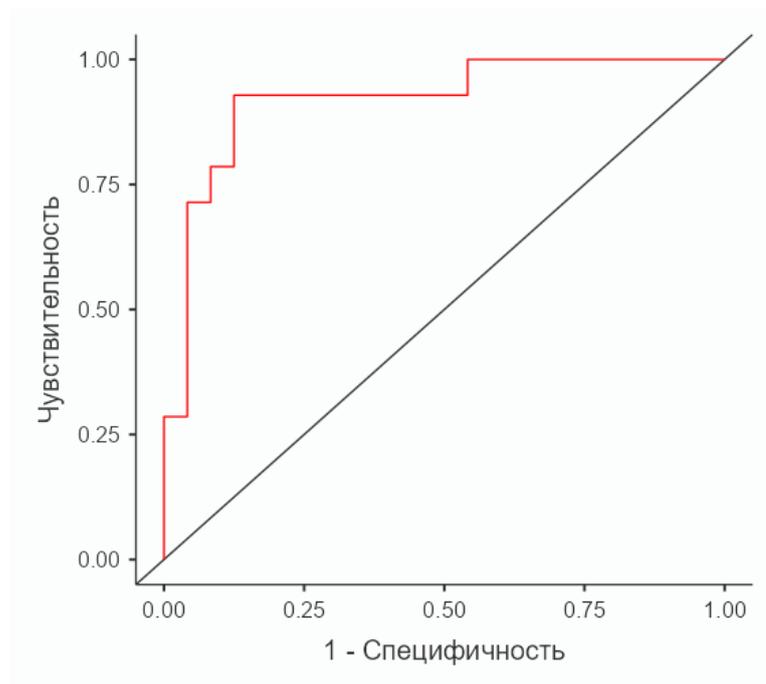


Рисунок 19 – ROC-кривая, характеризующая прогностическую модель способа прогнозирования летального исхода у пациентов с тяжёлыми формами COVID-19 пневмонии при пороге классификации 0,36

Примечание – R-квадрат Макфаддена составил 0,451 ($R^2=0,451$), чувствительность модели – 92,9 %, специфичность – 87,5%, точность – 89,5%

Таким образом, проведённое исследование демонстрирует, что у пациентов с COVID-19 пневмонией наблюдаются выраженные нарушения карнитинового обмена, тесно связанные с гипоксией и энергетическим дисбалансом. Полученные данные обосновывают перспективность изучения коррекции карнитинового обмена в комплексном лечении COVID-19, а также необходимость дальнейших исследований, направленных на уточнение патогенетических механизмов и разработку метаболически-ориентированных стратегий для улучшения исходов у критических больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19), впервые зарегистрированная в декабре 2019 года в Ухане, повлияла на жизни миллиардов человек и стала испытанием для мировой системы здравоохранения. Течение заболевания при COVID-19 может носить бессимптомный характер, а также иметь симптомы, схожие с другими ОРВИ. Наибольшую опасность представляет тяжёлое течение COVID-19, которое может сопровождаться развитием двухсторонней пневмонии, острого респираторного дистресс-синдрома, септического шока и полиорганной недостаточности.

Развитие тяжёлых форм COVID-19 пневмонии происходит в результате сложного и многогранного патофизиологического взаимодействия системного воспаления, дисфункции эндотелия, гемокоагуляционных нарушений и гипоксии. Однако именно воздействие системных гипоксических условий является критическим в прогрессировании заболевания и развитии неблагоприятных исходов. Поскольку клинические показатели, характеризующие дыхательные нарушения, не позволяют оценить влияние отдельных видов гипоксии на формирование адаптационных механизмов, необходимо дальнейшее изучение возможных биохимических путей реагирования на гипоксические условия, что может стать решающим при выборе объёма респираторной терапии и в прогнозировании исходов заболевания.

На Рисунке 24 представлены HIF- α -опосредованные пути реагирования на гипоксические условия у пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии.

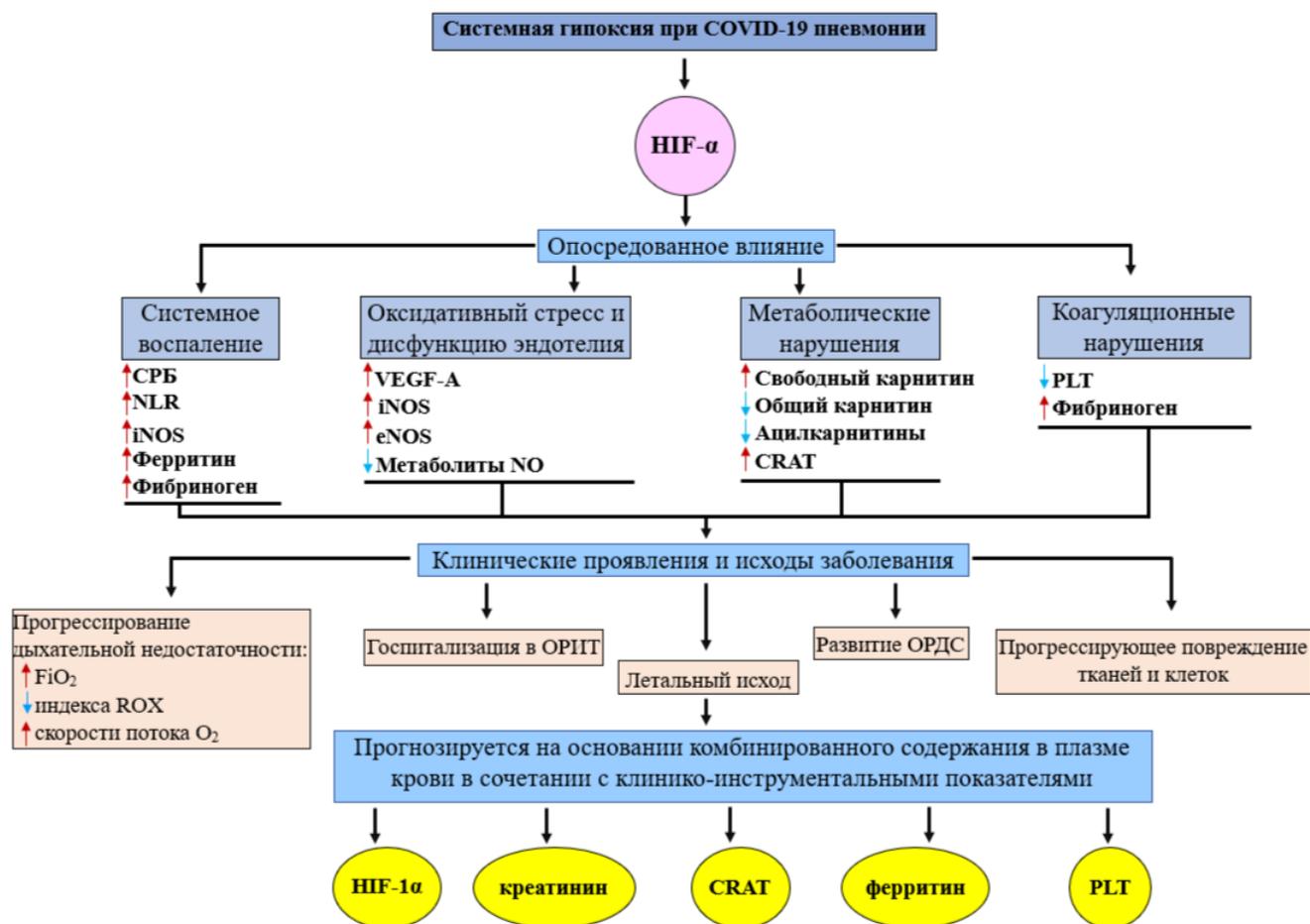


Рисунок 20 – Выявленные маркеры HIF- α -опосредованного реагирования на гипоксические условия у пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии

На начальном этапе исследования нам необходимо было проанализировать выраженность системного воспаления и органной дисфункции в условиях системной гипоксии. Были сформированы три группы пациентов с COVID-19 пневмонией, стратифицированных в зависимости от степени поражения лёгочной ткани по данным компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ-1, КТ-2, КТ-3/4). Однако по ходу работы не было выявлено статистически значимых различий по ключевым маркерам системного воспаления (СРБ, ферритин, фибриноген) и установлено, что градация пациентов по объёму поражения лёгких не позволяет в должной мере оценить степень тяжести состояния и выраженность системного воспаления у пациентов с COVID-19 пневмонией. В результате чего мы отказались от КТ-классификации в пользу группировки пациентов с COVID-19 пневмонией на основании степени тяжести течения заболевания (1 группа –

среднетяжёлое течение, 2 группа – тяжёлое течение, 3 группа – крайне тяжёлое течение).

Оценка показателей активности системного воспаления продемонстрировала статистически значимые повышения уровней С-реактивного белка у пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии относительно группы больных со средней степенью тяжести как при поступлении, так и на 7-е сутки лечения. Кроме того, нейтрофильно-лимфоцитарный индекс продемонстрировал критический рост к 7-му дню лечения только в группе крайне тяжёлого течения.

При оценке биохимических показателей сыворотки крови наблюдалось развитие гипопроteinемии во всех наблюдаемых группах к 7-м суткам лечения с максимальной выраженностью в группе крайне тяжёлого течения. Уровень мочевины прогрессивно увеличивался по мере нарастания тяжести состояния, что позволяет использовать его в качестве маркера декомпенсации почечной функции. На протяжении всего исследования во всех группах наблюдалась гипергликемия с наиболее устойчивым характером в 3-й группе пациентов.

Оценка клинических проявлений дыхательной недостаточности и эффективности респираторной терапии выявила у пациентов со средней степенью тяжести течения COVID-19 пневмонии статистически значимое снижение потребности в кислородной поддержке (снижение FiO_2 и скорости потока кислорода) и улучшение оксигенации (повышение SpO_2 и индекса ROX). В тоже время у пациентов с тяжёлым течением сохранялась высокая зависимость от респираторной терапии. Несмотря на значимое увеличение респираторной терапии (увеличение FiO_2 и скорости потока кислорода) у пациентов с крайне тяжёлым течением отмечено нарастание дыхательной недостаточности (снижение индекса ROX).

Установленная взаимосвязь биохимических маркеров воспаления, гипопроteinемии и гемокоагуляционных нарушений с показателями выраженности респираторной недостаточности (SpO_2 , индекс ROX) подтверждает ключевую роль системного воспаления, коагулопатии и метаболических нарушений в патогенезе гипоксии при COVID-19 пневмонии и обосновывает

целесообразность интеграции биохимических и клинико-инструментальных данных в прогностические модели.

Количественная оценка полученных клинико-лабораторных показателей позволила разработать способ прогнозирования летального исхода у пациентов с COVID-19 пневмонией, основанный на комплексной оценке ранее исследованных предикторов (возраст, степень поражения лёгких, индекс ROX, уровень тромбоцитов).

На следующем этапе исследования была проведена оценка содержания в плазме крови маркеров, характеризующих формирование механизмов, опосредующих адаптацию тканей к низкому содержанию кислорода. Для оценки чувствительности методики, определения пороговых значений и проверки на экзаменационной выборке в исследование были включены пациенты с острой респираторной вирусной инфекцией (группа сравнения) и здоровые добровольцы (группа контроля).

Показатели HIF-1 α и метаболитов NO в плазме крови были статистически значимо выше в группе пациентов с COVID-19 пневмонией и в группе пациентов с ОРВИ, при этом различия между патологическими группами не установлены. Уровень iNOS в плазме крови у пациентов с COVID-19 пневмонией превышал показатели других наблюдаемых групп. Значимые различия в уровнях VEGF-A в плазме крови не установлены, однако наблюдалась тенденция у пациентов с COVID-19 пневмонией относительно группы контроля.

При анализе уровней HIF-1 α в плазме крови у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 пневмонии было установлено, что у пациентов с крайне тяжёлым течением на момент поступления наблюдалось значимое снижение HIF-1 α по сравнению с группой среднетяжёлого течения. В группе тяжёлого течения наблюдался статистически значимый прирост HIF-1 α к 7-му дню лечения. Уровень HIF-2 α в плазме крови значимо не отличался между исследуемыми группами ни при поступлении, ни на 7-е сутки, однако был установлен значимый подъём в группе среднетяжёлого течения к 7-му дню. Результатом поиска корреляционных взаимосвязей стали умеренная обратная

зависимость HIF-1 α при поступлении с летальностью, длительностью лечения в отделении реанимации и степенью поражения лёгких, а также прямая зависимость средней силы с индексом ROX и шкалой NEWS-2. В динамике лечения наблюдались выраженная отрицательная связь между уровнем HIF-2 α и пребыванием пациентов в ОРИТ и исходом заболевания, а также положительная связь с длительностью пребывания в стационаре.

В результате обнаружения взаимосвязи уровня HIF-1 α в плазме крови с исходом заболевания нами был разработан способ прогнозирования летального исхода при COVID-19 пневмонии, включающей комплексную оценку уровня HIF-1 α в плазме крови, частоты сердечных сокращений, степени поражения лёгких и уровня креатинина.

При анализе маркеров оксидативного стресса было установлено, что у пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии при поступлении уровень iNOS в плазме крови был значимо ниже, чем у группы пациентов со средней степенью тяжести. Также было выявлено значимое повышение к 7-м суткам концентрации метаболитов NO у пациентов с крайне тяжёлым течением. Не менее важным стало определение прямой корреляционной зависимости между уровнем HIF-1 α и iNOS, усиливающейся к 7-му дню лечения.

При оценке содержания VEGF-A в плазме крови наблюдались его повышенные уровни у пациентов с тяжёлым и крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии относительно группы среднетяжёлого течения. Особое внимание следует уделить обнаруженной взаимосвязи между уровнем HIF-1 α и VEGF-A у пациентов с тяжёлой и крайне тяжёлой формой COVID-19 пневмонии. Выявленные корреляции побудили нас оценить исследуемые показатели у пациентов, которые находились на лечении в отделении реанимации.

Проанализировав исследуемые показатели между группами пациентов, наблюдавшихся в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) и в профильном отделении, было установлено, что при поступлении уровни HIF-1 α в плазме крови у пациентов ОРИТ были ниже в сравнении с группой профильного отделения, а к 7-му дню значимо повышались. Кроме того, на 7-е сутки лечения у

пациентов не реанимационного профиля уровень HIF-2 α был выше, чем в группе ОРИТ, и имел значимое повышение в динамике лечения. Уровень VEGF-A был выше у пациентов ОРИТ на момент поступления. Также было установлена обратная зависимость между уровнем VEGF-A и eNOS с усилением прочности связи к 7-му дню лечения.

На завершающем этапе исследования нами была поставлена задача оценить участие HIF-1 α в развитии вторичных метаболических нарушений. В условиях гипоксии HIF-1 α отвечает за перепрограммирование клеточного метаболизма с окислительного фосфорилирования на гликолиз, что ведёт к получению энергии по альтернативным путям, в том числе за счёт β -окисления жирных кислот. Однако при персистирующей гипоксии β -окисление жирных кислот, регулируемое карнитиновой системой, может нарушаться. На основании выше сказанного нами были оценены показатели свободного карнитина, общего карнитина и ацилкарнитинов в плазме крови. В результате было установлено, что у пациентов с COVID-19 пневмонией уровни общего карнитина и ацилкарнитинов были значимо ниже, а уровень свободного карнитина выше, чем у здоровых добровольцев. Предположив, что HIF-1 α -опосредованное переключение клеточного метаболизма на гликолиз, приводящее к накоплению ацетил-КоА в цитозоле, может приводить к выходу карнитин-ацетилтрансферазы (CRAT) за пределы клеток, нами был исследован его уровень в плазме крови. В результате было установлено, что уровень CRAT у пациентов с COVID-19 пневмонией был статистически значимо выше, чем в группе контроля.

Установленный дисбаланс карнитинового обмена у пациентов с COVID-19 пневмонией в условиях гипоксии позволил сделать предположение, что нарушения карнитиновой системы могут быть связаны с клинической тяжестью COVID-19. Однако значимых различий в показателях свободного карнитина, общего карнитина и ацилкарнитинов у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 пневмонии установлено не было. Несмотря, на это проведённый анализ корреляционных взаимосвязей выявил обратную зависимость концентрации свободного карнитина с длительностью пребывания пациентов в стационаре,

уровня общего карнитина с индексом ROX и прямую зависимость показателей ацилкарнитинов с продолжительностью нахождения пациентов на лечении. Анализ уровней CRAT в плазме крови выявил значимое повышение у пациентов с крайне тяжёлым течением относительно остальных наблюдаемых групп. Также было установлено, что CRAT прямо коррелировал с тяжестью состояния по шкале NEWS-2 и длительностью пребывания в ОРИТ и обратно зависел от уровня HIF-1 α и индекса ROX. Установленные корреляции побудили на поиск модели прогнозирования исхода COVID-19 пневмонии. В разработанную модель были включены: индекс массы тела, уровень ферритина в сыворотке крови, уровень креатинина в сыворотке крови и уровень CRAT в плазме крови.

Таким образом, определение концентраций изоформ HIF- α и регулируемых ими факторов в плазме крови может быть использовано для раннего определения выраженности гипоксии, системного воспаления, дисфункции эндотелия и вторичных метаболических нарушений.

Резюмируя все вышесказанное можно сказать, что изучение уровней HIF- α в кровотоке открывает перспективы для их использования в качестве прогностических биомаркеров. Комбинированная оценка этих показателей с рутинным клинико-биохимическими показателями как в дебюте заболевания, так и в динамике лечения может улучшить точность прогнозирования тяжести течения и риска неблагоприятного исхода у пациентов с COVID-19 пневмонией, способствуя своевременной коррекции терапии и персонализированному подходу к лечению.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии отмечается значительное повышение ключевых маркеров воспаления (С-реактивный белок, фибриноген, нейтрофильно-лимфоцитарный индекс), а также признаки органной дисфункции: нарушение азотовыделительной функции почек (прогрессирующий рост мочевины), синтетической функции печени и нутритивного статуса (гипопротеинемия). Критический рост нейтрофильно-лимфоцитарного индекса и глубокая лимфопения отражают тяжёлый иммунный дисбаланс, а сохраняющаяся тромбоцитопения может предполагать развитие ДВС-синдрома.

2. У пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии наблюдается снижение уровней индекса ROX как при поступлении, так и на седьмые сутки лечения. Выявленные корреляции индекса ROX со степенью поражения лёгких, нейтрофильно-лимфоцитарным индексом и показателями С-реактивного белка, ферритина и мочевины указывают на возможность комплексной оценки клинических, инструментальных и биохимических показателей для прогнозирования исходов у пациентов с COVID-19 пневмонией.

3. У пациентов с крайне тяжёлым течением COVID-19 пневмонии при поступлении наблюдаются более низкие уровни HIF-1 α и iNOS в плазме крови, что указывает на нарушение процессов адаптации к гипоксическим условиям. Значимое повышение уровня HIF-1 α в плазме крови у пациентов с тяжёлым течением COVID-19 пневмонии на седьмые сутки лечения отражает активацию компенсаторных механизмов на прогрессирующую гипоксию. Отсутствие межгрупповых различий в уровнях HIF-2 α в плазме крови как при поступлении, так и на седьмые сутки госпитализации подчёркивает его второстепенную роль в ответе на острую гипоксию.

4. Установленная взаимосвязь уровней HIF-1 α и VEGF-A в плазме крови указывает на раннее восстановление микроциркуляции, однако при прогрессировании гипоксии и истощении адаптационных механизмов наблюдается

повышение сосудистой проницаемости и возможное формирование микротромбозов.

5. У пациентов с COVID-19 пневмонией наблюдались нарушения карнитинового обмена, характеризующиеся снижением общего карнитина и ацилкарнитинов и повышением свободного карнитина, что предположительно указывает на HIF-1 α -опосредованное нарушение β -окисление жирных кислот.

6. Уровень CRAT в плазме крови обладает потенциалом в качестве прогностического маркера, отражающего тяжесть метаболического стресса и гипоксического повреждения клеток при COVID-19 пневмонии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение уровня С-реактивного белка, фибриногена и индекса отношения нейтрофилов к лимфоцитам в сыворотке крови рекомендуется для оценки выраженности системного воспаления у пациентов с COVID-19 пневмонией. Данные показатели могут быть ключевым для стратификации рисков и определения тактики лечения.

2. При выборе метода и объема респираторной терапии, а также для прогнозирования вероятности неблагоприятного исхода, рекомендуется использовать индекс ROX. Этот показатель помогает оптимизировать респираторную поддержку и прогнозировать течение заболевания.

3. Изучение показателей HIF-1 α в плазме крови может быть полезным для прогнозирования исхода заболевания. Определение уровня HIF-1 α может отражать степень выраженности гипоксии и формирование адаптационных механизмов, что может помочь в оценке тяжести состояния пациента.

4. Определение уровня CRAT в плазме крови может использоваться для оценки тяжести метаболических нарушений и повреждения клеток, вызванных гипоксией. Это может помочь в ранней диагностике и коррекции метаболических дисбалансов, влияющих на течение COVID-19 пневмонии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АПФ-2	– ангиотензин-превращающий фермент 2
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
АТФ	– аденозинтрифосфат
АФК	– активные формы кислорода
ВОЗ	– Всемирная организация здравоохранения
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖК	– жирные кислоты
ИВЛ	– искусственная вентиляция лёгких
ИМТ	– индекс массы тела
ИФА	– иммуноферментный анализ
КТ	– компьютерная томография органов грудной клетки
мРНК	– матричная рибонуклеиновая кислота
НИВЛ	– неинвазивная искусственная вентиляция лёгких
ОРВИ	– острая респираторная вирусная инфекция
ОРДС	– острый респираторный дистресс-синдром
ОРИТ	– отделение реанимации и интенсивной терапии
ПЦР	– тест полимеразной цепной реакции
РАС	– ренин-ангиотензиновая система
СРБ	– С-реактивный белок
ЦТК	– цикл трикарбоновых кислот
ЧДД	– частота дыхательных движений
ADAM17	– a disintegrin and metalloprotease 17, металлопротеиназный домен ADAM17
СВР/p300	– ко-активаторы CREB-связывающего белка
CCI	– Charlson comorbidity index, индекс коморбидности Чарлсона
CCL-5, 28	– chemokine ligand, лиганд хемокина

CO ₂	– carbon dioxide, углекислый газ
COVID-19	– coronavirus disease 2019, коронавирусная болезнь 2019
CPT1A	– carnitine palmitoyltransferase 1A, карнитин-пальмитоилтрансферазой 1A
CRAT	– carnitine O-acetyltransferase, карнитин-ацетилтрансфераза
CXCL-5, 8, 9, 10	– chemokine (C-C motif) ligand, мотив лиганда хемокина C-C (C-X-C 9, C-X-C 10, C-X-C 5)
DAMP's	– damage associated molecular patterns, молекулярные структуры, связанные с повреждением
EGLN 1, 2, 3	– egl nine homolog 1, фермент кодирующий PHD 2, 1, 3
eNOS	– endothelial nitric oxide synthase (NOS III), эндотелиальная синтаза оксида азота
EPAS1	– endothelial PAS domain-containing protein 1, эндотелиальный PAS-домен-содержащий белок 1
FiO ₂	– fraction of inspired oxygen, фракция кислорода во вдыхаемом воздухе
H ₂ S	– hydrogen sulphide, сероводород
H3K9	– histone 3, гистон 3
HIF	– hypoxia inducible factor, фактор, индуцированный гипоксией
HIF-1A, 3A	– gene hypoxia inducible factor 1 α , 3 α , ген кодирующий фактор, индуцированный гипоксией 1 α , 3 α
HIF-1 α , 1 β , 2 α , 3 α	– hypoxia inducible factor 1 α , 1 β , 2 α , 3 α , фактор, индуцированный гипоксией 1 α , 1 β , 2 α , 3 α
HRE	– hypoxia-responsive elements, элементы ответа на гипоксию
IL-1 β , 1R, 2, 6, 8, 10, 13, 18, 33	– interleukin 1 β , 1R, 2, 6, 8, 10, 13, 18, 33, интерлейкин 1 β , 1R, 2, 6, 8, 10, 13, 18, 33
iNOS	– inducible nitric oxide synthase (NOS II), индуцибельная синтаза оксида азота

IP-10	– interferon gamma-induced protein 10, интерферон-гамма-индуцируемый белок
JmjC	– домен Jumonji C
KDM	– histone lysine demethylase, гистоновые лизинозные деметилазы
KMT	– histone methyltransferases, гистоновые метилтрансферазы
LDHA	– lactate dehydrogenase A, лактатдегидрогеназа A
MCP-1, 3	– monocyte chemoattractant protein-3, моноцитарный хемоаттрактантный белок 1, 3
NETs	– neutrophil extracellular traps, нейтрофильные клеточные ловушки
NEWS-2	– шкала оценки тяжести состояния пациентов с COVID-19, National Early Warning Score 2
NF-κB	– nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, ядерный транскрипционный фактор «каппа-би»
NLR	– neutrophil-to-lymphocyte ratio, индекс отношения нейтрофилов к лимфоцитам
NO	– nitric oxygen, оксид азота
PaO ₂ /FiO ₂	– респираторный индекс
PDK1	– pyruvate dehydrogenase kinase 1, киназа пируватдегидрогеназы 1
PHD 1, 2, 3	– prolyl hydroxylase 1, 2, 3, пролилгидроксилаза 1, 2, 3
PLR	– platelet-to-lymphocyte ratio, индекс отношения тромбоцитов к лимфоцитам
pVHL	– von Hippel-Lindau protein, белок фон Хиппеля-Линдау
qSOFA	– quick sequential organ failure assessment, шкала быстрой последовательной оценки органной недостаточности
ROX	– respiratory rate-oxygenation, индекс частоты-оксигенации
SARS-CoV-2	– severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2, коронавирус тяжёлого острого респираторного синдрома 2
SpO ₂	– peripheral oxygen saturation, уровень насыщения крови

	кислородом
TMPRSS2	– transmembrane protease serine 2, мембранно-связанная сериновая протеаза 2
TNF- α	– tumor necrosis factor α , фактора некроза опухоли α
VEGF-A	– vascular endothelial growth factor A, фактор роста эндотелия сосудов A
VEGFR1	– vascular endothelial growth factor receptor 1, рецептор 1 фактора роста эндотелия сосудов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бегова, М. Р. Новая коронавирусная инфекция COVID-19 / М. Р. Бегова, С. В. Нетесов, Ю. С. Аульченко // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2020. – Т. 38, №2. – С. 51–58
2. Гипоксией индуцируемый фактор (HIF): структура, функции и генетический полиморфизм / А. Г. Жукова, А. С. Казицкая, Т. Г. Сазонтова [и др.] // Гигиена и санитария. – 2019. – Т. 98, №7. – С. 723–728.
3. Гипоксия и окислительный стресс при COVID-19 как факторы, влияющие на течение заболевания и развитие осложнений беременности / И. А. Андриевская, Н. А. Ишутина, И. В. Довжикова [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2023. – Т. 90. – С. 74–82.
4. Зайцева, Н. В. Пространственно-динамическая неоднородность течения эпидемического процесса COVID-19 в субъектах Российской Федерации (2020–2023 гг.) / Н. В. Зайцева, С. В. Клейн, М. В. Глухих // Анализ риска здоровью. – 2023. – № 2. – С. 4–16.
5. Значение инструментальных методов в диагностике пневмонии при коронавирусной инфекции / В. Б. Войтенков, Н.В. Марченко, Н.В. Скрипченко [и др.] // Педиатрия. Consilium Medicum. – 2020. – Т. 1. – С. 20–25.
6. Исследование динамики HIF-1 α , HIF-2 α и VEGF-A в плазме крови, как потенциальных маркеров эндотелиальной дисфункции и острого респираторного дистресс-синдрома у пациентов с тяжёлым течением COVID-19 пневмонии / С. Н. Райцев, В. И. Звягина, Д. А. Максаев [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2025. – Т. 28, №12. – С. 77-83.
7. Исследование компонентов HIF-1 α -сигнального пути в плазме крови у пациентов с COVID-19 инфекцией различной степени тяжести / С. Н. Райцев, В. И. Звягина, Э. С. Бельских [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2024. – Т. 27, № 4. – С. 57–62.
8. Исследование сывороточных уровней молекул HIF-1A и HIF-2A у

пациентов с COVID-19 / Д.О. Мельников, С.Н. Райцев, В.И. Звягина [и др.] // В книге: Биохимия человека. материалы всероссийской конференция с международным участием. Москва, 2024. – С. 136.

9. Лабораторные показатели коагуляции и воспаления у пациентов с коронавирусной инфекцией / А. Б. Агапов, Р. Е. Калинин, И. А. Сучков [и др.] // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2025. – Т. 20, № 1. – С. 127–133.

10. Литвицкий, П. Ф. Гипоксия / П. Ф. Литвицкий // Вопросы современной педиатрии. – 2016. – Т. 15, №1. – С. 45–58.

11. Лукьянова, Л. Д. Сигнальные механизмы гипоксии / Л.Д. Лукьянова, – М: РАН, 2019. – 215 с. ил.

12. Любавин, А. В. Особенности течения острого коронарного синдрома у пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 / А. В. Любавин, С. Н. Котляров // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2022. – Т. 10, №1. – С. 101–112.

13. Метельская, В. А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови / В. А. Метельская, Н. Г. Гуманова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – №6. – С. 15–18.

14. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции / А. В. Шабров, А. С. Галенко, Ю. П. Успенский [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2021. – Т. 20, № 2. – С. 202–209.

15. Механизмы развития легочного повреждения у пациентов с новой коронавирусной инфекцией / О.В. Военнов, В. И. Загреков, Г. А. Бояринов [и др.] // Медицинский альманах. – 2020. – Т. 64, № 3. – С. 15–26.

16. Морозов В. Н., Гладких П. Г., Хадарцева К. А. Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови / В. Н. Морозов, П. Г. Гладких, К. А. Хадарцева // Вестник новых медицинских технологий. – 2016. – Т. 10, №1. – С. – 241-252.

17. Нефедова, Н. А. Роль сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и гипоксия-индуцибельного фактора (HIF) в опухолевом ангиогенезе / Н. А. Нефедова, С. Ю. Давыдова // Современные проблемы науки и образования. –

2015. – № 3. – С. 51.

18. Новиков, В. Е. Гипоксией индуцированный фактор (HIF-1 α) как мишень фармакологического воздействия / В. Е. Новиков, О. С. Левченкова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2013. – Т. 11, № 2. – С. 8–16.

19. Оценка взаимосвязи рентгенологических изменений и степени тяжести заболевания у пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 / А.Д. Струтынская, Д. С. Кошурников, И.Е. Тюрин [и др.] // Альманах клинической медицины. – 2021. – Т. 49, №2. – С. 171-178.

20. Оценка взаимосвязи HIF-2 α плазмы крови и показателей тяжести течения COVID-19 / Д. О. Мельников, С. Н. Райцев, В. И. Звягина [и др.] // Известия ГГТУ. Медицина, фармация. – 2024. – Т. 19, №3. – С. 11–18.

21. Патент № 2820018 С1 Российская Федерация, МПК А61В 8/13, А61В 5/145, А61В 5/08. Способ прогнозирования риска летального исхода у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 инфекции: № 2024101909: заявлено 26.01.2024: опубликовано 28.05.2024 / Р. Е. Калинин, И. А. Сучков, С. Н. Райцев [и др.]; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

22. Патент № 2845112 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/68, G01N 33/70, G01N 33/573. Способ прогнозирования исхода заболевания у пациентов с тяжёлыми формами острой COVID-19 инфекции: заявлено 09.01.2025: опубликовано 13.08.2025 / С. Н. Райцев, В. И. Звягина, Э. С. Бельских; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

23. Патент № 2846792 С1 Российская Федерация, МПК А61В 5/024, А61В 6/50, G01N 33/68. Способ прогнозирования исхода острой COVID-19 инфекции со среднетяжёлой, тяжёлой и крайне тяжёлой степенью течения: заявлено. 20.12.2024: опубликовано 15.09.2025 / Р. Е. Калинин, И. А. Сучков, С. Н. Райцев [и др.]; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

24. Поляризация макрофагов: механизмы, маркеры и факторы индукции / А. А. Федоров, Н. А. Ермак, Т. С. Геращенко [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2022. – Т. 21, № 4. – С. 124–136.

25. Приходько, В. А. Молекулярные механизмы развития гипоксии и адаптации к ней. Часть I / В. А. Приходько, Н. О. Селизарова, С. В. Оковитый // Архив патологии. – 2021. – Т. 83, № 2. – С. 52–61.

26. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV): Временные методические рекомендации. Версия 9: приказ от 26 октября 2020 г. [Электронный ресурс]. – 2020. – Режим доступа: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/052/550/original/MP_COVID-19_%28v9%29.pdf?1603788097

27. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV): Временные методические рекомендации. Версия 10: приказ от 8 февраля 2021г. [Электронный ресурс]. – 2021. – Режим доступа: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/054/662/original/Временные_MP_COVID-19_%28v.10%29.pdf

28. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV): Временные методические рекомендации. Версия 11: приказ от 7 мая 2021 г. [Электронный ресурс]. – 2021. – Режим доступа: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=392173#h3357>

29. Путилина, М. В. Эндотелий – мишень для новых терапевтических стратегий при сосудистых заболеваниях головного мозга / М. В. Путилина // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117, №10. – С. 122–130.

30. Райцев, С. Н. Роль HIF-1 α в развитии дисбаланса карнитинового обмена при тяжёлом течении COVID-19 пневмонии / С. Н. Райцев, В. И. Звягина, Ю. А. Марсянова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2026. Т. 29, №1. – С. 59-66.

31. Реакция эритроидного ростка кроветворения на опухолевый рост у больных раком легкого / Ю. А. Рагулин, О. С. Измestьева, В. В. Вапняр [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2017. – Т. 16, №1. – С. 53–58.

32. Роль мембранной и циркулирующей форм ACE 2 в развитии различных

патологических процессов на фоне COVID-19 / Ю. В. Чебуркин, Д. Л. Сонин, А. С. Полозов [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2021. – Т. 27, №6. – С. 608–616.

33. Роль ренин-ангиотензиновой системы и ангиотензинпревращающего фермента 2 типа в развитии и течении вирусной инфекции COVID-19 у пациентов с сахарным диабетом / О. К. Викулова, З. Т. Зураева, Л. В. Никанкина [и др.] // Сахарный диабет. – 2020. – Т. 23, №3. – С. 242–249.

34. Роль фактора, индуцируемого гипоксией, 1α при адаптации к гипоксии в патогенезе новой коронавирусной болезни 2019 / Р. Е. Калинин, И. А. Сучков, С. Н. Райцев [и др.] // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. – 2024. – Т. 32, №1. – С. 133–144.

35. Роль HIF- 1α в иммунопатогенезе SARS-COV-2-пневмонии / Е. В. Волчкова, Н. А., Кузубова, Ю. С. Александрович [и др.] // Анестезиология и реаниматология. – 2022. – Т. 5. – С. 71–78.

36. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2025685410 Российская Федерация. Программа прогнозирования исхода у пациентов с COVID-19: №2025682665: заявлено 01.08.2025: опубликовано 23.09.2025 / С. Н. Райцев, В. И. Звягина, Э. С. Бельских [и др.]; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

37. Современные представления о новом коронавирусе и заболевании, вызванном SARS-COV-2 / М. П. Костинов, А. Д. Шмитько, В. Б. Полищук [и др.] // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2020. – Т. 9, №2. – С. 33–42.

38. Состояние эндотелия и оксид азота при сердечной недостаточности / В. С. Задионченко, И. В. Погонченкова, О. И. Нестеренко [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2005. – Т. 51, №1. – С. 80–87.

39. Титова, О. Н. Роль гипоксийного сигнального пути в адаптации клеток к гипоксии / О. Н. Титова, Н. А. Кузубова, Е. С. Лебедева // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2020. – Т. 4, №4. – С. 207–213.

40. Уровни HIF- 1α и TGF- $\beta 1$ в сыворотке крови в зависимости от клинико-морфологических характеристик и чувствительности рака молочной железы к

неoadьювантной химиотерапии / Е. Ю. Зубарева, М. А. Сеньчукова, Е. В. Вирич [и др.] // Исследования и практика в медицине. – 2021. – Т. 8, № 4. – С. 53–64.

41. Фактор, индуцируемый гипоксией-1 (HIF-1), как биомаркер острого повреждения почек у больных с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности / Е. В. Ефремова, А. М. Шутов, Е. Р. Макеева [и др.] // Кардиология. – 2019. – Т. 59, № 2S. – С. 25–30.

42. Факторы, индуцируемые гипоксией: детали создают «картину». Часть II. HIF-2 / Г. А. Игнатенко, Н. Н. Бондаренко, А. В. Дубовая [и др.] // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2023. – Т. 8, № 4. – С. 85–100.

43. COVID-19: ТОЛЬКО НАУЧНЫЕ ФАКТЫ / К. В. Жмеренецкий, Е. Н. Сазонова, Н. В. Воронина [и др.] // Дальневосточный медицинский журнал. – 2020. – № 1. – С. 5-22.

44. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9 / M. Donoghue, F. Hsieh, E. Baronas [et al.] // Circulation Research. – 2000. – Vol. 87, №5. P. 1-9.

45. A rampage through the body / M. Wadman, J. Couzin-Frankel, J. Kaiser [et al.] // Science. – 2020. – Vol. 368, №6489. – P. 356–360.

46. A role of hypoxia-inducible factor 1 alpha in Murine Gammaherpesvirus 68 (MHV68) lytic replication and reactivation from latency / D. M. López-Rodríguez, V. Kirillov, L. T. Krug [et al.] // PLoS pathogens. – 2019. – Vol. 15, №2. – P. 1008192.

47. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas Receptor Axis in Inflammation and Fibrosis / A. C. S. Silva, K. D. Silveira, A. J. Ferreira [et al.] // British journal of pharmacology. – 2013. – Vol. 169, №3. P. 477-492.

48. Acute respiratory distress syndrome / M. A. Matthay, R. L. Zemans, G. A. Zimmerman [et al.] // Nature reviews. Disease primers. – 2019. – Vol. 5, №1. – P. 18.

49. Acute Respiratory Distress Syndrome Neutrophils Have a Distinct Phenotype and Are Resistant to Phosphoinositide 3-Kinase Inhibition / J. K. Juss, D. House, A. Amour [et al.] // American journal of respiratory and critical care medicine. – 2016. – Vol. 194, №8. – P. 961–973.

50. Aird, W. C. Endothelium and haemostasis / W. C. Aird // Hamostaseologie.

– 2015. – Vol. 35, №1. – P. 11–16.

51. Ali, A. M. Hypoproteinemia predicts disease severity and mortality in COVID-19: a call for action / A. M. Ali, H. Kunugi // *Diagnostic pathology*. – 2021. – Vol. 16, №1. – P. 31.

52. Al-Dhuayan, I. S. Biomedical role of L-carnitine in several organ systems, cellular tissues, and COVID-19 // I. S. Al-Dhuayan // *Brazilian Journal of Biology*. – 2022. – Vol. 82. – P. e267633.

53. Altered expression of platelet proteins and calpain activity mediate hypoxia-induced prothrombotic phenotype / T. Tyagi, S. Ahmad, N. Gupta [et al.] // *Blood*. – 2014. – Vol. 123, №8. – P. 1250–1260.

54. Alveolar macrophage dysfunction and cytokine storm in the pathogenesis of two severe COVID-19 patients / C. Wang, J. Xie, L. Zhao [et al.] // *EBioMedicine*. – 2020. – Vol. 57. – P. 102833.

55. An Index Combining Respiratory Rate and Oxygenation to Predict Outcome of Nasal High-Flow Therapy / O. Roca, B. Caralt, J. Messika [et al.] // *American journal of respiratory and critical care medicine*. – 2019. – Vol. 199, №11. – P. 1368–1376.

56. Andrews, N. C. Forging a field: the golden age of iron biology / N. C. Andrews // *Blood*. – 2008. – Vol. 112, №2. – P. 219–230.

57. Angiotensin converting enzyme 2 is primarily epithelial and is developmentally regulated in the mouse lung / R. S. Wiener, Y. X. Cao, A. Hinds [et al.] // *Journal of cellular biochemistry*. – 2007. – Vol. 101, №5. – P. 1278–1291.

58. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target / H. Zhang, J. M. Penninger, Y. Li [et al.] // *Intensive care medicine*. – 2020. – Vol. 46, №4. – P. 586–590.

59. Application of serum exosomal hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF-1 α) as potential circulating biomarker for bacterial peritonitis / X. Y. Chen, Q. L. Wang, W.X. Huang [et al.] // *Bioengineered*. – 2022. – Vol. 13, №2. – P. 1975–1987.

60. Arterial Blood Gas Analysis of Critically Ill Corona Virus Disease 2019 Patients / J. Lakhani, S. Kapadia, H. Pandya [et al.] // *Asian Journal of Research in Infectious Diseases*. – 2021. – Vol. 6, №3. – P. 51–63.

61. Bacterial lipopolysaccharide induces HIF-1 activation in human monocytes via p44/42 MAPK and NF-kappaB / S. Frede, C. Stockmann, P. Freitag [et al.] // *The Biochemical Journal*. – 2006. – Vol. 396, №3. – P. 517–527
62. Batah, S. S. Pulmonary pathology of ARDS in COVID-19: A pathological review for clinicians / S. S. Batah, A. T. Fabro // *Respiratory medicine*. – 2021. – Vol. 176. – P. 106239.
63. Benizri, E. The magic of the hypoxia-signaling cascade / E. Benizri, A. Ginouvès, E. Berra // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2008. – Vol. 65, №7-8. – P. 1133–1149.
64. Bremer, J. Carnitine--metabolism and functions / J. Bremer // *Physiological reviews*. – 1983. – Vol. 63, №4. – P. 1420–1480.
65. Carnitine O-Acetyltransferase as a Central Player in Lipid and Branched-Chain Amino Acid Metabolism, Epigenetics, Cell Plasticity, and Organelle Function / M. Volpicella, M. N. Sgobba, L. Laera [et al.] // *Biomolecules*. – 2025. – Vol. 15, №2. – P. 216.
66. Cell Adhesion Molecules and Vascular Endothelial Growth Factor at the Systemic and Alveolar Level in Coronavirus Disease 2019 Acute Respiratory Distress Syndrome / M. K. Kristensen, R. R. Plovsing, R. M. G. Berg [et al.] // *The Journal of infectious diseases*. – 2021. – Vol. 224, №6. – P. 1101–1103.
67. Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha / N. V. Iyer, L. E. Kotch, F. Agani Brzecka [et al.] // *Genes & development*. – 1998. – Vol. 12, №2. – P. 149–162.
68. Characteristics of COVID-19 infection in Beijing / S. Tian, N. Hu, J. Lou [et al.] // *The Journal of infection*. – 2020. – Vol. 80, №4. – P. 401–406.
69. Characteristics of disease progress in patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China / M. Ji, L. Yuan, W. Shen [et al.] // *Epidemiology and infection*. – 2020. – Vol. 148. – P. 94.
70. Chronic and Cycling Hypoxia: Drivers of Cancer Chronic Inflammation through HIF-1 and NF-κB Activation: A Review of the Molecular Mechanisms / J. Korbecki, D. Simińska, M. Gąssowska-Dobrowolska [et al.] // *International journal of*

molecular sciences. – 2021. – Vol. 22, №19. – P. 10701.

71. Cinar, R. Dual inhibition of CB₁ receptors and iNOS, as a potential novel approach to the pharmacological management of acute and long COVID-19 / R. Cinar, M. R. Iyer, G. Kunos // *British journal of pharmacology*. – 2022. – Vol. 179, №10. – P. 2121–2127.

72. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019 / G. Chen, D. Wu, W. Guo [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. – 2020. – Vol. 130, №5. – P. 2620–2629.

73. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study / T. Chen, D. Wu, H. Chen [et al.] // *BMJ (Clinical research ed.)*. – 2020. – Vol. 368. – P. 1091.

74. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China / D. Wang, B. Hu, C. Hu [et al.] // *JAMA* – 2020. – Vol. 323, №11. – P. 1061–1069.

75. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China / W. J. Guan, Z. Y. Ni, Y. Hu [et al.] // *The New England journal of medicine*. – 2020. – Vol. 382, №18. – P. 1708-1720.

76. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study / X. Yang, Y. Yu, J. Xu [et al.] // *The Lancet. Respiratory medicine*. – 2020. – Vol. 8, №5. – P. 475–481.

77. Clinical Features of Patients Infected with 2019 Novel Coronavirus in Wuhan, China / C. Huang, Y. Wang, X. Li [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395. – P. 497–506.

78. Colombo, M. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles / M. Colombo, G. Raposo, C. Théry // *Annual review of cell and developmental biology*. – 2014. – Vol. 30. – P. 255–289.

79. Comparison of Chest CT Grading Systems in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia / S. Inui, R. Kurokawa, Y. Nakai [et al.] // *Radiology. Cardiothoracic imaging*. – 2020. – Vol. 2, №6. – P. e200492.

80. Coronavirus Disease (COVID-19): Spectrum of CT Findings and Temporal Progression of the Disease / M. Li, P. Lei, B. Zeng [et al.] // *Academic radiology*. – 2020. – Vol. 27, №5. – P. 603–608.
81. Counter-regulatory renin-angiotensin system in cardiovascular disease / M. Paz Ocaranza, J. A. Riquelme, L. García [et al.] // *Nature reviews. Cardiology*. – 2020. – Vol. 17, №2. P. 116–129.
82. COVID-19 and Acute Kidney Injury / J. Hilton, N. Boyer, M. Nadim [et al.] // *Critical care clinics*. – 2022. – Vol. 38, №3. P. 473–489.
83. COVID-19 and Diabetes: A Comprehensive Review of Angiotensin Converting Enzyme 2, Mutual Effects and Pharmacotherapy / L. Xie, Z. Zhang, Q. Wang [et al.] // *Frontiers in endocrinology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 772865.
84. COVID-19 and Neutrophils: The Relationship between Hyperinflammation and Neutrophil Extracellular Traps / L. Borges, T. C. Pithon-Curi, R. Curi [et al.] // *Mediators of inflammation*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 8829674.
85. COVID-19: a viewpoint from hepatic perspective / A. Brizawasi, A. K. Ahirwar, Prabhat [et al.] // *Hormone molecular biology and clinical investigation*. – 2022. – Vol. 44, №1. P. 97–103.
86. COVID-19: Clinical laboratory diagnosis and monitoring of novel coronavirus infected patients using molecular, serological and biochemical markers: A review / G. Rasool, M. Riaz, M. Abbas [et al.] // *International journal of immunopathology and pharmacology*. – 2022. – Vol. 36. – P. 3946320221115316.
87. CPT1A/HIF-1 α positive feedback loop induced fatty acid oxidation metabolic pathway contributes to the L-ascorbic acid-driven angiogenesis in breast cancer / X. Ma, B. Zhang, X. Yin [et al.] // *Breast cancer research: BCR*. – 2025. – Vol. 27, №1. – P. 74.
88. Del Vecchio, L. Investigational hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors (HIF-PHI) for the treatment of anemia associated with chronic kidney disease / L. Del Vecchio, F. Locatelli // *Expert opinion on investigational drugs*. – 2018. – Vol. 27, №7. – P. 613–621.
89. Detectable Serum Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral

Load (RNAemia) Is Closely Correlated With Drastically Elevated Interleukin 6 Level in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019 / X. Chen, B. Zhao, Y. Qu [et al.] // *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. – 2020. – Vol. 71, №8. – P. 1937–1942.

90. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR / V. M. Corman, O. Landt, M. Kaiser [et al.] // *Eurosurveillance*. – 2020. – Vol. 25, №3. – P. 2431.

91. Differential activation and antagonistic function of HIF- α isoforms in macrophages are essential for NO homeostasis / N. Takeda, E. L. O'Dea, A. Doedens [et al.] // *Genes & development*. – 2010. – Vol. 24, №5. – P. 491–501.

92. Differential but Complementary HIF1 α and HIF2 α Transcriptional Regulation / N. I. Downes, N. Laham-Karam, M. U. Kaikkonen [et al.] // *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy*. – 2018. – Vol. 26, №7. – P. 1735–1745.

93. Differential regulation of the transcriptional activities of hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF-1alpha) and HIF-2alpha in stem cells / C. J. Hu, S. Iyer, A. Sataur [et al.] // *Molecular and cellular biology*. – 2006. – Vol. 26 №9. – P. 3514–3526.

94. Distal and proximal hypoxia response elements cooperate to regulate organ-specific erythropoietin gene expression / I. M. C. Orlando, V. N. Lafleur, F. Storti [et al.] // *Haematologica*. – 2020. – Vol. 105, №12. – P. 2774–2784.

95. Dual targeting of the androgen receptor and hypoxia-inducible factor 1 α pathways synergistically inhibits castration-resistant prostate cancer cells / E. V. Fernandez, K. M. Reece, A. M. Ley [et al.] // *Molecular pharmacology*. – 2015. – Vol. 87, №6. – P. 1006–1012.

96. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China / C. Qin, L. Zhou, Z. Hu [et al.] // *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. – 2020. – Vol. 71, №15. – P. 762–768.

97. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia / Q. Li, X. Guan, P. Wu [et al.] // *The New England journal of*

medicine. – 2020. – Vol. 382, №13. – P. 1199-1207.

98. Eltzschig, H. K. Hypoxia and inflammation / H. K. Eltzschig, P. Carmeliet // *The New England journal of medicine*. – 2011. – Vol. 364, №7. – P. 656–665.

99. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 / Z. Varga, A. J. Flammer, P. Steiger [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395, №10234. – P. 1417–1418.

100. Endothelial dysfunction due to eNOS uncoupling: molecular mechanisms as potential therapeutic targets / A. Janaszak-Jasiecka, A. Płoska, J. M. Wierońska [et al.] // *Cellular & molecular biology letters*. – 2023. – Vol. 28, №1. – P. 21.

101. Endothelium Infection and Dysregulation by SARS-CoV-2: Evidence and Caveats in COVID-19 / I. Bernard, D. Limonta, L. K. Mahal [et al.] // *Viruses*. – 2020. – Vol. 13, №1. – P. 29.

102. eNOS expression and NO release during hypoxia is inhibited by miR-200b in human endothelial cells / A. Janaszak-Jasiecka, A. Siekierzycka, S. Bartoszewska [et al.] // *Angiogenesis*. – 2018. – Vol. 21, №4. – P. 711–724.

103. Epidemiologic and clinical characteristics of 91 hospitalized patients with COVID-19 in Zhejiang, China: a retrospective, multi-centre case series / G. Q. Qian, N. B. Yang, F. Ding [et al.] // *QJM: monthly journal of the Association of Physicians*. – 2020. – Vol. 113, №7. – P. 474–481.

104. Epidemiological and Clinical Characteristics of 99 Cases of 2019 Novel Coronavirus Pneumonia in Wuhan, China: A Descriptive Study / N. Chen, M. Zhou, X. Dong [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395. – P. 507-513.

105. Epidemiological and Clinical Characteristics of the First 557 Successive Patients with COVID-19 in Pernambuco State, Northeast Brazil. / J. J. F. de Magalhaes, R. P. G. Mendes, C. T. A. da Silva [et al.] // *Travel medicine and infectious disease*. – 2020. – Vol. 38. – P. 101884.

106. Epigenetic regulation by histone demethylases in hypoxia / R. L. Hancock, K. Dunne, L. J. Walport [et al.] // *Epigenomics*. – 2015. – Vol. 7, №5. – P. 791–811.

107. Evolutionary conserved regulation of HIF-1 β by NF- κ B / P. van Uden, N. S. Kenneth, R. Webster [et al.] // *PLoS genetics*. – 2011. – Vol. 7, №1. – P. 1001285.

108. Expression of the oxygen-sensitive transcription factor subunit HIF-1 α in

patients suffering from secondary Raynaud syndrome / L. A. Heger, M. Kerber, M. Hortmann [et al.] // *Acta pharmacologica Sinica*. – 2019. – Vol. 40, №4. – P. 500–506.

109. Extrapulmonary manifestations of COVID-19 / A. Gupta, M. V. Madhavan, K. Sehgal [et al.] // *Nature medicine*. – 2020. – Vol. 26, №7. – P. 1017–1032.

110. Fibrinolytic activity of endothelial cells from different venous beds / N. G. Kumar, A. Clark, E. Roztocil [et al.] // *The Journal of surgical research*. – 2015. – Vol. 194, №1. – P. 297–303.

111. FIH-1 is an asparaginyl hydroxylase enzyme that regulates the transcriptional activity of hypoxia-inducible factor / D. Lando, D. J. Peet, J. J. Gorman [et al.] // *Genes & development*. – 2002. – Vol. 16, №12. – P. 1466–1471.

112. Frontline Science: COVID-19 infection induces readily detectable morphologic and inflammation-related phenotypic changes in peripheral blood monocytes / D. Zhang, R. Guo, L. Lei [et al.] // *Journal of leukocyte biology*. – 2021. – Vol. 109, №1. – P. 13–22.

113. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients / M. Zheng, Y. Gao, G. Wang [et al.] // *Cellular & molecular immunology*. – 2020. – Vol. 17, №5. – P. 533–535.

114. Galván-Peña, S. Metabolic reprogramming in macrophage polarization / S. Galván-Peña, L. A. J. O'Neill // *Frontiers in immunology*. – 2014. – Vol. 5. – P. 420.

115. Generation of renal Epo-producing cell lines by conditional gene tagging reveals rapid HIF-2 driven Epo kinetics, cell autonomous feedback regulation, and a telocyte phenotype / F. Imeri, K. A. Nolan, A. M. Bapst [et al.] // *Kidney international*. – 2019. – Vol. 95, №2. – P. 375–387.

116. Glucocorticoid excess and COVID-19 disease / V. Guarnotta, R. Ferrigno, M. Martino [et al.] // *Reviews in endocrine & metabolic disorders*. – 2021. – Vol. 22, №4. – P. 703–714.

117. Gupta, N. The stimulation of thrombosis by hypoxia / N. Gupta, Y. Y. Zhao, C. E. Evans // *Thrombosis research*. – 2019. – Vol. 181. – P. 77–83.

118. Haematological characteristics and risk factors in the classification and prognosis evaluation of COVID-19: a retrospective cohort study / D. Liao, F. Zhou, L.

Luo [et al.] // *The Lancet. Haematology*. – 2020. – Vol. 7, №9. – P. 671–678.

119. Hantoushzadeh, S. Possible Cause of Inflammatory Storm and Septic Shock in Patients Diagnosed with (COVID-19) / S. Hantoushzadeh, A. H. Norooznezhad // *Archives of medical research*. – 2020. – Vol. 51, №4. – P. 347–348.

120. Helmet CPAP to Treat Acute Hypoxemic Respiratory Failure in Patients with COVID-19: A Management Strategy Proposal / D. Radovanovic, M. Rizzi, S. Pini [et al.] // *Journal of clinical medicine*. – 2020. – Vol. 9, №4. – P. 1191.

121. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis / B. M. Henry, M. H. S. de Oliveira, S. Benoit [et al.] // *Clinical chemistry and laboratory medicine*. – 2020. – Vol. 58, №7. – P. 1021-1028.

122. Hematological findings and complications of COVID-19 / E. Terpos, I. Ntanasis-Stathopoulos, I. Elalamy [et al.] // *American journal of hematology*. – 2020. Vol. 95, №7. – P. 834-847.

123. Hepatic HIF-2 regulates erythropoietic responses to hypoxia in renal anemia / P. P. Kapitsinou, Q. Liu, T. L. Unger [et al.] // *Blood*. – 2010. – Vol. 116, №16. – P. 3039–3048.

124. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia / J. W. Kim, I. Tchernyshyov, G. L. Semenza [et al.] // *Cell metabolism*. – 2006. – Vol. 3, №3. – P. 177–185.

125. HIF-1-mediated production of exosomes during hypoxia is protective in renal tubular cells / W. Zhang, X. Zhou, Q. Yao [et al.] // *American journal of physiology. Renal physiology*. – 2017. – Vol. 313, №4. – P. F906–F913.

126. Hif-2 α regulates lipid metabolism in alcoholic fatty liver disease through mitophagy / M. Wu, G. Zhang, T. Liu [et al.] // *Cell & Bioscience*. – 2022. – Vol.12. – P. 198.

127. Hirota, K. Hypoxia-dependent signaling in perioperative and critical care medicine / K. Hirota // *Journal of anesthesia*. – 2021. – Vol. 35, №5. – P. 741–756.

128. Histone demethylase KDM6A directly senses oxygen to control chromatin and cell fate / A. A. Chakraborty, T. Laukka, M. Myllykoski [et al.] // *Science*. – 2019. –

Vol. 363, №6432. – P. 1217–1222.

129. Host-Viral Infection Maps Reveal Signatures of Severe COVID-19 Patients / P. Bost, A. Giladi, Y. Liu [et al.] // *Cell*. – 2020. – Vol. 181, №7. – P. 1475–1488.

130. Hubmacher, D. The biology of the extracellular matrix: novel insights / D. Hubmacher, S. S. Apte // *Current opinion in rheumatology*. – 2013. – Vol. 25, №1. – P. 65–70.

131. Hunyor, I. Models of intermittent hypoxia and obstructive sleep apnea: molecular pathways and their contribution to cancer / I. Hunyor, K. M. Cook // *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. – 2018. – Vol. 315, №4. – P. 669–687.

132. Hypercapnia Suppresses the HIF-dependent Adaptive Response to Hypoxia / A. C. Selfridge, M. A. Cavadas, C. C. Scholz [et al.] // *The Journal of biological chemistry*. – 2016. – Vol. 291 №22. – P. 11800–11808.

133. Hypoxia downregulates protein S expression / V. S. Pilli, A. Datta, S. Afreen Kaiser [et al.] // *Blood*. – 2018. – Vol. 132, №4. – P. 452–455.

134. Hypoxia, HIF-1 α , and COVID-19: from pathogenic factors to potential therapeutic targets / Z. O. Serebrovska, E. Y. Chong, T. V. Serebrovska [et al.] // *Acta pharmacologica Sinica*. – 2020. – Vol. 41, №12. – P. 1539-1546.

135. Hypoxia induces rapid changes to histone methylation and reprograms chromatin / M. Batie, J. Frost, M. Frost [et al.] // *Science*. – 2019. – Vol. 363, №6432. – P. 1222–1226.

136. Hypoxia promotes pulmonary vascular remodeling via HIF-1 α to regulate mitochondrial dynamics / X. Chen, J. M. Yao, X. Fang [et al.] // *Journal of geriatric cardiology: JGC*. – 2019. – Vol. 16, №12. – P. 855–871.

137. Hypoxia signaling in human health and diseases: implications and prospects for therapeutics / Z. Luo, M. Tian, G. Yang [et al.] // *Signal transduction and targeted therapy*. – 2022. – Vol. 7, №1. – P. 218.

138. Hypoxia-induced neutrophil survival is mediated by HIF-1 α -dependent NF- κ B activity / S. R. Walmsley, C. Print, N. Farahi [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. – 2005. – Vol. 201, №1. – P. 105–115.

139. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension / G. L. Wang, B. H. Jiang, E. A. Rue [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1995. – Vol. 92, №12. – P. 5510–5514.
140. Hypoxia-Inducible Factor 1 α and Its Role in Lung Injury: Adaptive or Maladaptive / M. V. Suresh, M. V. Balijepalli, S. Solanki [et al.] // Inflammation. – 2023. – Vol. 46, №2. – P. 491–508.
141. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) promotes its degradation by induction of HIF-alpha-prolyl-4-hydroxylases / J. H. Marxsen, P. Stengel, K. Doege [et al.] // The Biochemical journal. – 2004. – Vol. 381, №3. – P. 761–767.
142. Hypoxia-Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) as a Biomarker for Changes in Microcirculation in Individuals with Systemic Sclerosis / M. Maciejewska, M. Sikora, A. Stec [et al.] // Dermatology and therapy. – 2023. – Vol. 13, №7. – P. 1549–1560.
143. Hypoxia-inducible factor (HIF) asparagine hydrolase is identical to factor inhibiting HIF (FIH) and is related to the cupin structural family / K. S. Hewitson, L. A. McNeill, M. Riordan [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2002. – Vol. 277, №29. – P. 26351–26355.
144. Hypoxic and pharmacological activation of HIF inhibits SARS-CoV-2 infection of lung epithelial cells / P. A. C. Wing, T. P. Keeley, X. Zhuang [et al.] // Cell reports. – 2021. – Vol. 35, №3. – P. 109020.
145. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19 / D. Blanco-Melo, B. E. Nilsson-Payant, W. C. Liu [et al.] // Cell. – 2020. – Vol. 181, №5. – P. 1036-1045.
146. Immune consequences of exercise in hypoxia: A narrative review / J. Burtscher, Q. Pasha, N. Chanana [et al.] // Journal of sport and health science. – 2024. – Vol. 13, №3. – P. 297–310.
147. Immunity, endothelial injury and complement-induced coagulopathy in COVID-19 / L. Perico, A. Benigni, F. Casiraghi [et al.] // Nature reviews. Nephrology. – 2021. – Vol. 17, №1. – P. 46-64.
148. Immunology of COVID-19: Current State of the Science / N. Vabret, G. J.

Britton, C. Gruber [et al.] // *Immunity*. – 2020. – Vol. 52, №6. – P. 910–941.

149. Importation and Human-to-Human Transmission of a Novel Coronavirus in Vietnam / L. T. Phan, T. V. Nguyen, Q. C. Luong [et al.] // *The New England journal of medicine*. – 2020. – Vol. 382, №9. – P. 872-874.

150. Induction of hypoxia-inducible factor-1alpha by transcriptional and translational mechanisms / E. L. Pagé, G. A. Robitaille, J. Pouyssegur [et al.] // *The Journal of biological chemistry*. – 2002. – Vol. 277, №50. – P. 48403–48409.

151. Inflammasome activation in infected macrophages drives COVID-19 pathology / E. Sefik, R. Qu, C. Junqueira [et al.] // *Nature*. – 2022. – Vol. 606. – P. 585–593.

152. Inhibition of α -KG-dependent histone and DNA demethylases by fumarate and succinate that are accumulated in mutations of FH and SDH tumor suppressors / M. Xiao, H. Yang, W. Xu [et al.] // *Genes & development*. – 2012. – Vol. 26 №12. – P. 1326–1338.

153. Intermittent hypoxia enhances the expression of hypoxia inducible factor HIF1A through histone demethylation / C. A. Martinez, Y. Jiramongkol, N. Bal [et al.] // *The Journal of biological chemistry*. – 2022. – Vol. 298, №11. – P. 102536.

154. Jahani, M. Hypoxia: A key feature of COVID-19 launching activation of HIF-1 and cytokine storm / M. Jahani, S. Dokaneheifard, K. Mansouri // *Journal of inflammation*. – 2020. – Vol. 17. – P. 33.

155. KDM4A regulates HIF-1 levels through H3K9me3 / G. Dobrynin, T. E. McAllister, K. B. Leszczynska [et al.] // *Scientific reports*. – 2017. – Vol. 7, №1. – P. 11094.

156. Keith, B. HIF1 α and HIF2 α : sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. *Nat. Rev* / B. Keith, R. S. Johnson, M. C. Simon // *Cancer*. – 2011. – Vol. 12, №1. – P. 9–22.

157. Kim, Y. W. Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease / Y. W. Kim, T. V. Byzova // *Blood*. – 2014. – Vol. 123, №5. – P. 625–631.

158. Lactate Beyond a Waste Metabolite: Metabolic Affairs and Signaling in Malignancy / F. Baltazar, J. Afonso, M. Costa [et al.] // *Frontiers in oncology*. – 2020. –

Vol. 10. – P. 231.

159. Lee, C. Overview of COVID-19 Inflammatory Pathogenesis from the Therapeutic Perspective / C. Lee, W. J. Choi // Archives of pharmacal research. – 2021. – Vol. 44, №1. – P. 99–116.

160. Lordan, R. Platelet activation and prothrombotic mediators at the nexus of inflammation and atherosclerosis: Potential role of antiplatelet agents / R. Lordan, A. Tsoupras, I. Zabetakis // Blood reviews. – 2021. – Vol. 45. – P. 100694.

161. Low oxygen tension enhances hepatitis C virus replication / N. Vassilaki, K. I. Kalliampakou, I. Kotta-Loizou [et al.] // Journal of virology. – 2013. – Vol. 87, №5. – P. 2935–2948.

162. Low skeletal muscle radiodensity and neutrophil-to-lymphocyte ratio as predictors of poor outcome in patients with COVID-19 / D. M. H. Padilha, M. C. S. Mendes, F. Lascala [et al.] // Scientific reports. – 2022. – Vol. 12, №1. – P. 15718.

163. Luo, M. The role of hypoxia-inducible factor 1 α in hepatic lipid metabolism / M. Luo, T. Li, H. Sang // Journal of molecular medicine. – 2023. – Vol. 101, №5. – P. 487–500.

164. Macrophage metabolic reprogramming aggravates aortic dissection through the HIF1 α -ADAM17 pathway[☆] / G. Lian, X. Li, L. Zhang [et al.] // EBioMedicine. – 2019. – Vol. 49. P. 291-304.

165. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease / A. Shapouri-Moghaddam, S. Mohammadian, H. Vazini [et al.] // Journal of cellular physiology. – 2018. – Vol. 233, №9. – P. 6425–6440.

166. Mahon, P. C. FIH-1: a novel protein that interacts with HIF-1 α and VHL to mediate repression of HIF-1 transcriptional activity / P. C. Mahon, K. Hirota, G. L. Semenza // Genes & development. – 2001. – Vol. 15, №20. – P. 2675–2686.

167. Marchetti M. COVID-19-driven endothelial damage: complement, HIF-1, and ABL2 are potential pathways of damage and targets for cure / M. Marchetti // Annals of hematology. – 2020. – Vol. 99, №8. – P. 1701–1707.

168. Marini, J. J. Management of COVID-19 Respiratory Distress / J. J. Marini, L. Gattinoni // JAMA. – 2020. – Vol. 323, №22. – P. 2329–2330.

169. Mathew T. Intonation of Nrf2 and Hif1- α pathway by curcumin prophylaxis: A potential strategy to augment survival signaling under hypoxia / T. Mathew, S. K. S. Sarada // *Respiratory Physiology and Neurobiology*. – 2018. – Vol. 258. – P. 12–24.
170. McKechnie, J. L. The innate immune system: fighting on the front lines or fanning the flames of COVID-19? / J. L. McKechnie, C. A. Blish // *Cell Host Microbe*. – 2020. – Vol. 27. – P. 863-869.
171. Melatonin antagonizes nickel-induced aerobic glycolysis by blocking ROS-mediated HIF-1 α /miR210/ISCU axis activation / M. He, C. Zhou, Y. Lu [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 5406284.
172. Merad, M. Pathological Inflammation in Patients with COVID-19: A Key Role for Monocytes and Macrophages / M. Merad, J. C. Martin // *Nature reviews. Immunology*. – 2020. – Vol. 20, №6. – P. 355–362.
173. MiRNA let-7b promotes the development of hypoxic pulmonary hypertension by targeting ACE2. *American journal of physiology* / R. Zhang, H. Su, X. Ma [et al.] // *Lung cellular and molecular physiology*. – 2019. – Vol. 316, №3. – P. 547–557.
174. miR-200b downregulates CFTR during hypoxia in human lung epithelial cells / S. Bartoszewska, W. Kamysz, B. Jakiela [et al.] // *Cellular & molecular biology letters*. – 2017. – Vol. 22. – P. 23.
175. Mitochondrial reactive oxygen species: a common pathway for PAR1- and PAR2-mediated tissue factor induction in human endothelial cells / C. Banfi, M. Brioschi, S. S. Barbieri [et al.] // *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH*. – 2009. – Vol. 7, №1. – P. 206–216.
176. NETs promote ALI/ARDS inflammation by regulating alveolar macrophage polarization / C. Song, H. Li, Y. Li [et al.] // *Experimental cell research*. – 2019. – Vol. 382, №2. – P. 111486.
177. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome / E. A. Middleton, X. Y. He, F. Denorme [et al.] // *Blood*. – 2020. – Vol. 136, №10. – P. 1169–1179.
178. Neutrophils and COVID-19: The road so far / L. H. A. Cavalcante-Silva, D.

C. M. Carvalho, É. A. Lima [et al.] // *International immunopharmacology*. – 2021. – Vol. 90. – P. 107233.

179. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts severe illness patients with 2019 novel coronavirus in the early stage / J. Liu, Y. Liu, P. Xiang [et al.] // *Journal of translational medicine*. – 2020. – Vol. 18, №1. – P. 206.

180. NEWS-2 Accuracy in Predicting Mortality and Severe Morbidity Among Hospitalized COVID-19 Patients: A Prospective Cohort Study / M. Tarabeih, J. Qaddumi, I. Mohammad Tukhi [et al.] // *Journal of clinical medicine*. – 2024. – Vol. 13, №21. – P. 6558.

181. Norooznezhad, A. H. Endothelial cell dysfunction, coagulation, and angiogenesis in coronavirus disease 2019 (COVID-19) / A. H. Norooznezhad, K. Mansouri // *Microvascular research*. – 2021. – Vol. 137. – P. 104188.

182. Nuclear Envelope and Nuclear Pore Complexes in Neurodegenerative Diseases-New Perspectives for Therapeutic Interventions / N. Hachiya, M. Sochocka, A. Brzecka [et al.] // *Molecular neurobiology*. – 2021. – Vol. 58, №3. – P. 983–995.

183. Paredes, F. Metabolic adaptation in hypoxia and cancer / F. Paredes, H. C. Williams, A. San Martin // *Cancer letters*. – 2021. – Vol. 502. – P. 133–142.

184. Participation of Intussusceptive Angiogenesis in the Morphogenesis of Lobular Capillary Hemangioma / L. Díaz-Flores, R. Gutiérrez, M. González-Gómez [et al.] // *Scientific reports*. – 2020. – Vol. 10, №1. – P. 4987.

185. Pedersen, S. F. SARS-CoV-2: a storm is raging / S. F. Pedersen, Y. C. Ho // *The Journal of clinical investigation*. – 2020. – Vol. 130, №5. – P. 2202–2205.

186. Plank, M. Tumour-induced angiogenesis: a review / M. Plank, B. Sleeman // *Journal of Theoretical Medicine*. – 2003. – Vol. 5, №3-4. – P. 137–153.

187. Plasma IP-10 and MCP-3 levels are highly associated with disease severity and predict the progression of COVID-19 / Y. Yang, C. Shen, J. Li [et al.] // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2020. – Vol. 146, №1. – P. 119–127.

188. Possible therapeutic effects of adjuvant quercetin supplementation against early-stage COVID-19 infection: A prospective, randomized, controlled, and open-label study / F. Di Pierro, G. Derosa, P. Maffioli [et al.] // *International Journal of General*

Medicine. – 2021. – Vol. 14. – P. 2359–2366.

189. Prabhakar, N. R. Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2 / N. R. Prabhakar, G. L. Semenza // *Physiological reviews*. – 2012. – Vol. 92, №3. – P. 967–1003.

190. Prabhakar, N. R. Regulation of carotid body oxygen sensing by hypoxia-inducible factors / N. R. Prabhakar, G. L. Semenza // *Pflügers Archiv: European journal of physiology*. – 2016. – Vol. 468, №1. – P. 71–75.

191. Prediction of low pulse oxygen saturation in COVID-19 using remote monitoring post hospital discharge / E. P. Doheny, M. Flood, S. Ryan [et al.] // *International journal of medical informatics*. – 2023. – Vol. 169. – P. 104911.

192. Predictive value of serum HIF-1 α and VEGF for arrhythmia in acute coronary syndrome patients / B. Li, Q. Feng, C. Yu [et al.] // *Experimental biology and medicine*. – 2023. – Vol. 248, №8. – P. 685–690.

193. Prompetchara, E. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic / E. Prompetchara, C. Ketloy, T. Palaga // *Asian Pacific journal of allergy and immunology*. – 2020. – Vol. 38, №1. – P. 1–9.

194. Pulmonary and Cardiac Pathology in African American Patients with COVID-19: An Autopsy Series from New Orleans / S. E. Fox, A. Akmatbekov, J. L. Harbert [et al.] // *The Lancet Respiratory Medicine*. – 2020. – Vol. 8. – P. 681–686.

195. Pulmonary Artery Thrombosis: A Diagnosis That Strives for Its Independence / O. Porembskaya, Y. Toropova, V. Tomson [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 21, №14. – P. 5086.

196. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19 / M. Ackermann, S. E. Verleden, M. Kuehnel [et al.] // *The New England journal of medicine*. – 2020. – Vol. 383, №2. – P. 120–128.

197. Raposo, G. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends / G. Raposo, W. Stoorvogel // *The Journal of cell biology*. – 2013. – Vol. 200, №4. – P. 373–383.

198. Ravenna, L. HIF3 α : the little we know / L. Ravenna, L. Salvatori, M. A.

Russo // The FEBS journal. – 2016. – Vol. 283, №6. – P. 993–1003.

199. Reactive oxygen species activate the HIF-1 α promoter via a functional NF κ B site / S. Bonello, C. Zähringer, R. S. BelAiba [et al.] // Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. – 2007. – Vol. 27 №4. – P. 755–761.

200. Reactive Oxygen Species in Venous Thrombosis / C. Gutmann, R. Siow, A. M. Gwozdz [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2020. – Vol. 21, №6. – P. 1918.

201. Reactive oxygen species-generating mitochondrial DNA mutation up-regulates hypoxia-inducible factor-1 α gene transcription via phosphatidylinositol 3-kinase-Akt/protein kinase C/histone deacetylase pathway / N. Koshikawa, J. Hayashi, A. Nakagawara [et al.] // The Journal of biological chemistry. – 2009. – Vol. 284, №48. – P. 33185–33194.

202. Redistribution of intracellular oxygen in hypoxia by nitric oxide: effect on HIF1 α / T. Hagen, C. T. Taylor, F. Lam [et al.] // Science. – 2003. – Vol. 302. – P. 1975–1978.

203. Regenerative Medicine and Angiogenesis; Challenges and Opportunities / M. Jahani, D. Rezazadeh, P. Mohammadi [et al.] // Advanced pharmaceutical bulletin. – 2020. – Vol. 10, №4. – P. 490–501.

204. Regulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction: basic mechanisms / N. Sommer, A. Dietrich, R. T. Schermuly [et al.] // The European respiratory journal. – 2008. – Vol. 32, №6. – P. 1639–1651.

205. Role of ROX index in the first assessment of COVID-19 patients in the emergency department / A. Gianstefani, G. Farina, V. Salvatore [et al.] // Internal and emergency medicine. – 2021. – Vol. 16, №7. – P. 1959–1965.

206. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor / M. Hoffmann, H. Kleine-Weber, S. Schroeder [et al.] // Cell. – 2020. – Vol. 181, №2. P. 271-280.

207. Saxena, K. Acute vs. Chronic vs. Cyclic Hypoxia: Their Differential Dynamics, Molecular Mechanisms, and Effects on Tumor Progression / K. Saxena, M. K. Jolly // Biomolecules. – 2019. – Vol. 9, №8. – P. 339.

208. Schober, A. S. DUBs, New Members in the Hypoxia Signaling club / A. S. Schober, E. Berra // *Frontiers in oncology*. – 2016. – Vol. 6. – P. 53.
209. Schönrich, G. Devilishly radical NETwork in COVID-19: Oxidative stress, neutrophil extracellular traps (NETs), and T cell suppression / G. Schönrich, M. J. Raftery, Y. Samstag // *Advances in biological regulation*. – 2020. – Vol. 77. – P. 100741.
210. Selenium supplementation can relieve the clinical complications of COVID-19 and other similar viral infections / M. Fakhrolmobasheri, Z. Nasr-Esfahany, H. Khanahmad [et al.] // *Internationale Zeitschrift für Vitamin- und Ernährungsforschung. Journal international de vitaminologie et de nutrition*. – 2021. – Vol. 91, №3-4. – P. 197–199.
211. Semenza, G. L. Angiogenesis in ischemic and neoplastic disorders / G. L. Semenza // *Annual review of medicine*. – 2003. – Vol. 54. – P. 17–28.
212. Semenza, G. L. HIF-1 mediates metabolic responses to intratumoral hypoxia and oncogenic mutations / G. L. Semenza // *The Journal of clinical investigation*. – 2013. – Vol. 123, №9. – P. 3664–3671.
213. Serum Hypoxia-Inducible Factor 1alpha Levels Correlate with Outcomes After Intracerebral Hemorrhage / Y. Cai, Y. K. Zhuang, X. Y. Wu [et al.] // *Therapeutics and clinical risk management*. – 2021. – Vol. 17. – P. 717–726.
214. Serum troponin, D-dimer, and CRP level in severe coronavirus (COVID-19) patients / A. M. Ali, H. M. Rostam, M. H. Fatah [et al.] // *Immunity, inflammation and disease*. – 2022. – Vol. 10, №3. – P. 582.
215. Severe COVID-19, Another Piece in the Puzzle of the Hyperferritinemic Syndrome. An Immunomodulatory Perspective to Alleviate the Storm / P. Ruscitti, O. Berardicurti, P. Di Benedetto [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 1130.
216. Silent hypoxia in COVID-19: pathomechanism and possible management strategy / A. Rahman, T. Tabassum, Y. Araf [et al.] // *Molecular biology reports*. – 2021. – Vol. 48, №4. – P. 3863–3869.
217. Simultaneous Depression of Immunological Synapse and Endothelial Injury is Associated with Organ Dysfunction in Community-Acquired Pneumonia / R.

Menéndez, R. Méndez, R. Almansa [et al.] // *Journal of clinical medicine*. – 2019. – Vol. 8, №9. – P. 1404.

218. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19 / M. Liao, Y. Liu, J. Yuan [et al.] // *Nature medicine*. – 2020. – Vol. 26, №6. – P. 842–844.

219. Sinha, P. Is a "Cytokine Storm" Relevant to COVID-19? / P. Sinha, M. A. Matthay, C. S. Calfee // *JAMA internal medicine*. – 2020. – Vol. 180, №9. – P. 1152–1154.

220. Somers, V. K. Progressive Hypoxia: A Pivotal Pathophysiologic Mechanism of COVID-19 Pneumonia / V. K. Somers, T. Kara, J. Xie // *Mayo Clinic proceedings*. – 2020. – Vol. 95, №11. – P. 2339–2342.

221. Soni M. Evaluation of eosinopenia as a diagnostic and prognostic indicator in COVID-19 infection / M. Soni // *International journal of laboratory hematology*. – 2021. – Vol. 43, №1. – P. 137–141.

222. Study of Arterial Blood Gas Analysis in Moderate-to-Severe COVID-19 Patients / H. Sanghani, S. Bansal, V. Parmar [et al.] // *Cureus*. – 2022. – Vol. 14, №7. – P. 26715.

223. Sustained and intermittent hypoxia differentially modulate primary monocyte immunothrombotic responses to IL-1 β stimulation / C. J. E. Wahlund, S. Çaglayan, P. Czarnewski [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1240597.

224. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps / B. J. Barnes, J. M. Adrover, A. Baxter-Stoltzfus [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. – 2020. – Vol. 217, №6. – P. 20200652.

225. Targeting Protein-Protein Interactions in the HIF System / S. E. Wilkins, M. I. Abboud, R. L. Hancock [et al.] // *ChemMedChem*. – 2016. – Vol. 11, №8. – P. 773–786.

226. Taylor, C. T. Nitric oxide, cytochrome C oxidase, and the cellular response to hypoxia / C. T. Taylor, S. Moncada // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2010. – Vol. 30, №4. – P. 643–647.

227. Taylor, C. T. The effect of HIF on metabolism and immunity / C. T. Taylor,

C. C. Scholz // Nature reviews. Nephrology. – 2022. – Vol. 18, №9. – P. 573–587.

228. The Activity of JmjC Histone Lysine Demethylase KDM4A is Highly Sensitive to Oxygen Concentrations / R. L. Hancock, N. Masson, K. Dunne [et al.] // ACS chemical biology. – 2017. – Vol. 12, №4. – P. 1011–1019.

229. The Charlson comorbidity index can be used prospectively to identify patients who will incur high future costs / M. Charlson, M. T. Wells, R. Ullman [et al.] // PloS one. – 2014. – Vol. 9, №12. – P. 112479.

230. The clinical pathology of severe acute respiratory syndrome (SARS): a report from China / Y. Ding, H. Wang, H. Shen [et al.] // The Journal of pathology. – 2003. – Vol. 200, №3. – P. 282–289.

231. The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1alpha and HIF-2alpha in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages / K. L. Talks, H. Turley, K. C. Gatter [et al.] // The American journal of pathology. – 2000. – Vol. 157, №2. – P. 411–421.

232. The hypoxia-inducible miR-429 regulates hypoxia-inducible factor-1 α expression in human endothelial cells through a negative feedback loop / S. Bartoszewska, K. Kochan, A. Piotrowski [et al.] // FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. – 2015. – Vol. 29, №4. – P. 1467–1479.

233. The pervasive presence of fluctuating oxygenation in tumors / L. I. Cárdenas-Navia, D. Mace, R. A. Richardson [et al.] // Cancer research. – 2008. – Vol. 68, №14. – P. 5812–5819.

234. The prognostic value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) in colorectal cancer and colorectal anastomotic leakage patients: a retrospective study / N. Xu, J. X. Zhang, J. J. Zhang [et al.] // BMC surgery. – 2025. – Vol. 25, №1. – P. 57.

235. The pulmonary endothelium in acute respiratory distress syndrome: insights and therapeutic opportunities / F. R. Millar, C. Summers, M. J. Griffiths [et al.] // Thorax. – 2016. – Vol. 71, №5. – P. 462–473.

236. The relationship between the preoperative plasma level of HIF-1 α and clinic

pathological features, prognosis in non-small cell lung cancer / J. He, Y. Hu, M. Hu [et al.] // *Scientific reports*. – 2016. – Vol. 6. – P. 20586.

237. The role and therapeutic implication of CPTs in fatty acid oxidation and cancers progression / J. Wang, H. Xiang, Y. Lu [et al.] // *American journal of cancer research*. – 2021. – Vol. 11, №6. – P. 2477–2494.

238. The role of ADP secretion and thromboxane synthesis in factor VIII binding to platelets / G. Di Minno, S. S. Shapiro, P. M. Catalano [et al.] // *Blood*. – 1983. – Vol. 62, №1. – P. 186–190.

239. The Role of Hypoxia-Inducible Factor Post-Translational Modifications in Regulating Its Localisation, Stability, and Activity / A. Ibanese, L. A. Daly, D. Mennerich [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 22, №1. – P. 268.

240. The role of nitric oxide on endothelial function / D. Tousoulis, A. M. Kampoli, C. Tentolouris [et al.] // *Current vascular pharmacology*. – 2012. – Vol. 10, №1. – P. 4–18.

241. The transition from HIF-1 to HIF-2 during prolonged hypoxia results from reactivation of PHDs and HIF1A mRNA instability / M. Jaśkiewicz, A. Moszyńska, J. Króliczewski [et al.] // *Cellular & molecular biology letters*. – 2022. – Vol. 277, №1. – P. 109.

242. The vascular endothelium and human diseases / P. Rajendran, T. Rengarajan, J. Thangavel [et al.] // *International journal of biological sciences*. – 2013. – Vol. 9, №10. – P. 1057–1069.

243. Tissue Damage from Neutrophil-Induced Oxidative Stress in COVID-19 / M. Laforge, C. Elbim, C. Frere [et al.] // *Nature reviews. Immunology*. – 2020. – Vol. 20, №9. – P. 515–516.

244. Tretter, L. Succinate, an intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis / L. Tretter, A. Patocs, C. Chinopoulos // *Biochimica et biophysica acta*. – 2016. – Vol. 1857 №8. – P. 1086–1101.

245. Two Years into the COVID-19 Pandemic: Lessons Learned / S. J. R. da Silva, J. C. F. do Nascimento, R. P. Germano Mendes [et al.] // *ACS infectious diseases*. – 2022. – Vol. 8, №9. – P. 1758-1814.

246. Ullah, K. Hypoxia-Inducible Factor Regulates Endothelial Metabolism in Cardiovascular Disease / K. Ullah, R. Wu // *Frontiers in physiology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 670653.
247. van Hinsbergh, V. W. Endothelium--role in regulation of coagulation and inflammation / V. W. van Hinsbergh // *Seminars in immunopathology*. – 2012. – Vol. 34, №1. – P. 93–106.
248. Van Uden, P. Regulation of hypoxia-inducible factor-1alpha by NF-kappaB / P. van Uden, N. S. Kenneth, S. Rocha // *The Biochemical Journal*. – 2008. – Vol. 412, №3. – P. 477–484.
249. Vascular endothelial growth factor contributes to lung vascular hyperpermeability in sepsis-associated acute lung injury / K. Tomita, Y. Saito, T. Suzuki [et al.] // *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. – 2020. – Vol. 393, №12. – P. 2365–2374.
250. VEGF-A in COVID-19: a systematic review and meta-analytical approach to its prognostic value / S. S. Bahreiny, M. N. Bastani, H. Keyvani [et al.] // *Clinical and Experimental Medicine*. – 2025. – Vol. 25. – P. 81.
251. VEGF-induced blood flow increase causes vascular hyper-permeability in vivo / K. Ashina, Y. Tsubosaka, K. Kobayashi [et al.] // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2015. – Vol. 464, №2. – P. 590–595.
252. Virus-Host Interactome and Proteomic Survey Reveal Potential Virulence Factors Influencing SARS-CoV-2 Pathogenesis / J. Li, M. Guo, X. Tian [et al.] // *Med (New York, N.Y.)*. – 2021. – Vol. 2, №1. – P. 99-112.
253. Whole blood immunophenotyping uncovers immature neutrophil-to-VD2 T-cell ratio as an early marker for severe COVID-19 / G. Carissimo, W. Xu, I. Kwok [et al.] // *Nature communications*. – 2020. – Vol. 11, №1. – P. 5243.
254. Wan, L. Determination of free and total carnitine with a random-access chemistry analyzer / L. Wan, R. W. Hubbard // *Clinical chemistry*. – 1998. – Vol. 44, №4. – P. 810–816.
255. WHO. A novel Coronavirus (2019-nCoV) SITUATION REPORT – 1. [Electronic resource]. – Geneva, 2020. – URL: <https://www.who.int/docs/default->

[source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf?sfvrsn=20a99c10_4](https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing--5-may-2023)

256. WHO. Director-General's opening remarks at the media briefing – 5 May 2023 [Electronic resource]. – Geneva, 2023. – URL: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing--5-may-2023>

257. WHO. Virtual press conference on COVID-19 — 11 March 2020. [Electronic resource]. – Geneva, 2020. – URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/transcripts/who-audio-emergencies-coronavirus-press-conference-full-and-final-11mar2020.pdf?sfvrsn=cb432bb3_2

258. WHO. 2023 data.who.int, WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard > More resources [Dashboard]. <https://data.who.int/dashboards/covid19/more-resources>

259. Wu, Z. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China / Z. Wu, J. M. McGoogan // JAMA – 2020. – Vol. 323, №13. – P. 1239.