

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Омарова Жанна Рубеновна

**ПАТОМОРФОЛОГИЯ ЛЕГКИХ ПРИ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОЙ
ВИРУСНОЙ ПНЕВМОНИИ, ВЫЗВАННОЙ SARS-COV-2**

3.3.2 - Патологическая анатомия

**Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Научный руководитель
Доктор медицинских наук,
М.В. Самсонова

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1. Краткие сведения об эпидемиологии.....	11
1.2. Биология вируса и его влияние на организм человека.....	11
1.3. Клиническая картина.....	13
1.4. Морфофункциональные изменения в легких при COVID-19	16
1.5. Методы диагностики.....	20
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	22
2.1. Клинико-морфологическая характеристика интерстициальной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2.....	22
2.2. Методы исследования.....	24
2.3. Рентгенологические и морфологические изменения в легких при новой коронавирусной инфекции по материалу аутопсий.....	26
2.4. Статистические методы.....	29
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	30
3.1. Клинико-морфологическая характеристика гистологических изменений в легких при новой коронавирусной инфекции по материалу аутопсий.....	30
3.2. «Цитокиновый шторм» при новой коронавирусной инфекции.....	73
3.3. Сравнительная оценка рентгенологических и морфологических изменений в легких при новой коронавирусной инфекции по материалу аутопсий.....	78
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	87
ВЫВОДЫ.....	100
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	102
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	103

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ДАП – диффузное альвеолярное повреждение

КТ – компьютерная томография

ПЦР – полимеразная цепная реакция

АПФ2 – ангиотензин-превращающий фермент 2

TMPRSS2 – трансмембранная сериновая протеаза 2

ОРДС – острый респираторный дистресс синдром

ИЛ – интерлейкин

SARS – тяжёлый острый респираторный синдром

MERS – ближневосточный респираторный синдром

СРБ – С-реактивный белок

TLR – Toll-подобные рецепторы

TNF α – Tumor necrosis factor

VEGF - фактор роста эндотелия сосудов

ДВС – диссеминированное внутрисосудистое свёртывание

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ГБ – гипертоническая болезнь

БОД – болезни органов дыхания

ИВЛ – искусственная вентиляция лёгких

ПК – персональный компьютер

ДЗ – длительность заболевания

ЧД – частота дыхания

ОГК – органы грудной клетки

НСИП – неспецифическая интерстициальная пневмония

ПОН – полиорганная недостаточность

CD4 – кластер дифференцировки 4

CD8 – кластер дифференцировки 8

ФЭЕ - фибрин-эквивалентные единицы

АПФ - Ангиотензинпревращающий фермент

КТВР – компьютерная томография высокого разрешения

SDF-1 - stromal cell-derived factor-1, фактор 1 стромальных клеток

CXCR-4 - chemokine receptor type 4, хемокиновый рецептор 4 типа

NK-клетки – натуральные киллеры

eNOS - эндотелиальная нитрооксидсинтаза

MyD88 - Myeloid differentiation primary response gene (88)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы диссертации.

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), каждый год более 2 млрд. человек страдают различными инфекционными заболеваниями, из них 17 млн. заканчивается летальным исходом. В современном мире инфекционные болезни распространяются намного быстрее, чем ранее. С конца XX века ежегодно регистрируется одно новое инфекционное заболевание [12]. В конце 2019 года в провинции Китая Хубэй, город Ухань, была зарегистрирована вспышка новой коронавирусной инфекции, вызванная вирусом SARS-CoV-2, которая за короткий промежуток охватила весь мир. 11.03.20 ВОЗ ей был присвоен статус пандемии COVID-19.

Информация об эпидемиологии, клинической картине, методах профилактики и вариантах лечения новой коронавирусной инфекции COVID-19 постоянно обновляется [5], однако, вопросы патогенеза, особенности морфологических проявлений в разные сроки заболевания, нарушения коагуляции изучены не в полной мере.

Течение вирусной инфекции характеризуется развитием вирусной интерстициальной пневмонии, типичными морфологическими проявлениями которой является диффузное альвеолярное повреждение (ДАП), описанное при тяжелом остром респираторном синдроме (SARS), Ближневосточном респираторном синдроме (MERS), при гриппе А (H1N1), фазы которого совпадали с длительностью заболевания [7, 46, 65]. ДАП также встречается при шоковых состояниях различных этиологий и при сепсисе [1].

Остаётся нерешенным вопрос о частоте тромбозов сосудов легких, существовании васкулита и эндотелиита. Непонятно, соответствуют ли стадии ДАП длительности заболевания. Встречаются единичные публикации о частоте признаков ДАП в разные стадии болезни. В доступной литературе не приведено описание гистологических изменений в легких в фазу развития «цитокинового шторма». Существует лишь единичные публикации, где было проведено сравнение данных КТ и гистологических изменений легких [47, 77].

Цель исследования.

Изучить патоморфологию легких при интерстициальной вирусной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2, и провести сопоставление КТ-симптомов поражения легких с гистологическими изменениями в них.

Задачи исследования:

1. Определить спектр коморбидных заболеваний при критически тяжелом течении вирусной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2.
2. Оценить гистологические изменения в легких при вирусной интерстициальной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2 с проведением полуколичественной оценки частоты встречаемости признаков диффузного альвеолярного повреждения лёгких в экссудативную и продуктивную фазы заболевания.
3. Провести иммуногистохимическое исследование для уточнения механизмов развития интерстициальной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2, в разные фазы заболевания.
4. Описать морфологические изменения в легких при прицельном сопоставлении с КТ-признаками поражения.

Научная новизна исследования

В работе с помощью современных методов патологоанатомического исследования и сопоставления морфологических изменений с клинико-инструментальными данными при интерстициальной пневмонии, вызванной вирусом SARS-CoV-2, впервые:

- определен профиль пациентов с критически тяжелым течением новой коронавирусной пневмонии, включая пол, возраст и спектр коморбидных заболеваний;
- выявлены особенности морфофункциональных изменений легких при COVID-19 и морфогенез поражения органа;

- установлено, что структурные изменения в легких соответствуют вирусной интерстициальной пневмонии, характеризующейся диффузным альвеолярным повреждением; динамика этих изменений, по мере развития заболевания, носит стадийный характер;

- выявлено, что отличительной особенностью интерстициальной вирусной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2, является неполное соответствие между длительностью заболевания и фазами ДАП;

- установлены механизмы морфологических повреждений легких, среди которых доказано прямое воздействие вируса на различные структурные единицы легких, включая эндотелиоциты и перициты кровеносных сосудов, обуславливающие повреждения сосудов с развитием коагулопатии с распространенным тромбообразованием, играющим важную роль в танатогенезе;

- описаны микроскопические изменения в легких в фазу развития «цитокинового шторма»;

- установлено соответствие гистологической картины в легких с различными КТ-симптомами на разных стадиях развития вирусной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2;

- продемонстрировано, что КТ-симптомы «матовое стекло» и «булжная мостовая» чаще являются отражением гистологических изменений при экссудативной фазе ДАП; симптомокомплекс «организующейся пневмонии» свидетельствует о поздней, продуктивной фазе ДАП; консолидация при КТ-исследовании соответствовала участкам выраженных внутриальвеолярных кровоизлияний и/или организующейся пневмонии.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Результаты проведенного комбинированного исследования при вирусной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2 уточняют данные о структурных изменениях в легких. Выявленные морфологические изменения расширяют представления о

вирусных интерстициальных пневмониях, о характере общепатологических процессов, лежащих в основе повреждений, позволяют установить динамику развития и характер течения патологического процесса при новой коронавирусной инфекции. Полученные данные дают представление о морфологическом субстрате различных КТ-симптомов в динамике течения заболевания. Данное исследование имеет важное прикладное значение – понимание процессов развития заболевания и динамических изменений на разных стадиях заболевания, что позволит клиницистам и фармакологам разрабатывать подходы к лечению на разных сроках с целью предупреждения прогрессирования инфекции и развития осложнений.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. На основании исследования морфологических изменений в разные фазы диффузного альвеолярного повреждения описана стадийность вирусной интерстициальной пневмонии, вызванной вирусом SARS-COV-2. Установлено, что имеет место неполное соответствие экссудативной и продуктивной фаз ДАП с длительностью заболевания.
2. Представлена микроскопическая картина изменений в легких при «цитокиновом шторме» и установлена важная роль внутрисосудистой коагулопатии, как одного из ведущих патогенетических механизмов заболевания.
3. Описаны микроскопические изменения в легких при разных КТ-симптомах вирусной интерстициальной пневмонии с помощью прицельного морфологического исследования ткани легкого.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.3.2 - «Патологическая анатомия». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности 3.3.2 - «Патологическая анатомия», конкретно пунктам 1, 3, 4.

Степень достоверности и обоснованности результатов диссертационной работы.

Достоверность результатов исследования обосновывается научной постановкой цели и задач, использованием комплексного методологического подхода с включением клинических, инструментальных, морфологических, статистических методов исследования, достоверностью исходных данных и достаточным числом наблюдений (196 умерших).

Проведение диссертационного исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (протокол №214 от 24 января 2022 года).

Апробация работы.

Результаты диссертации доложены и обсуждены на региональной конференции Российского респираторного общества (Нижний Новгород, 2020 г.), 30 конгрессе по болезням органов дыхания (Москва, 2020 г.), на конгрессе ATS (Сан-Франциско, США, 2021г), Общероссийской межведомственной научно-практической конференции с международным участием «Диагностика и лечение COVID-19» (Балашиха, 2021 г.), 31 конгрессе по болезням органов дыхания (Москва, 2021 г.), VI съезде Российского общества патологоанатомов (Новосибирск, 2022 г.), на заседании кафедры патологической анатомии и клинической патологической анатомии педиатрического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России с участием сотрудников отдела фундаментальной пульмонологии ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России 28.04.2022г., протокол №9/22.

Внедрение результатов в практику.

Основные положения работы используются в практической деятельности ГКБ № 52 ДЗМ, ДГКБ святого Владимира ДЗМ, при подготовке семинарских занятий и лекционного курса кафедры патологической анатомии и клинической

патологической анатомии педиатрического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Личный вклад автора.

Автору принадлежит основная роль в выполнении всех этапов исследования: анализ литературы, обоснование актуальности и степени разработанности темы исследования, разработка дизайна, выбор методов исследования, обработка исходных данных умерших, формирование целей и задач, определение научно-практической значимости работы, формирование положений, выносимых на защиту, статистическая обработка данных, написание глав диссертации, формулирование выводов, практических рекомендаций и подготовка публикаций, соответствующих теме работы, участие во внедрении полученных результатов в практику.

Публикации результатов исследований.

По теме диссертации опубликовано 4 научных работ, из них 4 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации.

Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя. Текст изложен на 114 страницах, иллюстрирован 4 таблицами и 73 рисунками. Список литературы включает 116 источников, из них 14 отечественных и 102 иностранных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Краткие сведения об эпидемиологии.

11 марта 2020 г. всемирной организацией здравоохранения было объявлено о начале пандемии новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, которая стала 11-й в XX-XXI веках. Официальная информация о первых случаях заболевания поступила из города г. Ухань (провинция Хубэй) на юго-востоке КНР (Китайской народной республики) в декабре 2019 г. Вирусу было присвоено временное название 2019-nCoV. Несмотря на принятые КНР и ВОЗ меры по предотвращению масштабной заболеваемости новой коронавирусной инфекцией, в феврале эпидемия распространилась на ряд соседних с Китаем стран и Италию, а в марте – и на другие страны мира, и переросла в пандемию. 11 февраля 2020 г. ВОЗ присвоила новой коронавирусной инфекции официальное название – COVID-19 («Coronavirus disease 2019»), а международный комитет по таксономии вирусов в тот же день – официальное название возбудителю этой инфекции – SARS-CoV-2. В России Постановлением Правительства РФ от 31 января 2020 г. № 66 новый коронавирус SARS-CoV-2 из линии вирусов Beta-CoV В, как и SARS-CoV, и MERS-CoV, включен в перечень заболеваний, представляющих опасность для окружающих, наряду с особо опасными инфекциями II группы патогенности (чума, холера, оспа), утвержденный Постановлением Правительства РФ от 01.12.2004 г. №715 [11]. По данным ВОЗ по состоянию на 08.02.2022г. число зараженных коронавирусной инфекцией в мире составляет 396,5млн. человек, летальных исходов - 5,7 млн. (1,4%), в России - 13,1 млн., летальных исходов - 336 тыс. (2,6%).

1.2 Биология вируса и его влияние на организм человека

Исследования генома показали, что SARS-CoV-2 относится к роду Betacoronavirus, подроду Sarbecovirus, к которому также относится SARS-CoV. Первоначальные сравнения показали, что на нуклеотидном уровне SARS-CoV-2 примерно на 79% схож с SARS-CoV, а соответствия нуклеотидных последовательностей в S-белке, который является ключевым гликопротеином,

взаимодействующим с клеточными рецепторами носителя, составляет около 72%. [68, 106, 114, 115].

По данным многочисленных авторов показано что S-белок оболочки SARS-CoV-2 рецепторно связывается с ангиотензин-превращающим ферментом 2 (АПФ2), а для активации S-белка необходимо участие трансмембранной сериновой протеазы 2 (TMPRSS2), обеспечивающей проникновение вируса в клетку [49, 53, 199, 112].

Рецептор АПФ2 встречается на клетках различных органов, экспрессируется в альвеолярных эпителиальных клетках I и II типов, эндотелиальных клетках сосудов, гладкомышечных клетках большинства органов, в том числе и в легких, в связи с чем респираторный тракт является одной из основных мишеней вируса SARS-CoV-2. За счет повреждения альвеолоцитов I и II типов, эндотелиоцитов, происходит нарушение аэрогематического барьера и сурфактантного альвеолярного комплекса [72, 85, 105, 108].

Иммуногистохимические и электронномикроскопические исследования подтвердили вирусный тропизм к альвеолоцитам 2 типа. Ультраструктурные наблюдения согласуются с предыдущими сообщениями об инфекции SARS-CoV, за исключением того, что не были обнаружены ни везикулы с двойной мембраной, ни включения нуклеокапсида. Вирусный антиген также обнаруживался в респираторном эпителии трахеи, бронхов, бронхиол и иногда в альвеолярных макрофагах. Дыхательный эпителий - один из первых клеточных барьеров, с которыми сталкивается вдыхаемый вирус; антигены SARS-CoV-2 были обнаружены с помощью ИГХ в мерцательных эпителиальных клетках у 50% пациентов в течение 16 дней после появления симптомов. Ультраструктурный анализ показал, что многочисленные внеклеточные вирусные частицы располагаются вдоль ресничной поверхности и внутри мерцательных цилиндрических эпителиальных клеток. Эти результаты свидетельствуют о высокой вирусной нагрузке в верхних дыхательных путях и подтверждают возможность для людей, инфицированных SARS-CoV-2, длительно являться вирусоносителями и вирусовыделителями [74].

Профилактика распространения COVID-19 является крайне трудной задачей, в связи с большим количеством пациентов с бессимптомным течением заболевания, высокой инфекционностью возбудителя и отсутствием доступных высокоэффективных этиологических препаратов и вакцин. У части пациентов развивается тяжелое течение заболевания. На 08 февраля 2022 г. в мире летальность от COVID-19 составила 1,43% по данным Всемирной Организации Здравоохранения [103].

1.2.1. Клиническая картина

У инфицированных вирусом SARS-CoV-2 симптомы чаще всего появляются через 4-5 дней после заражения. Симптомы острой формы COVID-19 включают лихорадку, боль в горле, кашель, боли в мышцах или теле, потерю вкуса или обоняния и диарею. Исследование, проведенное в Англии, Уэльсе и Шотландии, выявило три группы симптомов во время острого заболевания [34]: 1) группа респираторных симптомов: кашель, мокрота, одышка, лихорадка; 2) группа костно-мышечных симптомов: миалгия, боль в суставах, головная боль, усталость, 3) группа энтеральных симптомов: боль в животе, рвота и диарея.

У части пациентов была выявлена панцитопения с преобладанием лимфопении и тромбоцитопении [28, 48, 109]. У большинства пациентов был повышен уровень С-реактивного белка; реже встречалось повышение уровней аланин-аминотрансферазы, аспартат-аминотрансферазы, креатинкиназы и D-димера [48].

Клиническое течение вирусной интерстициальной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2, характеризуется вариабельностью тяжести течения и характера прогрессирования заболевания. По данным Richardson et al. (2020) от 5% до 31,7% госпитализированных пациентов нуждались в лечении в отделение интенсивной терапии, и примерно у 29% из них через 8 дней после появления симптомов развился острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) [56, 88, 101]. Среди пациентов в отделении интенсивной терапии от 2% до 20% нуждаются в искусственной вентиляции легких (ИВЛ) [107], что свидетельствует о тяжелом течении заболевания и риску развития полиорганной недостаточности (ПОН) и

летального исхода [56]. Наиболее распространенными сочетанными заболеваниями при COVID-19 являются артериальная гипертензия, сахарный диабет 1 и 2 типа и ожирение, при этом тяжесть течения и смертность зависела от возраста пациентов [26].

При COVID-19 в части наблюдений может развиваться «цитокиновый шторм» (гиперцитокинемия - потенциально летальная реакция иммунной системы, характеризующаяся быстрой пролиферацией и повышенной активностью Т-клеток, макрофагов и естественных киллеров с высвобождением различных провоспалительных цитокинов, и химических медиаторов). [69]. «Цитокиновый шторм» — это общий термин, характеризующий нарушения иммунной регуляции с системным воспалением и полиорганной дисфункцией, вплоть до полиорганной недостаточности [13, 38, 61]. До настоящего времени, не существует четко сформулированного определения «цитокинового шторма» и критериев его диагностики. Так, Fajgenbaum D.C., Jhne C.H. (2020), предлагают следующие три критерия для диагностики «цитокинового шторма»: повышенный уровень циркулирующих цитокинов, симптомы острого системного воспаления и вторичная дисфункция органов (часто почечная, печеночная или легочная) из-за воспаления, выходящего за рамки того, которое можно было бы отнести к нормальной реакции на патоген (если патоген присутствует), или любой органной дисфункции, вызванной цитокинами (если патоген отсутствует). Chen et al. (2020) для диагностики «цитокинового шторма» при COVID-19 предлагает использовать следующие критерии: 1) пневмония COVID-19, требующая искусственной вентиляции легких; 2) лихорадка (максимальная температура $> 38^{\circ}\text{C}$); 3) СРБ > 100 мг/л; 4) сывороточный ферритин > 1000 мкг/л. Пациенты, отвечающие этим критериям, имели повышенный уровень ИЛ-6 в сыворотке (медиана 91 пг/мл). При «цитокиновом шторме» многие провоспалительные цитокины, такие как IL-1, IL-10 и TNF- α , повышаются примерно в 2–100 раз по сравнению с нормальными значениями, а IL-6 увеличивался в некоторых случаях более чем в 1000 раз. Повышенный уровень IL-6 в сыворотке связан с лимфопенией, нарушением цитотоксичности лимфоцитов и активацией эндотелия.

При COVID-19 было показано, что развитие «цитокинового шторма» связано со стойким снижением субпопуляций лимфоцитов, особенно CD4+ Т-клеток и NK-клеток и является фактором неблагоприятного прогноза [67]

При «цитокиновом шторме» появляется лихорадка, утомляемость, снижение аппетита вплоть до анорексии, головная боль, различная сыпь, диарея, артралгия, миалгия, а также нейропсихиатрические проявления [53]. Развитие «цитокинового шторма» сочетается с диссеминированным внутрисосудистым свертыванием крови с окклюзией мелких сосудов [81, 94] или массивными кровотечениями, клинически проявляющиеся одышкой, гипоксемией, гипотонией, гемостатическим дисбалансом, вазодилататорным шоком, приводящем пациентов к смерти.

Сочетание гипервоспаления, коагулопатии и тромбоцитопении подвергает пациентов с «цитокиновым штормом» высокому риску спонтанного кровотечения. При этом наблюдается повышение уровня С-реактивного белка (СРБ) [108], гипертриглицеридемия, лейкоцитоз или лейкопения, анемия, тромбоцитопения, повышение концентрации ферритина и D-димера, а также резкое повышение уровня интерлейкина-6 в сыворотке крови [53]. Было показано, что при повышении уровня провоспалительных цитокинов может развиваться гемофагоцитоз [80]. Более высокие уровни интерлейкина-6 оказались тесно связаны с худшей выживаемостью [54]. Herold et al.(2020) в своих исследованиях показали, что прогностическая ценность повышенного уровня сывороточного ИЛ-6 превосходит таковые для СРБ и ферритина при прогнозировании дыхательной недостаточности и смерти. Пороговое значение ИЛ-6 ≥ 80 пг/ мл является фактором развития «цитокинового шторма». Кроме того, было показано что уровень ИЛ-6 > 80 пг/ мл в сочетании с СРБ > 97 мг/л является высокопрогностическим фактором развития дыхательной недостаточности [52].

Относительная частота циркуляции активированных CD4+ и CD8+ Т-клеток и плазмобластов при «цитокиновом шторме» COVID-19 также увеличивается, как и повышение уровня СРБ и D-димера, возникает гипоальбуминемия, почечная дисфункция и кровоизлияния [75].

1.3 Морфофункциональные изменения в легких при COVID-19

Вирусная интерстициальная пневмония, выражающаяся в виде диффузного альвеолярного повреждения (клинически – ОРДС), сопровождающегося также развитием тромбогеморрагического синдрома, реже - септического шока, является одним из самых тяжелых клинических проявлений новой коронавирусной инфекции. Существуют различия между классическим вариантом ОРДС и вариантом, развивающимся у пациентов с тяжелым течением COVID-19. Важно отметить, что для ОРДС при COVID-19, в отличие от ОРДС при других патологиях, свойственно относительно сохранная механика дыхания со значительной гипоксемией, которая характеризуется высоким респираторным комплайнсом и высокой фракцией шунта [71]. Дисрегуляция иммунного ответа при COVID-19 характеризуется провоспалительной фазой с развитием последующей иммунной супрессии [66]. Также считается, что в случае тяжелого течения заболевания, фундаментальным патогенетическим аспектом, приводящим к смерти, является развитие микрососудистых нарушений [42, 63].

Выявлено сходство гистологических изменений при COVID-19 с описанными ранее при тяжелом остром респираторном синдроме (SARS), Ближневосточном респираторном синдроме (MERS), а также при гриппе А (H1N1) [35, 45, 64].

По данным литературы в отдельных случаях отмечалось сочетание экссудативной и пролиферативной фаз. Так в работе Duarte-Neto A.N. et al. (2020) у 8 из 10 умерших было обнаружено сочетание фаз диффузного альвеолярного повреждения легких [35]. Исследователи предполагают, что существует связь этого явления с проведением механической вентиляции легких и длительной персистенцией вируса, который может выявляться в ткани легкого в течение длительного срока [25, 116].

Цитопатические изменения в бронхиальном и альвеолярном эпителии обусловлены, вероятнее всего, прямым вирусным повреждением клеток, о чем свидетельствует обнаружение вируса SARS-CoV-2 в альвеолярном эпителии [25, 111]. Описано наличие многоядерных гистиоцитов при вирусной

интерстициальной пневмонии при COVID-19, которые были обнаружены при SARS и MERS, но не при гриппе А (H1N1) [70, 90].

Продолжает обсуждаться вопрос относительно вирусного повреждения лимфоцитов CD4+ Т-клеток. Несмотря на то, что на этих лимфоцитах отсутствуют рецепторы к АПФ2, есть предположение, что вирус может проникать в клетку путем слияния вирусной оболочки и клеточной мембраны и эндоцитоза. В результате чего, часть лимфоцитов может погибать, как предполагается, путем апоптоза или пироптоза [65].

В работах ряда авторов [16, 62] была подтверждена высокая частота обнаружения тромбов и микротромбов в капиллярах и мелких ветвях легочных артерий. В исследовании Wichmann et al [104], указывается на высокую частоту глубоких венозных тромбозов, составившую 58% в группе из 12 умерших, в работе Edler et al. – признаки тромбоза были обнаружены у 40% из 80 умерших [36]. При помощи сканирующей и конвекционной коррозионной электронной микроскопии было продемонстрировано наличие вирусных частиц в эндотелии сосудов легких, а также признаки капиллярного ангиогенеза. Сосудистые повреждения сопровождаются тромбозом, вазоконстрикцией и инвагинационным ангиогенезом (процессом новообразования кровеносных сосудов путем разделения сосуда на два просвета за счет включения циркулирующих ангиогенных клеток) [79]. Описано наличие эндотелиита, вызванного эндотелиальной дисфункцией [63]. При вскрытии пациентов с COVID-19 Ackermann et al. наблюдали развитие инвагинального ангиогенеза в легких не только на ранних сроках заболевания, но и в период более 20 дней. Аналогичные изменения обнаружены также в сердце, печени, почках, мозге и лимфорегикулярных органах [60]. При этом частота встречаемости ангиогенеза была почти в три раза выше, чем при вирусной пневмонии, вызванной гриппом А (H1N1).

Тесная связь воспаления и ангиогенеза представляет собой основу в развитии воспаления. В поврежденных эндотелиальных клетках и перицитах повышается экспрессия толл-подобных рецепторов (TLR), которые вместе с их внутриклеточным адаптерным белком MyD88 распознаются как сигналы

врожденной иммунной системы. SARS-CoV-2 и другие коронавирусы могут распознавать TLR и MyD88. Стимуляция эндотелиальных TLR и MyD88 приводит к высвобождению цитокинов (интерферона γ , TNF α , интерлейкина 1 α , колоние-стимулирующего фактора гранулоцитов и др.), хемокинов, молекул адгезии лейкоцитов (E-селектина, молекул межклеточной адгезии 1, белка адгезии сосудистых клеток 1), медиаторов прокоагуляции (фибрина, ингибитора активатора плазминогена, фактора фон Виллебранда) и проангиогенных факторов (фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), NOS) [59]. Передача сигналов CXCL12 / CXCR4 была идентифицирована как важный молекулярный регулятор инвагинационного ангиогенеза и гипоксии, о чем свидетельствовало обнаружение положительной обратной связи между экспрессией CXCL12 (SDF1), гипоксией и высвобождением eNOS, что можно интерпретировать как адаптацию сосудистой системы для поддержания кровотока в ответ на длительно текущее воспаление. Следовательно, выраженное высвобождение eNOS является ключевым физиологическим процессом для поддержания кровоснабжения в тканях с выраженными микротромбозами и для инициирования восстановления тканей за счет расширения сосудистой архитектуры вследствие ангиогенеза [32].

Коагулопатия является частым проявлением при тяжелом течении COVID-19. В исследовании 191 пациентов с COVID-19, у 50% умерших имели место признаки нарушения свертывания, в то время как у выживших этот показатель составил лишь 7%. Высокая концентрация D-димера (>1000 мкг/мл) является прогностически неблагоприятным фактором, ассоциированным с высоким риском смерти [62]. Однако, показано, что у пациентов с COVID-19, как правило, не происходит существенного снижения доли тромбоцитов и концентрации фибриногена, а также не развивается синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС). Последний был выявлен лишь у небольшой доли пациентов в терминальную стадию заболевания. В связи с этим коагуляционный синдром при COVID-19 было предложено называть «диффузной легочной внутрисосудистой коагулопатией» [77, 96]. Активация системы коагуляции описана для ряда вирусных пневмоний, включая коронавирусную, а

также вызванную вирусом Эбола, ВИЧ и вирусом Денге [43, 83]. Коронавирусная инфекция может быть триггером нарушения системы коагуляции, патогенетические механизмы которой сложны и включают эндотелиальную дисфункцию, характеризующуюся повышением выработки фактора фон Виллебранда, системным воспалением с активацией Toll-подобных рецепторов, активацией прокоагуляционных факторов. Предполагается, что процесс тромбообразования может быть связан с гипоксией, вызывающей активацию факторов транскрипции, и иммунным повреждением, связанным с действием антифосфолипидных антител [29, 43, 63, 111]. Ряд авторов указывает на наличие эндотелиита, в том числе лейкоцитарного, как причины повреждения эндотелия [100].

Полнокровие и микротромбоз капилляров межалвеолярных перегородок является одним из морфологических признаков вирусной пневмонии COVID-19 [78, 104]. Предполагается, что одной из возможных причин смерти при инфекции COVID-19 является нарушение коагуляции в поздние сроки заболевания, при практически полном разрешении вирусной пневмонии. Механизмы таких повреждений требуют дальнейшего изучения и уточнения.

Плоскоклеточная метаплазия бронхиолярного и альвеолярного эпителия была ранее описана при SARS, MERS, гриппе А (H1N1). Ряд авторов указывает на выраженную плоскоклеточную метаплазию при COVID-19 [5, 35, 62, 95], что, вероятнее всего, связано с прямым вирусным повреждением эпителия, с влиянием кислорода при ИВЛ, а также с действием протеина Е коронавируса, повреждающего межклеточные контакты, что приводит к нарушению процессов репарации [98].

В работе Thais M. et al. (2020) с помощью микроинвазивной аутопсии были взяты по восемь кусочков у 41 пациента с последующим описанием гистологической картины и выделением фазы ДАП. Определялась частота встречаемости каждого признака и проводилась корреляция каждого признака с длительностью заболевания [86].

В литературе существует лишь одна статья, посвященная сопоставлению КТ картины и морфологии легких при COVID-19. В работе Emanuela B. et al. (2021) с помощью трансбронхиальной криобиопсии были взяты по 2 кусочка с каждой доли легких у восьми умерших с описанием гистологических изменений в этих кусочках и последующим сопоставлением с прижизненным КТ исследованием [18].

1.4. Методы диагностики

Для диагностики COVID-19-ассоциированной вирусной интерстициальной пневмонии используются три основных критерия [33]: 1. Наличие эпидемиологического анамнеза: контакт с инфицированным пациентом. 2. Клинико-лабораторные проявления: лихорадка и/или наличие респираторных симптомов. Для лабораторной диагностики COVID-19 применяется метод полимеразно-цепной реакции (ПЦР). При проведении лабораторного исследования чаще всего используют биоматериал, взятый при заборе мазка из носоглотки и/или ротоглотки. Дополнительным материалом для исследования также используются (эндо)трахеальный, назофарингеальный аспират, промывные воды, полученные при фибробронхоскопии (бронхоальвеолярный лаваж), мокрота, биопсийный или аутопсийный материал легких, сыворотка, цельная кровь, фекалии, моча. 3. Компьютерная томография (КТ) легких, является ценным инструментом для понимания превалирующего патологического процесса обладая высокой чувствительностью [6, 116]. К основным КТ-признакам, встречающимся при коронавирусной пневмонии, относят: «матовое стекло», симптом «булыжной мостовой» (англ. - crazy paving), консолидация и симптомокомплекс организующейся пневмонии [6, 93]. По данным прижизненного КТ исследования и патологоанатомических изменений легких на аутопсии описана определенная стадийность (фазность) изменений с возможным преобладанием одного из рентгенологических признаков [58, 84, 91, 102]. Основным КТ-признаком в раннюю фазу заболевания является снижение прозрачности легочной ткани по типу «матового стекла», что соответствует экссудативной фазе заболевания. [55]. При прогрессировании заболевания и увеличении площади поражения КТ признаками является усиление

интерстициального рисунка, симптом «crazy paving» или «консолидация», что соответствует пролиферативной фазе заболевания [41, 87].

Остается неясным, какие КТ-симптомы и их динамика отражают течение заболевания, изменения, связанные с проводимым лечением, и имеют ли КТ-симптомы значение для оценки прогноза [58, 84, 91, 102].

Резюме литературного обзора.

Таким образом, несмотря на большое число исследований посвященных COVID-19, морфологические исследования легких носят разрозненный характер и, основаны, как правило, на небольшом объеме аутопсийного материала. Непонятна частота выявления различных признаков диффузного альвеолярного повреждения в разные его фазы. Следует уточнить частоту микротромбозов и тромбозов при этой вирусной инфекции, возможный патогенез их развития, а также их роль в течении заболевания. С помощью ИГХ исследования следует уточнить локализацию вируса в различных структурных единицах легких в разные фазы диффузного альвеолярного повреждения. В доступной литературе отсутствует гистологическая характеристика в легких в фазу «цитокинового шторма». Имеются лишь единичные исследования, посвященных сопоставлению изменений (рентгенологических симптомов) при КТВР и гистологические изменений в ткани легких при COVID-19.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Клинико-морфологическая характеристика вирусной интерстициальной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2.

Проанализированы медицинские карты стационарного больного, протоколы вскрытий и проведена оценка гистологических изменений в легких на материале аутопсий 196 умерших от новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2 за период с марта 2020 по октябрь 2021 года. Материал был любезно предоставлен заведующими патологоанатомических отделений городской клинической больницы №52 ДЗМ (главный врач - Лысенко Марьяна Анатольевна), городской клинической больницы им. М.Е. Жадкевича (главный врач - Мясников Александр Леонидович), клинической инфекционной больницы №2 (главный врач - Краснова Светлана Васильевна), Центральным научно-исследовательским институтом туберкулеза (главный врач - Куклина Галина Михайловна), городской клинической больницы им. Д.Д. Плетнева (главный врач - Назарова Ирина Александровна), городской клинической больницы №31 ДЗМ (главный врач - Ефремова Наталья Михайловна). Во всех наблюдениях прижизненно была подтверждена новая коронавирусная инфекция COVID-19 методом ПЦР при исследовании назофарингеальных мазков. Из 196 умерших - мужчин - 114 (58,18%), женщин - 82 (41,84%); (соотношение ж:м - 1:1,2). Средний возраст составил $70,35 \pm 13,55$ (29 – 94 лет), у женщин - $72,01 \pm 15,59$, у мужчин - $68,54 \pm 12,58$. (рис. 1 и 2).

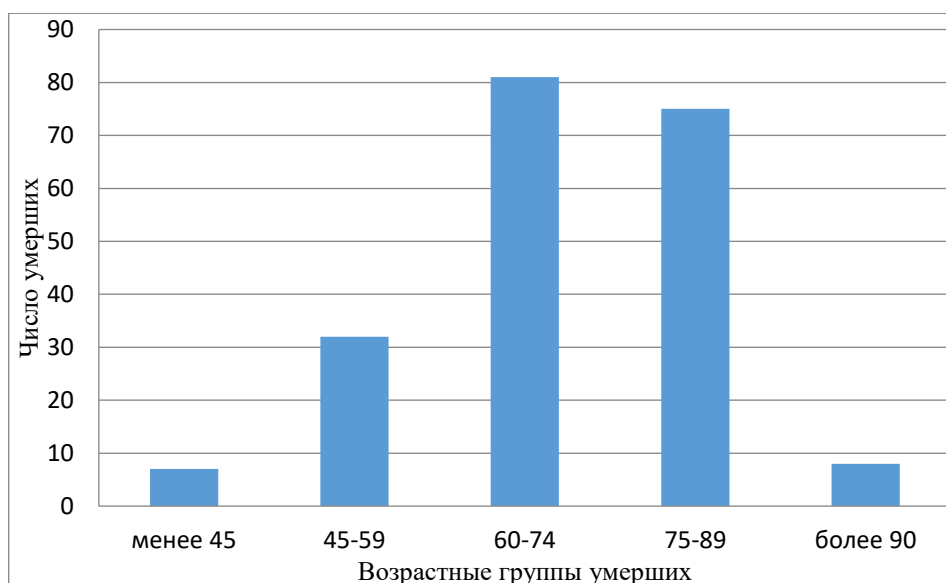


Рис. 1. Распределение умерших по возрасту.

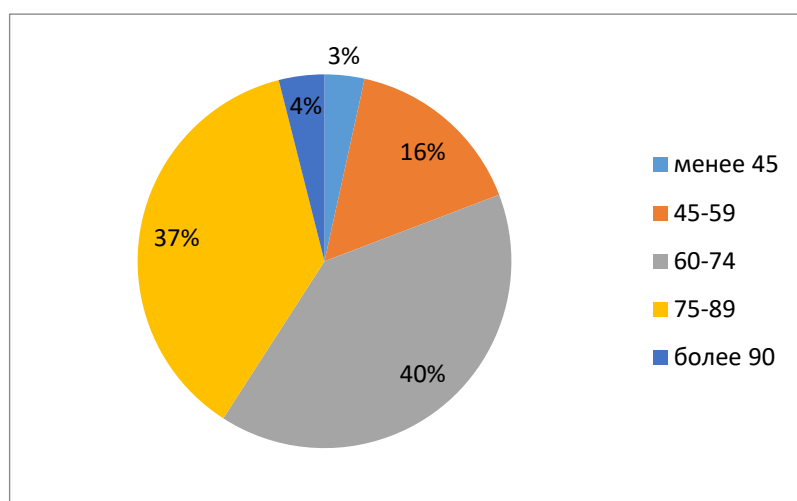


Рис. 2. Доли умерших в разных возрастах.

Около половины умерших - 81(40%), относились к возрастному диапазону 60-74лет, в диапазоне 75-89 лет - 75 (37%) умерших, на остальные возрастные диапазоны пришлось 47 (23%) умерших.

Длительность заболевания от момента возникновения симптомов до наступления летального исхода составила 17 (3-75) суток, продолжительность госпитализации составила 9 (1-75) суток. Части пациентов (72%) была проведена ИВЛ, медиана продолжительности которой составила 4 (1-30) суток.

2.2 Методы исследования

1. Макроскопическую картину в легких оценивали на основании протоколов аутопсий, а также при проведении прицельного взятия материала после фиксации легких.

2. Анализ гистологических изменений в легких проводили парафиновых срезах толщиной 3-5 мкм, изготовленных по общепринятой методике с последующей окраской гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Верхофф-Ван-Гизону, MSB по Лёндруму.

3. Для иммуногистохимического исследования с целью определения экспрессии различных антигенов использовали моно- и поликлональные антитела. Характеристика иммуногистохимических биомаркеров приведена в таблице 1.

Иммуногистохимические биомаркеры

Иммуногистохимические маркеры	Клон	Фирма-производитель
X155 (анти-нуклеокапсид SARS-CoV-2)	Мышиные моноклональные антитела	XEMA (Москва, Россия)
FVIII	Мышиные моноклональные антитела	Cell Marque (Rocklin, California, United States)
TNF α	Мышиные моноклональные антитела	Cell Marque (Rocklin, California, United States)
CK7	Мышиные поликлональные антитела	Cell Marque (Rocklin, California, United States)
CD68	Мышиные поликлональные антитела	Cell Marque (Rocklin, California, United States)
CD4	Кроличьи поликлональные антитела	Cell Marque (Rocklin, California, United States)
CD8a	Мышиные моноклональные антитела	Cell Marque (Rocklin, California, United States)

После депарафинизации обработка срезов проводилась 10% фосфатно-буферным раствором с последующей высокотемпературной

демаскировкой антигенов с помощью кипячения в миниавтоклаве «Pascal» (Canada). В роли демаскировочного буфера использовали 6%-ный раствор цитратного буфера (pH=6,0). В качестве хромогена применяли 1%-ный раствор 3,3-диаминобензидина, затем препараты были докрашены гематоксилином и заключены в монтирующую среду.

Микрофотосъемка гистологических препаратов осуществлялась при помощи микроскопа Nikon ECLIPSE E200 (Japan) на цифровую фотокамеру Nikon (Japan). Оценка результатов иммуногистохимической реакции проводили с учетом наличия или отсутствия экспрессии соответствующих антител.

2.3 Сравнительная оценка рентгенологических и морфологических изменений в легких при новой коронавирусной инфекции по материалу аутопсий.

Критерием включения пациента в исследования являлось выполнение КТ-исследования не ранее, чем за 5 сут. до наступления летального исхода.

Разработана методика (описана ниже) прицельного взятия материала ткани легкого из участков, обозначенных при анализе прижизненного КТ-исследования.

Были получены 45 прицельно взятых кусочков ткани легкого от 14 умерших (7 мужчин/7 женщин), средний возраст умерших составил $77,1 \pm 12,9$ (49–90) года. Среди них 9 пациентов скончались в отделении реанимации и интенсивной терапии, из них 8 (58%) находились на ИВЛ. Летальный исход наступил на 1–5-е сутки после последней проведенной КТ (медиана 2,0 дня [0–3,5]).

Методика исследования.

КТ-исследования проводили с использованием стандартного протокола для органов грудной клетки и алгоритма high-resolution на мультidetекторном компьютерном томографе Toshiba aquilion prime (Япония). Были использованы следующие параметры сканирования: коллимация $64 \times 0,625$, реконструкция 1 мм, инкремент 0,5 мм. Исследование проводили в положении больного на вдохе или без синхронизации с дыханием у пациентов на искусственной вентиляции легких (ИВЛ).

КТ-исследования проводили с использованием стандартного протокола для органов грудной клетки и алгоритма high-resolution на мультidetекторном компьютерном томографе Toshiba aquilion prime (Япония). Был проведен анализ последних прижизненно проведенных КТ-исследований умерших пациентов с выделением всех имеющихся и ведущих КТ-симптомов, включая: “матовое стекло”, “булыжную мостовую”, консолидацию, симптомокомплекс организующейся пневмонии (зоны консолидации треугольной и полигональной формы, перилобулярную консолидацию, субплевральные тяжи консолидации, а также симптом “ободка” и “обратного ободка”). Градация выраженности симптомов осуществлялась по трехбалльной системе: 0 – симптом отсутствует, 1 – присутствует, 2 – выражен. На основании выделенных КТ-симптомов были выбраны прицельные точки взятия материала при помощи построения трехмерных реконструкций. (рис. 3).

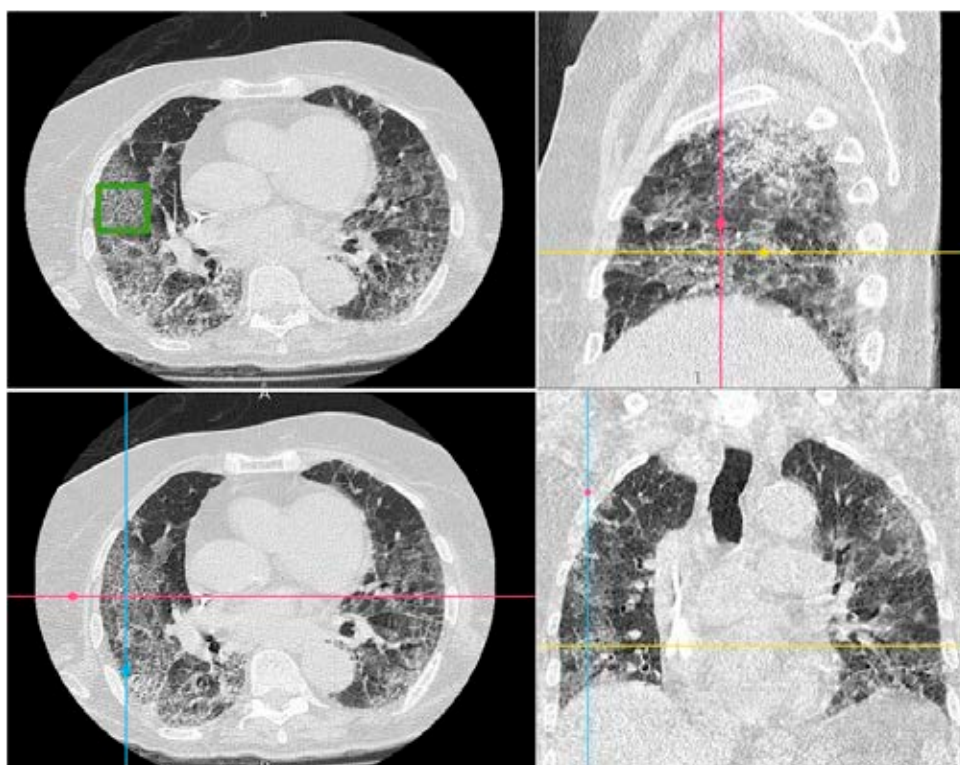


Рис. 3. Разметка КТ-изображений с использованием мультипланарной реконструкции («булыжная мостовая»).

На аутопсии легкие фиксировали целиком, не извлекая из плевральных полостей, путем введения 10% нейтрального формалина через трахею под давлением 18–20 мм водного столба до их полного расправления. После этого

комплекс сердце-легкие помещали в раствор 10% нейтрального (на 10% фосфатном буфере) формалина, пятикратно превышающий объем комплекса, на 24 часа. Затем каждое легкое разрезали фронтально и получали срезы толщиной 1 см, которые были сфотографированы (рис. 4). Это позволяло установить участки измененной ткани, обозначенные на томограммах рентгенологом. Далее из обозначенных на компьютерной томограмме участков вырезали от 1 до 3 кусочков размерами $2 \times 1 \times 0,5$ см, которые заливали в парафин и обрабатывали по общепринятой методике с последующей окраской гематоксилином и эозином, пикрофуксин-фукселином срезов толщиной 3–5 мкм.

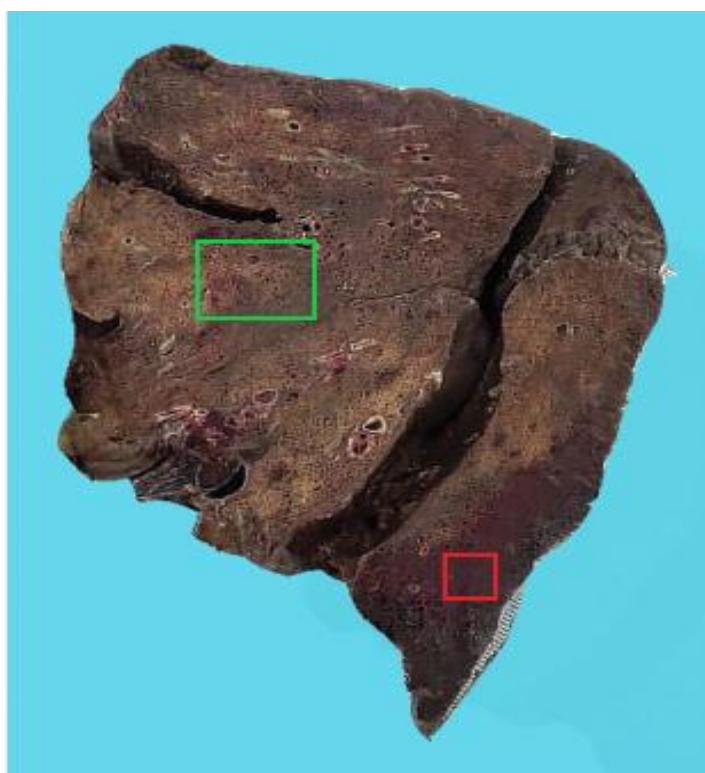


Рис.4. Мужчина 74 лет, 18 суток. Фронтальный разрез с выделением участков изменённой ткани, согласно КТ-навигации: верхний квадрат - чередование участков плотной и воздушной ткани легкого, нижний - фокус кровоизлияния.

Анализ материала проводили путем выявления всех имеющихся изменений и выделения ведущего из них по трехбалльной шкале: 0 – изменение отсутствует, 1 – присутствует, 2 – выражено. В числе выявляемых изменений были следующие:

- 1) наличие в просветах полостей альвеол различных клеток/гиалиновых мембран;
- 2) внутриклеточный фибрин;
- 3) внутриальвеолярный отек;
- 4) интерстициальное воспаление в виде лимфоидной инфильтрации, отека, отложения коллагена в межалвеолярных перегородках – неспецифическая интерстициальная пневмония (НСИП);
- 5) наличие внутриальвеолярной грануляционной (фибробластической) ткани, что соответствует организующейся пневмонии;
- 6) наличие эритроцитов в альвеолах;
- 7) диффузные и/или очаговые внутриальвеолярные кровоизлияния, выраженное альвеолярное кровоизлияние/геморрагический инфаркт;
- 8) наличие тромбов в артериях;
- 9) наличие тромбов в венах;
- 10) метаплазия эпителия альвеол;
- 11) десквамация эпителия альвеол;
- 12) внутриклеточные вирусные частицы, симпласты.

Таким образом, для каждого препарата была выявлена комбинация перечисленных изменений с выделением (при его наличии) ведущего.

2.4 Статистические методы

При описании количественных переменных применялись статистические параметры: число пациентов, среднее арифметическое значение, стандартное отклонение от среднего арифметического значения, 25 и 75 перцентили, медиана, χ^2 , таблица сопряжений. Статистически достоверными считались различия при уровне ошибки $p < 0,05$. [4, 9, 10]. Для статистической обработки данных на персональном компьютере (ПК) были использованы программа Microsoft Excel 2018 и версия статистического анализа Statistica 11.0. [3].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клинико-морфологическая характеристика гистологических изменений в легких при новой коронавирусной инфекции по материалу аутопсий.

Наиболее частыми сочетанными заболеваниями являлись ишемическая болезнь сердца (ИБС), гипертоническая болезнь (ГБ), сахарный диабет, ожирение, онкологические и гематологические заболевания, болезни органов дыхания (БОД) и другие (парапроктит, трансплантация, туберкулез). (Рис. 5.)

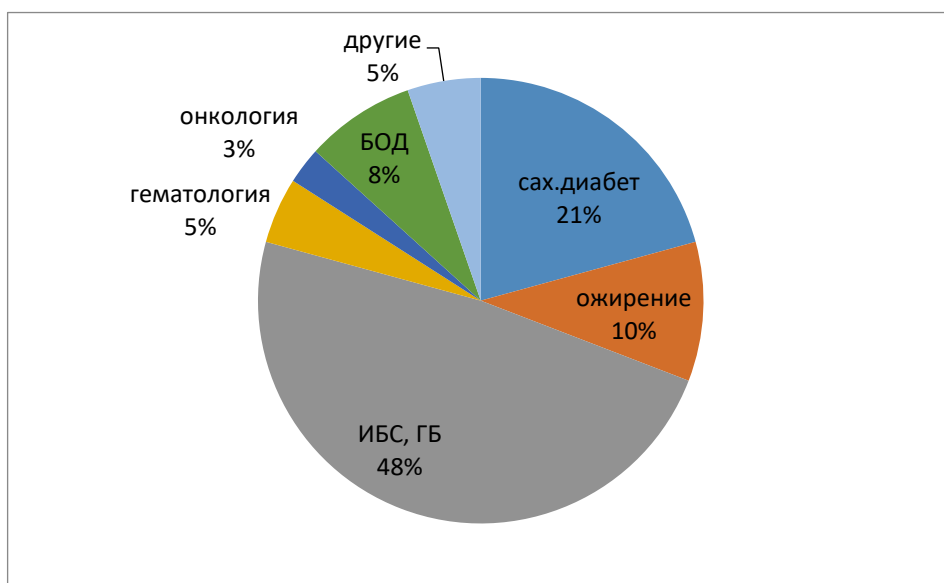


Рис. 5. Характер сочетанной патологий

Около половины 91(48%) пациентов страдали ИБС, ГБ. Сахарный диабет встречался у 39 (21%) пациентов, ожирение - у 19 (10%), БОД - у 15 (8%). Остальные варианты сочетанных заболеваний были обнаружены у 24 (13%) умерших.

В результате анализа 196 медицинских карт стационарного больного были оценены основные клинико-лабораторные данные, приведенные в таблице 2.

Таблица 2.

Основные клинические и лабораторные данные умерших.

Женщины/мужчины n=196	82/114
Возраст*	72 (30-94)
Диагноз COVID-19 (RT-PCR – назо/орофарингеальный мазок)**	196 (100%)
Время от наступления симптомов до наступления смерти, сут*	14 (3-75)
Продолжительность госпитализации, сут.*	9 (1-75)
Продолжительность вентиляции, сут.*	4 (1-30)
Лабораторные показатели n=123	
Общее количество лейкоцитов ($\times 10^9/\text{л}$) ***	11,24 $\pm$ 7,29 (1,4-31,4)
Абсолютное число лимфоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)*	0,6 (0-9)
С-реактивный белок (мг/л)*	170 (15-431)

Примечание: * приведены медиана (минимум-максимум) для количественных переменных с нормальным распределением, ** приведены абсолютные значения (процент), *** средние значения+стандартное отклонение (минимум-максимум).

Микроскопическая оценка была проведена на аутопсийном материале легких от 196 умерших (табл.3).

Частота встречаемости гистологических признаков приведена в таблице 3.

Таблица 3.

Частота встречаемости гистологических признаков при новой коронавирусной пневмонии.

Гистологические признаки	Частота признака у умерших (n)	Частота признака в %
гиалиновые мембраны	132	67,4
фибрин в альвеолах	113	57,7
фибрин в бронхиолах	8	4,1
эритроциты в альвеолах	116	59,2
эритроциты в бронхиолах	15	7,7
периваскулярное кровоизлияние	3	1,5
сидерофаги в альвеолах	34	17,4
внутриальвеолярный отек	126	64,3
крахмальные тельца	12	6,1
интерстициальное воспаление	66	33,7
цитотоксический эффект	58	29,6
мегакариоциты	10	5,1
грануляционная ткань	86	43,9
Инфаркт легкого	37	18,9
тромбы артерий	62	31,6
тромбы вен	23	11,7
тромбы в капиллярах	6	3,1
метаплазия эпителия бронхов	39	19,9
десквамация эпителия бронхов	107	54,6
метаплазия эпителия альвеол	77	39,3
десквамация эпителия альвеол	136	69,4

макрофаги в альвеолах	103	52,6
симпласты	9	4,6
острое вздутие	21	10,7
плазмоциты, лимфоциты в альвеолах	71	36,2
дистелектаз	30	15,3
нейтрофилы в бронхах, бронхиолах, альвеолах(бактериальная бронхопневмония)	57	29,08%

Анализ гистологических изменений в легких был проведен двумя независимыми экспертами.

Было проанализировано совпадение результатов с учетом наличия каждого признака. При этом по данным анализа таблицы сопряжения полное совпадение составило в среднем 70,1%. Наименьшие уровни совпадений результатов составили 48,5 и 54,4% соответственно для признаков «цитотоксический эффект в альвеолоцитах» и «десквамация эпителия бронхиол».

На аутопсии типичная макроскопическая картина COVID-19 характеризовалась резко выраженным полнокровием внутренних органов, особенно легких, у части пациентов наблюдали множественные мелкоточечные кровоизлияния в париетальной и висцеральной плевре, шоковые почки. Легкие занимали весь объем грудной полости. Масса легких составила в среднем $1550 \pm 36,2$ (700-3200) г. Макроскопически имела место типичная картина «шоковых легких»: лаковый вид темно-вишневой поверхности легких, резиновая плотность ткани, на разрезе от темно-вишневого до коричневатого-красного цвета, а также маловоздушность. С поверхностей разрезов стекала малиновая непрозрачная густая жидкость, с трудом выдавливаемая из ткани. Как правило, в передних отделах в небольшом числе наблюдений имелись участки острого вздутия, встречались ателектазы (дистелектазы), геморрагические инфаркты, а также кровоизлияния различных размеров, местами сливающиеся между собой, в

отдельных случаях захватывающие целые доли. У части пациентов были обнаружены обтурирующие тромбы в ветвях легочных артерий и вен. На поздних сроках от начала заболевания легкие были уплотнены, на разрезе наблюдали чередование участков темно-коричневого и серовато-желтоватого цвета (рис. 6).



Рис. 6. М. 74 лет, ДЗ 18 суток. Фиксированное легкое плотно-эластичной консистенции с чередованием участков темно-коричневого и серовато-желтоватого цвета.

При микроскопическом исследовании в легком были выявлены признаки вирусной интерстициальной пневмонии в виде диффузного альвеолярного повреждения в различные фазы.

Экссудативная фаза ДАП была выявлена у 93 (47,45%) умерших, медиана длительности заболевания у них составила 15 (4-37) суток. При гистологическом исследовании в этой группе в ткани легкого были обнаружены выраженный внутриальвеолярный отек, гиалиновые мембраны, выстилающие контуры респираторных бронхиол, альвеолярных ходов и мешочков, альвеол в виде полосок различной толщины (рис. 7, 8, 9).

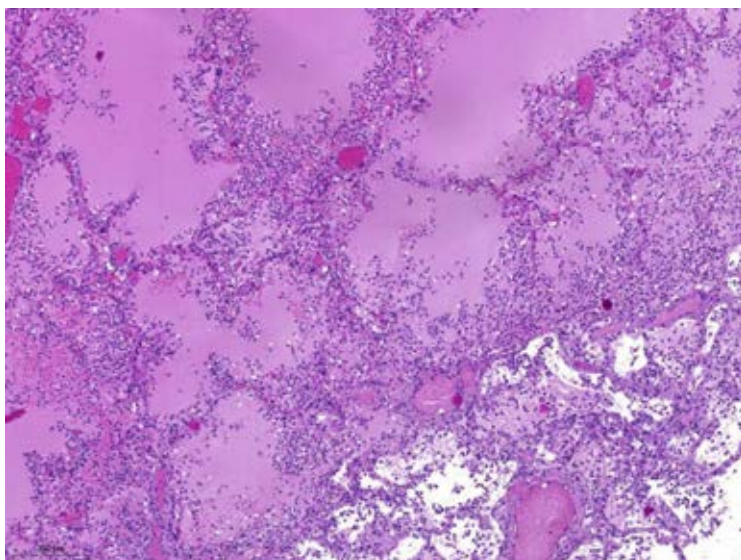


Рис. 7. М. 69 лет, ДЗ 5 суток. Внутриальвеолярный отек, полнокровие сосудов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 60$.

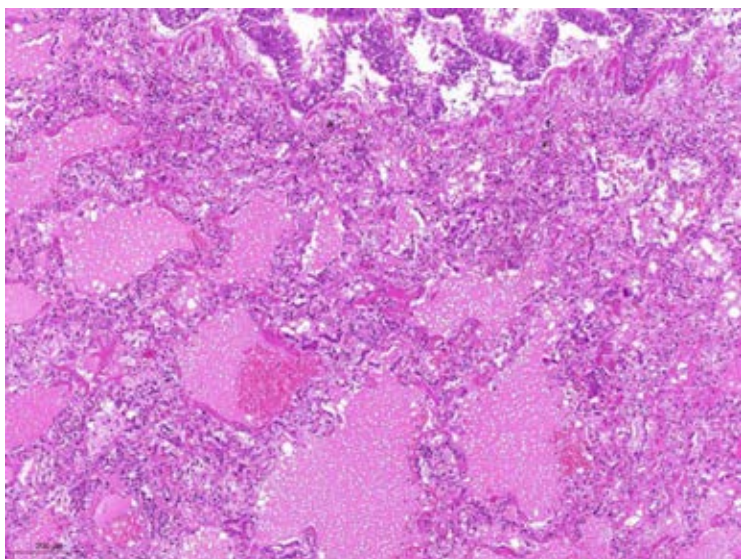


Рис. 8. Ж. 71 год, ДЗ 7 суток. Внутриальвеолярный отек, гиалиновые мембраны, выстилающие контуры альвеол. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 60$.

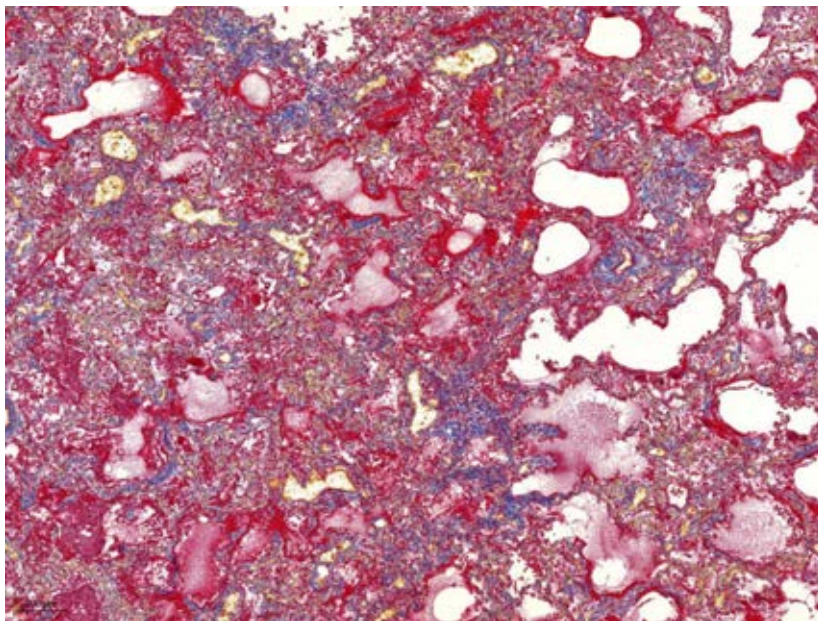


Рис. 9. Ж. 71 год, ДЗ 7 суток. Внутриальвеолярный отек, гиалиновые мембраны, выстилающие контуры альвеол. Окраска MSB по Лендруму, $\times 40$.

Отражением вирусного воздействия на ткань легких явились десквамация эпителия бронхов и бронхиол, альвеолоцитов I и II типа и участки пролиферации альвеолоцитов II типа (рис. 10, 11).

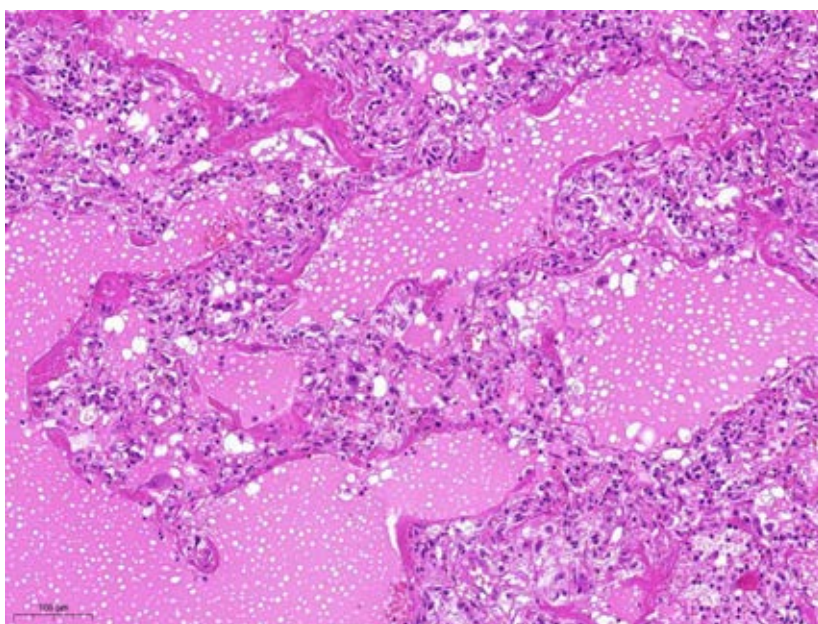


Рис.10. М. 77 лет, ДЗ 8 суток. Внутриальвеолярный отек, множественные гиалиновые мембраны по контуру альвеол. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

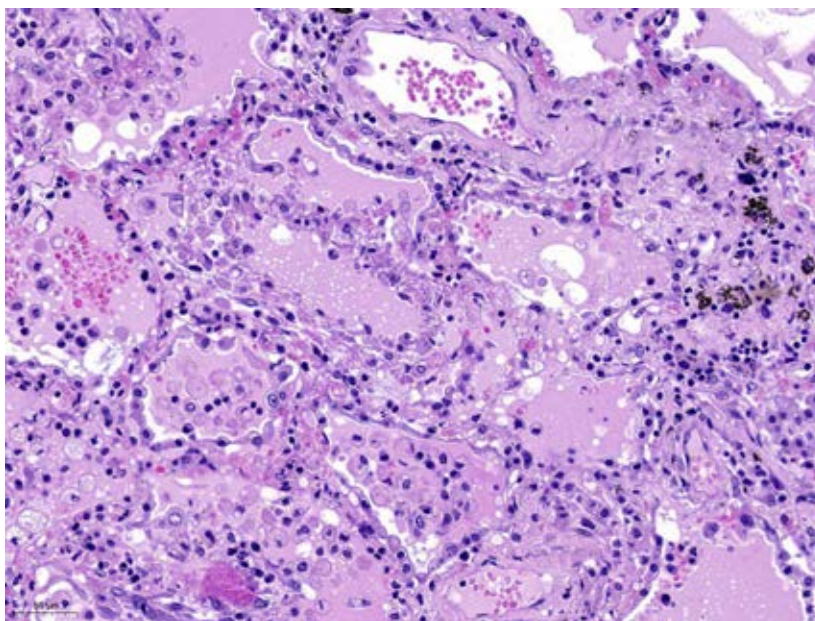


Рис. 11. Ж. 64 года, ДЗ 12 суток. Внутриаальвеолярный отек, скопления в просветах альвеол десквамированного альвеолярного эпителия и макрофагов, утолщенные межальвеолярные перегородки за счет отека и пролиферации альвеолоцитов II типа. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

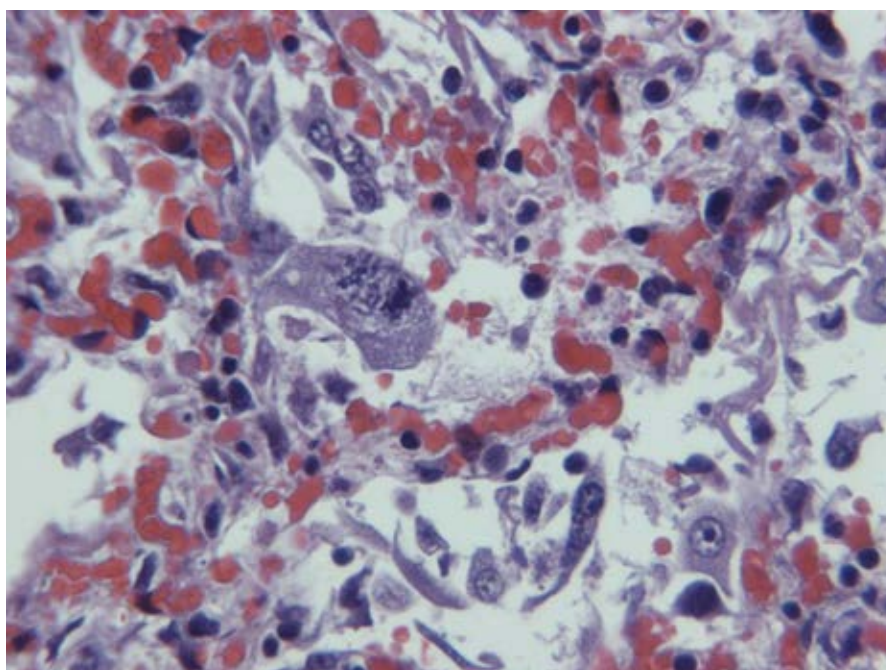


Рис. 12. М. 56 лет, ДЗ 9 суток. Цитопатическое повреждение клеток альвеолярного эпителия: уродливые десквамированные альвеолоциты II типа разной формы и величины. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$.

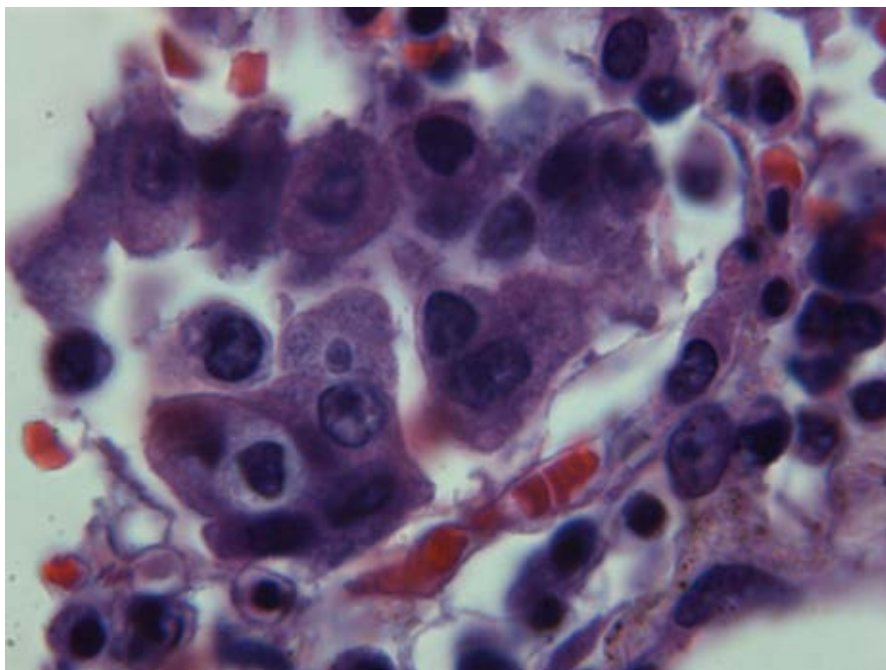


Рис. 13. М. 56 лет, ДЗ 9 суток. Цитопатическое повреждение альвеолярного эпителия: уродливые альвеолоциты II типа разных размеров, вирусные частицы в цитоплазме альвеолоцитов II типа. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$.

У большинства умерших обнаруживали признаки цитопатического повреждения эпителия с появлением уродливых альвеолоцитов, характеризующихся разнообразием форм, изменением ядра с появлением ядрышек, атипических митозов, в части клеток обнаруживали просветления вокруг ядра в виде гало, а также округлые частицы в цитоплазме отдельных клеток (рис 12, 13).

При иммуногистохимическом исследовании с антителом X155 нуклеокапсид вируса SARS-CoV-2 был выявлен в плазматических клетках, гиалиновых мембранах, альвеолоцитах, макрофагах (рис. 14, 15, 16).

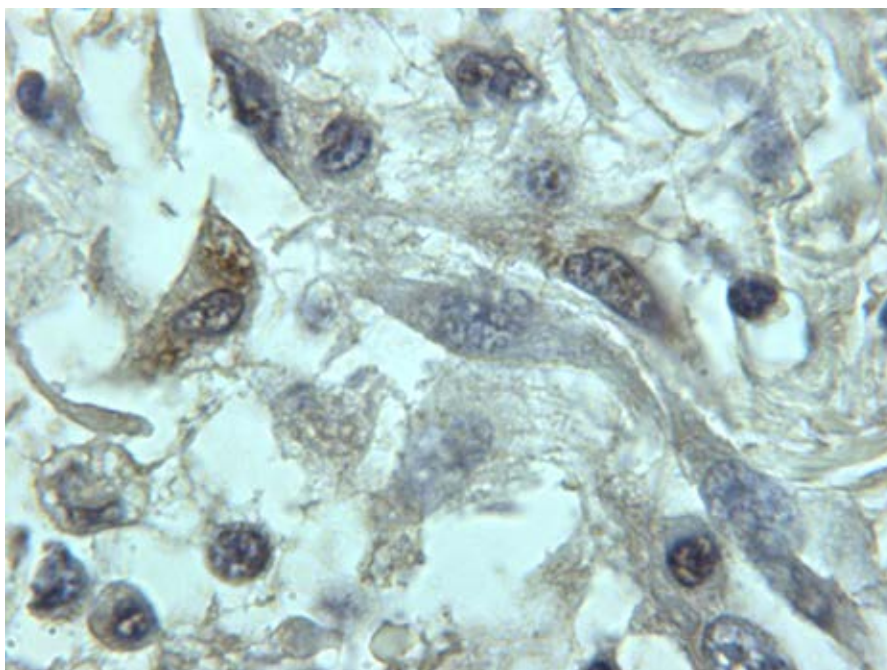


Рис. 14. Ж. 54 лет, ДЗ 10 суток. Нуклеокапсид SARS-CoV-2 в цитоплазме и ядре альвеолоцитов. Иммуногистохимическое исследование с моноклональным мышинным антителом X155, $\times 400$.

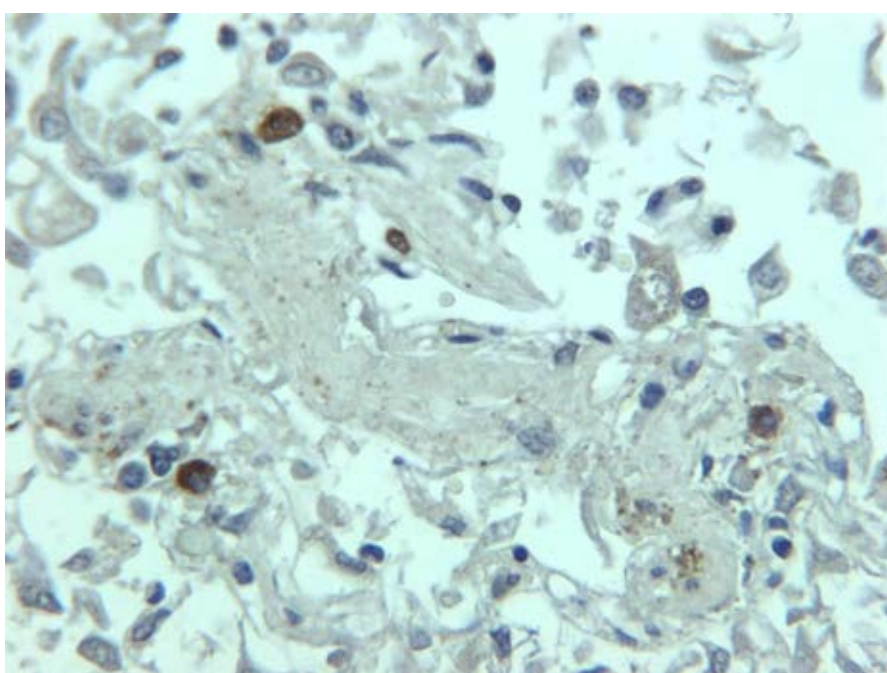


Рис.15. Ж. 73 лет, ДЗ 12 суток. Нуклеокапсид SARS-CoV-2 в гиалиновых мембранах и плазмocyтах. Иммуногистохимическое исследование с моноклональным мышинным антителом X155, $\times 400$.

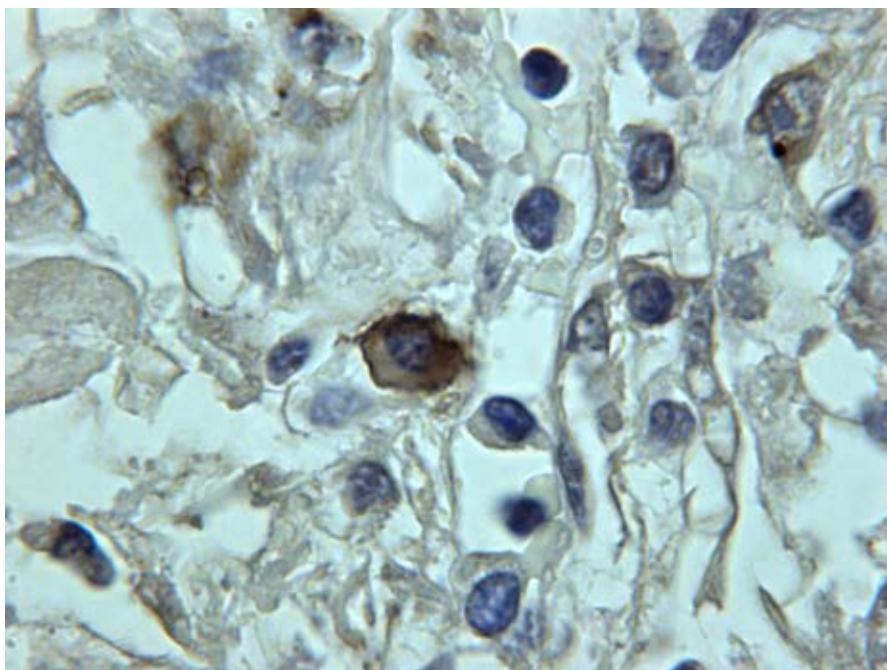


Рис.16. Ж. 73 лет, ДЗ 12 суток. Нуклеокапсид SARS-CoV-2 в плазмоците и альвеолоците. Иммуногистохимическое исследование с моноклональным мышинным антителом X155, $\times 400$.

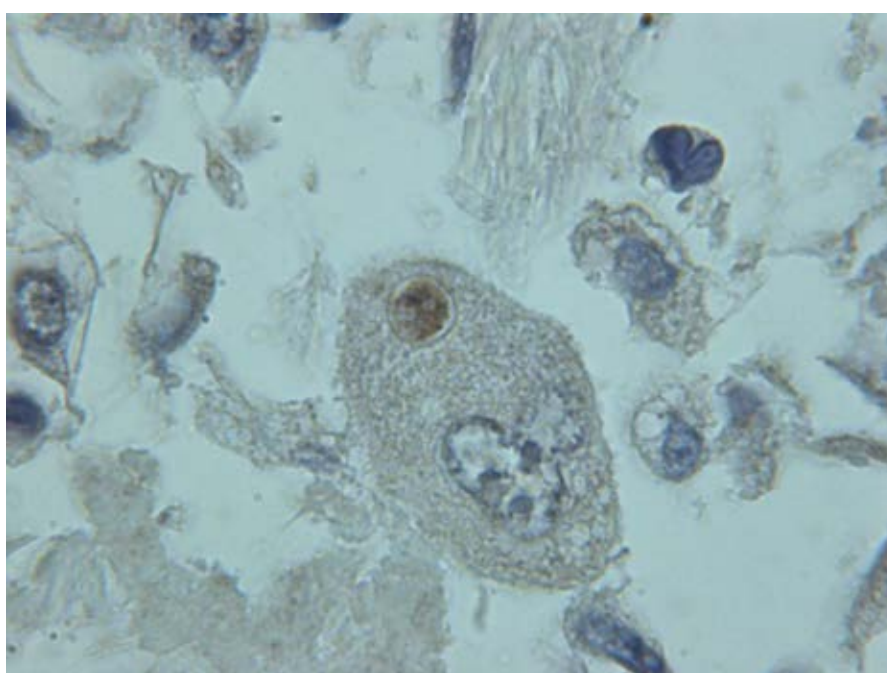


Рис. 17. М. 76 лет, ДЗ 11 суток. Нуклеокапсид SARS-CoV-2 в цитоплазме альвеолоцита. Иммуногистохимическое исследование с моноклональным мышинным антителом X155, $\times 1000$.

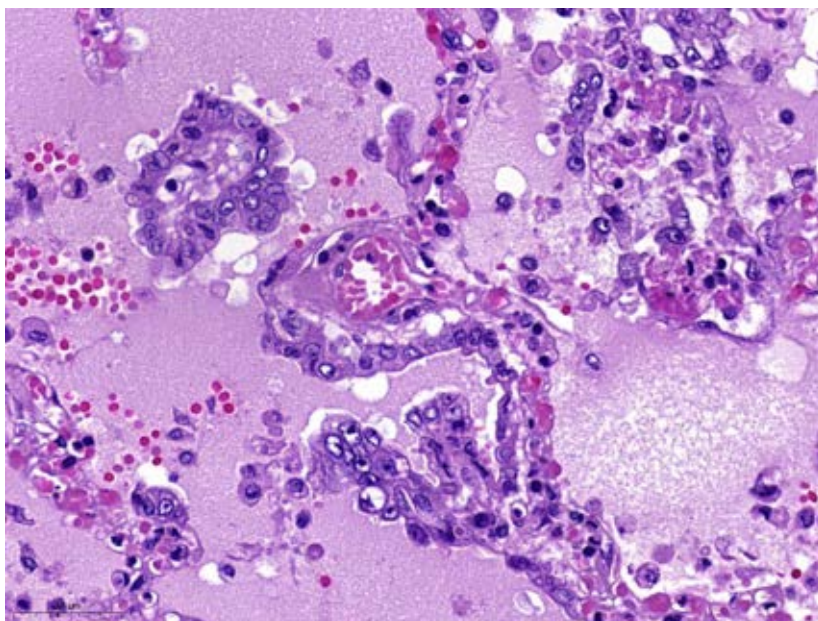


Рис.18. М. 75 лет, ДЗ 5 суток. Внутриальвеолярный отек, клеточный симпласт в просвете альвеолы, пролиферация альвеолоцитов II типа, полнокровие капилляров. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$.

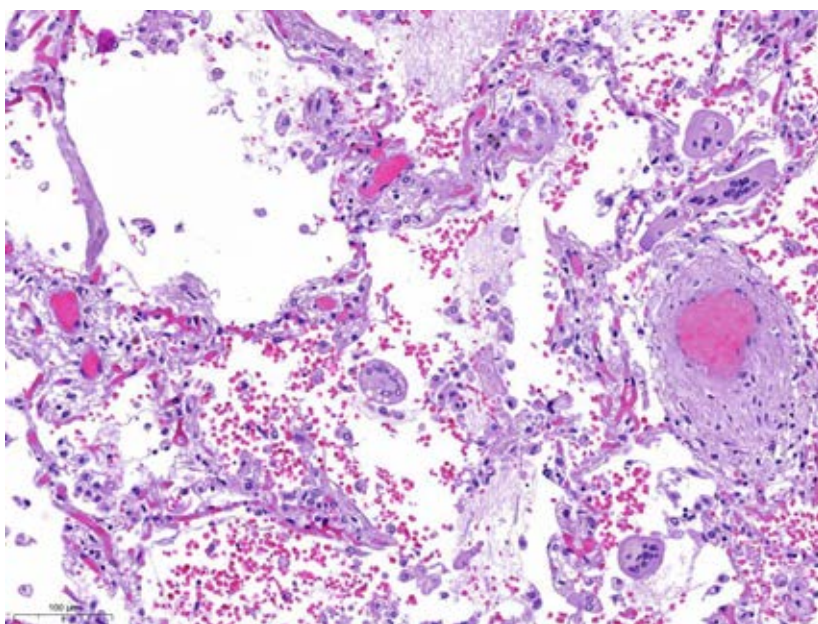


Рис.19. М. 69 лет, ДЗ 9 суток. В просветах альвеол многоядерные макрофаги и эритроциты, полнокровие сосудов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 30$.

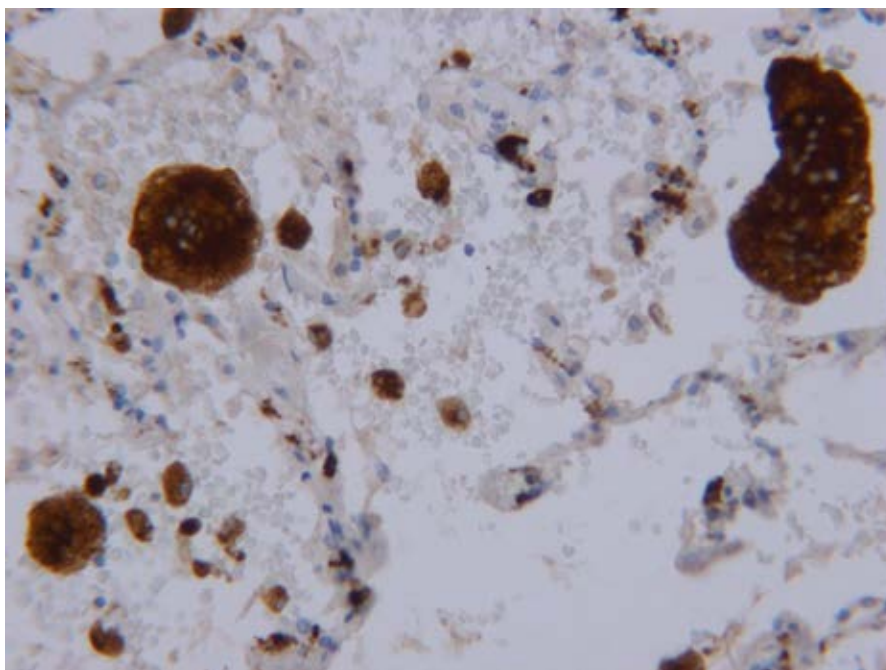


Рис. 20. М 69 лет, ДЗ 9 суток. Экспрессия CD68 в макрофагах. Иммуногистохимическое исследование с поликлональными антителами к CD68, $\times 200$.

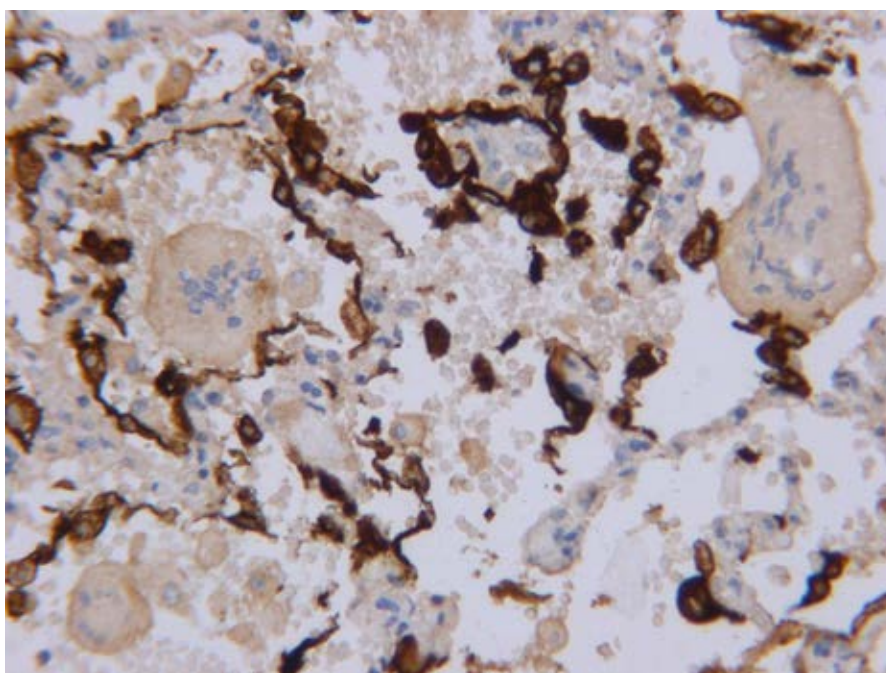


Рис. 21. М. 69 лет, ДЗ 9 суток. Экспрессия цитокератина 7 в альвеолоцитах. Иммуногистохимическое исследование с поликлональными антителами к СК7, $\times 200$.

В единичных наблюдениях в альвеолоцитах были обнаружены вирус-содержащие включения (рис. 17).

В просветах альвеол нередко встречались небольшие симпласты (рис. 18), а у части умерших – и многоядерные макрофаги, экспрессирующие CD68, окруженные скоплениями эпителиальных клеток (положительная экспрессия CK7) (рис. 19, 20, 21).

Наряду с изменениями альвеолярного эпителия, среди десквамированного бронхиального эпителия были обнаружены эпителиоциты с увеличенными ядрами. При ИГХ-исследовании вирус был обнаружен не только в альвеолоцитах I и II порядка (рис. 22), но и в бронхиолярном эпителии, в том числе в ядрах (рис. 23).

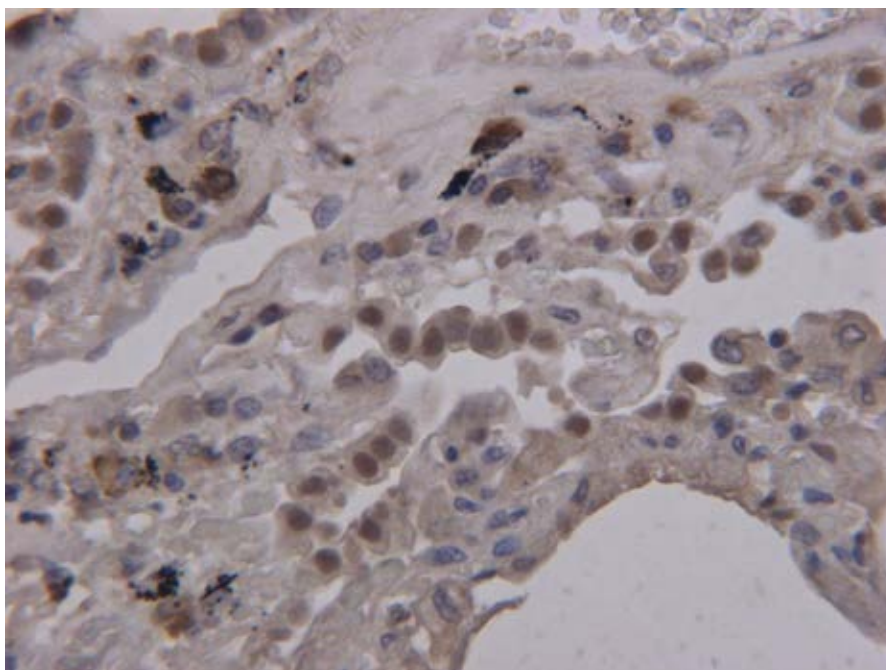


Рис. 22. Ж. 57 лет, ДЗ 8 суток. Нуклеокапсид SARS-CoV-2 в ядрах альвеолоцитов II типа. Иммуногистохимическое исследование с моноклональными мышинными антителами X155, $\times 200$.

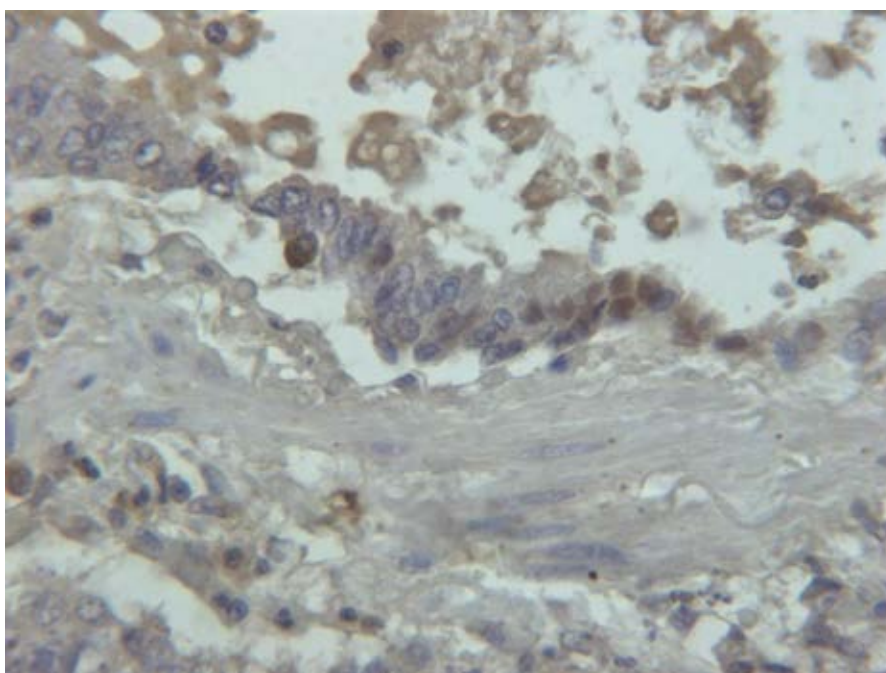


Рис. 23. Ж. 57 лет, ДЗ 8 суток. Нуклеокапсид SARS-CoV-2 в бронхиальном эпителии. Иммуногистохимическое исследование с моноклональными мышинными антителами X155, $\times 200$.

В пяти наблюдениях в просветах бронхов и бронхиол был обнаружен фибрин. У части умерших было выявлено полнокровие сосудов (ветвей легочных

артерий и вен, капилляров межалвеолярных перегородок) с повреждением и десквамацией эндотелиоцитов, со сгустками эритроцитов, организующимися и фибриновыми тромбами, очагами периваскулярных кровоизлияний, внутрибронхиальными и внутриальвеолярными скоплениями эритроцитов (рис. 24, 25, 26).

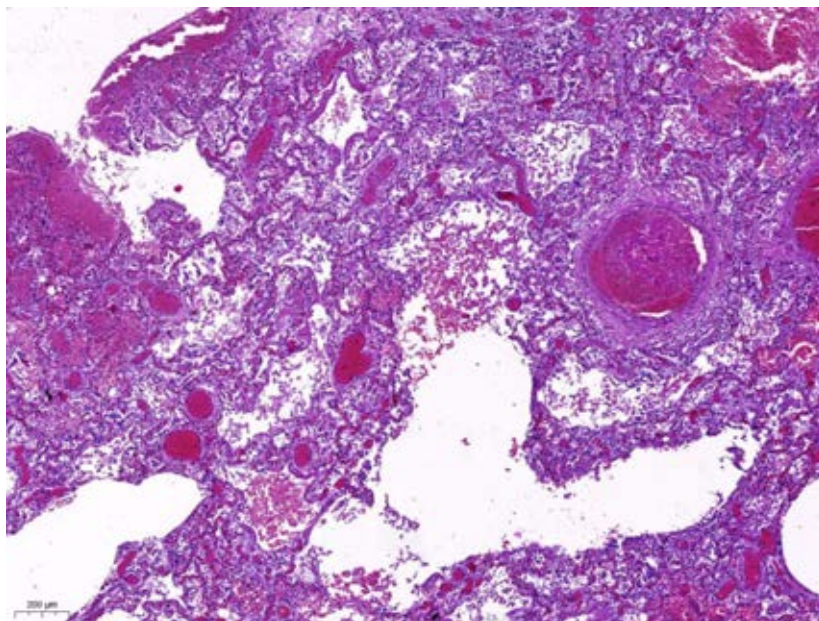


Рис. 24. М. 72 лет, ДЗ 10 суток. В просветах альвеол очаговые скопления эритроцитов, полнокровие сосудов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$.

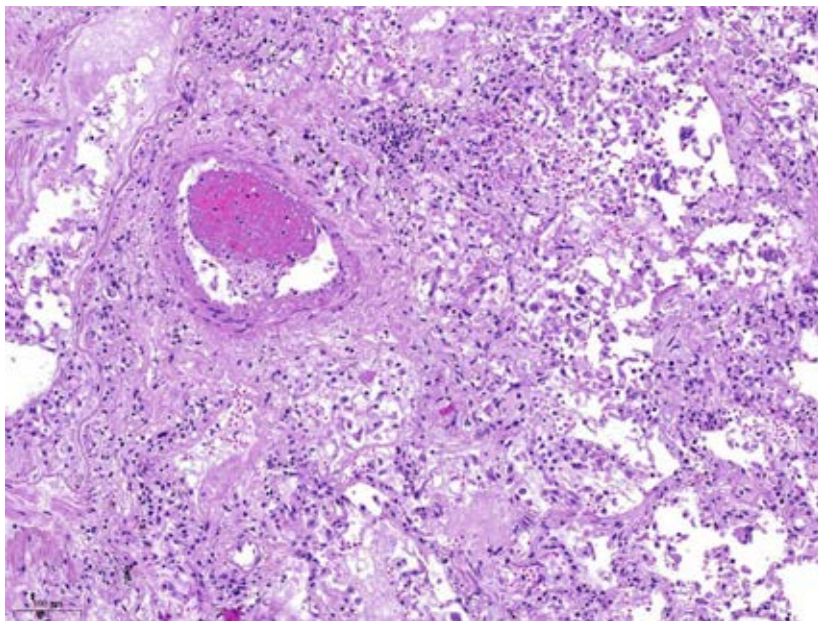


Рис. 25. М. 68 лет, ДЗ 11 суток. Обтурирующий фибриновый тромб в просвете ветви легочной вены, десквамированный альвеолярный эпителий в просветах альвеол. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$.

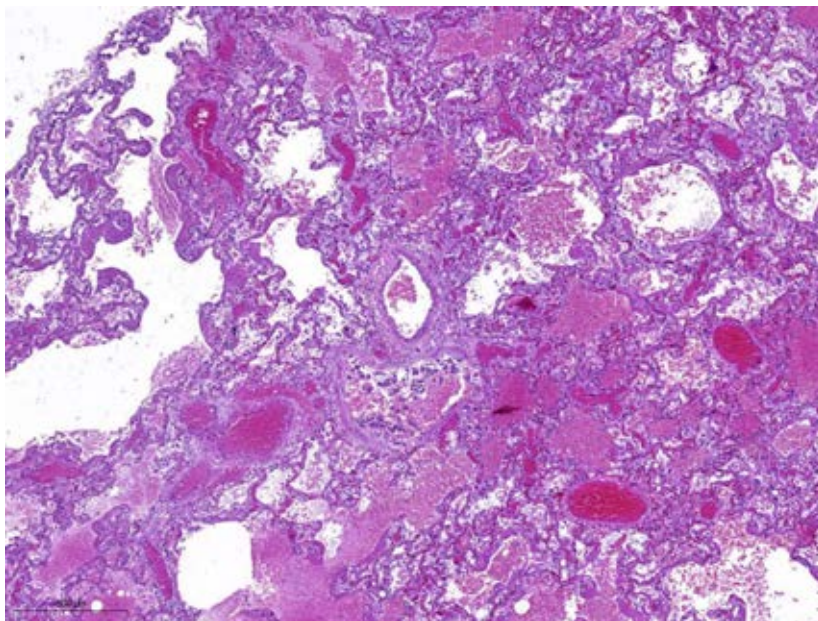


Рис. 26. Ж. 74 лет, ДЗ 8 суток. Внутриальвеолярные скопления эритроцитов, полнокровие сосудов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$.

У трети умерших из этой группы были выявлены очаговые кровоизлияния и/или геморрагические инфаркты (рис. 27).

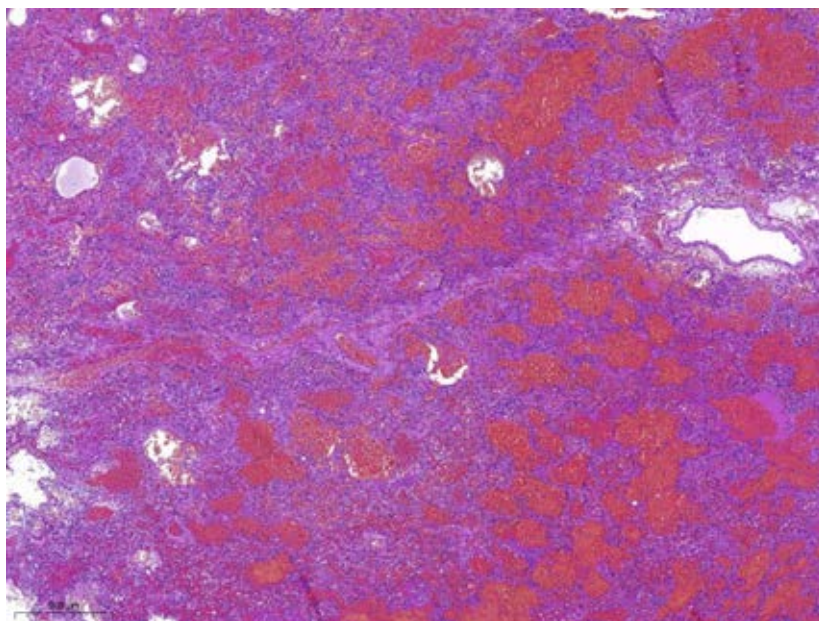


Рис.27. М. 63 лет, ДЗ 7 сутки. Массивное внутриальвеолярное кровоизлияние. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 30$.

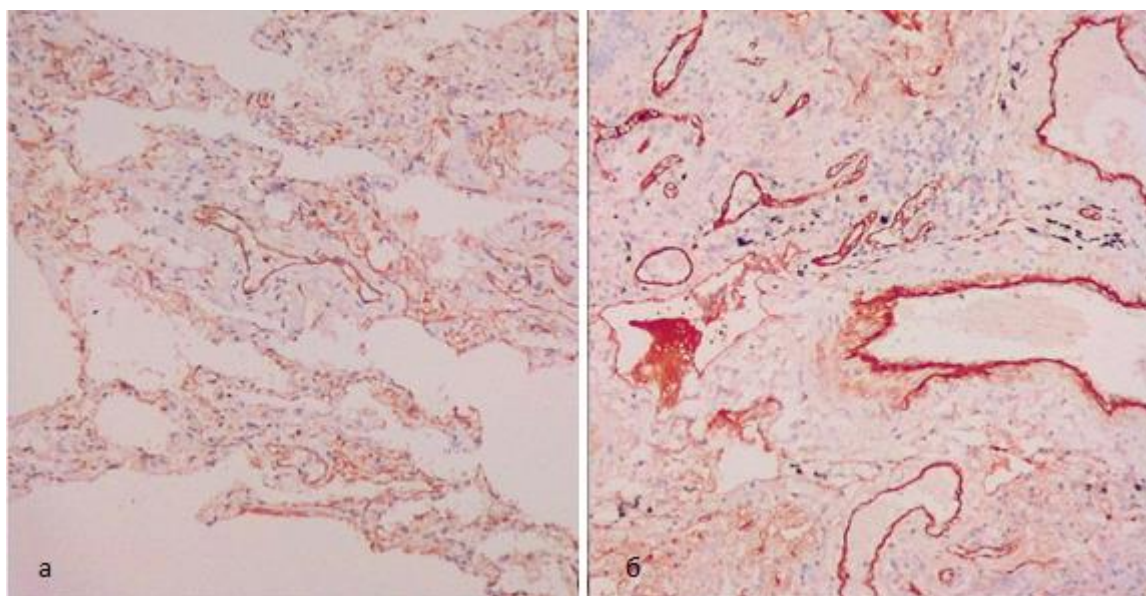


Рис. 28. М. 65 лет. ДЗ 19 суток. Экспрессия FVIII в эндотелии сосудов: а - в норме, б - при COVID-19. Иммуногистохимическое исследование с антителами к FVIII, $\times 40$.

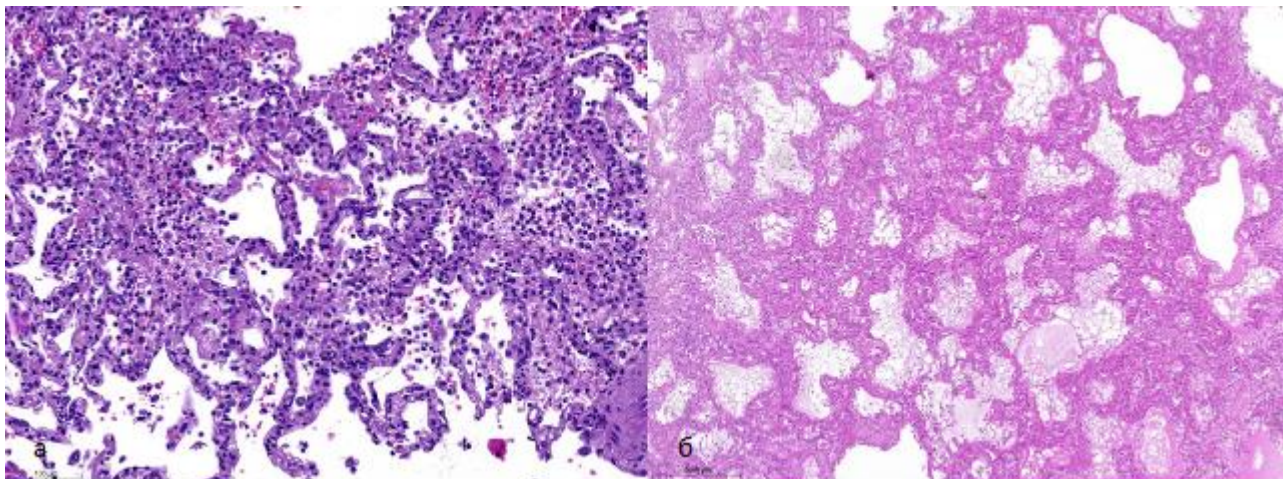


Рис. 29. Интерстициальное воспаление: а - м. 80 лет, ДЗ 18 суток: лимфоидная инфильтрация межальвеолярных перегородок, $\times 200$, б – ж. 57 лет, ДЗ 35 суток: утолщенные межальвеолярные перегородки за счет отека, миксоматоза, $\times 40$. Окраска гематоксилином и эозином.

В эндотелии сосудов у умерших с COVID-19 была обнаружена выраженная экспрессия FVIII (рис. 28а, б).

Интерстициальное воспаление в эту фазу было представлено лимфоидной инфильтрацией межальвеолярных перегородок и ее утолщением за счет отека и миксоматоза (рис 29 а,б).

В части наблюдений имело место довольно выраженное внутриальвеолярное скопление лимфоцитов и макрофагов. Иногда выявляли подплевральную очаговую лимфоидную инфильтрацию (рис. 30).

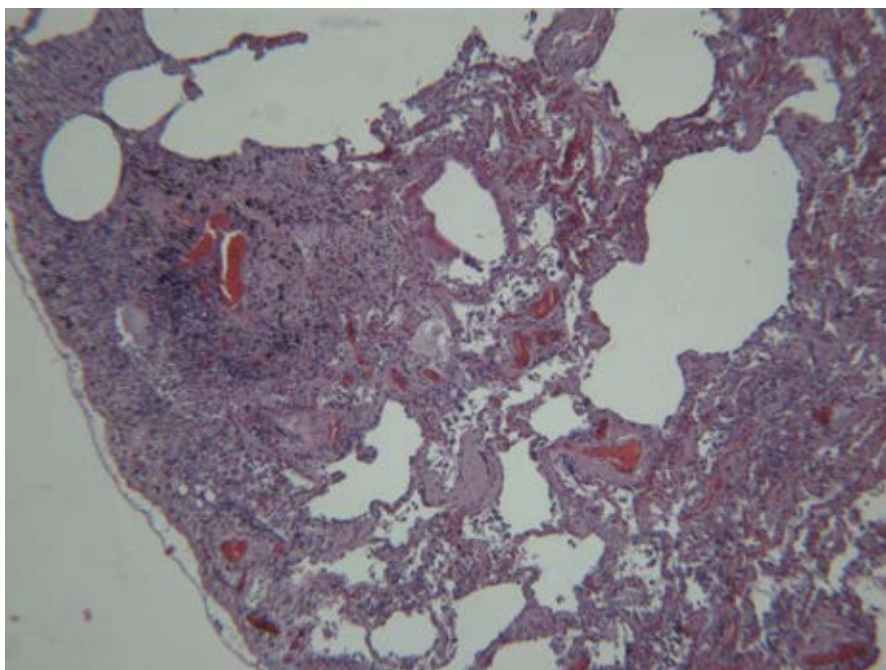


Рис. 30. М. 81 год, ДЗ 15 суток. Субплевральный очаговый периваскулярный лимфоидный инфильтрат. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

В экссудативную фазу ДАП такие гистологические признаки как гиалиновые мембраны, десквамация эпителия альвеол, интерстициальное воспаление чаще всего встречались с 7 по 10 день и с 13 по 15 день, что совпадает с наибольшей смертностью в эти дни (рис. 31). Инфаркты, кровоизлияния, тромбы в артериях, наличие внутриклеточных вирусных частиц встречались практически с одинаковой частотой во все дни, вне зависимости от числа умерших.



А



Б



В

Рис. 31 Частота встречаемости признаков ДАП и число умерших по дням заболевания в экссудативную фазу: А – гиалиновые мембраны, Б – десквамация альвеолярного эпителия, В – интерстициальное воспаление.

Пролиферативная фаза ДАП выявлена у 103 (52,55%) умерших с продолжительностью заболевания 19 (9-75) суток и характеризовалась появлением внутриальвеолярных скоплений фибрина разной степени зрелости, отеком межалвеолярных перегородок, с инфильтрацией их преимущественно лимфоцитами, плазматическими клетками, макрофагами, единичными нейтрофилами, пролиферацией фибробластов, разрастанием фибробластической полиповидной ткани в просветах альвеол и респираторных бронхиол. У части умерших были обнаружены очаговые участки молодой соединительной ткани в виде «клубочков» (рис. 32, 33, 34, 35, 36).

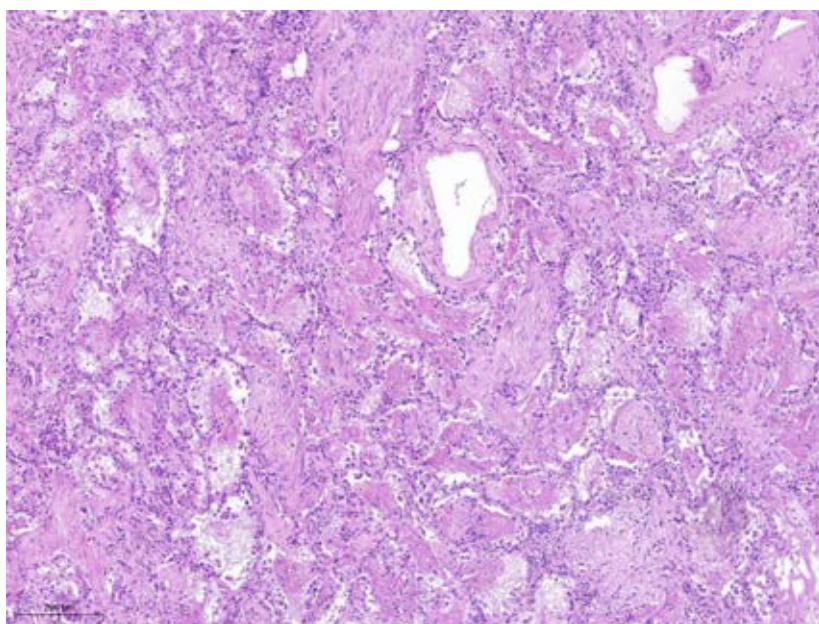


Рис. 32. Ж. 59 лет, ДЗ 20 суток. Скопления фибрина в просветах альвеол. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

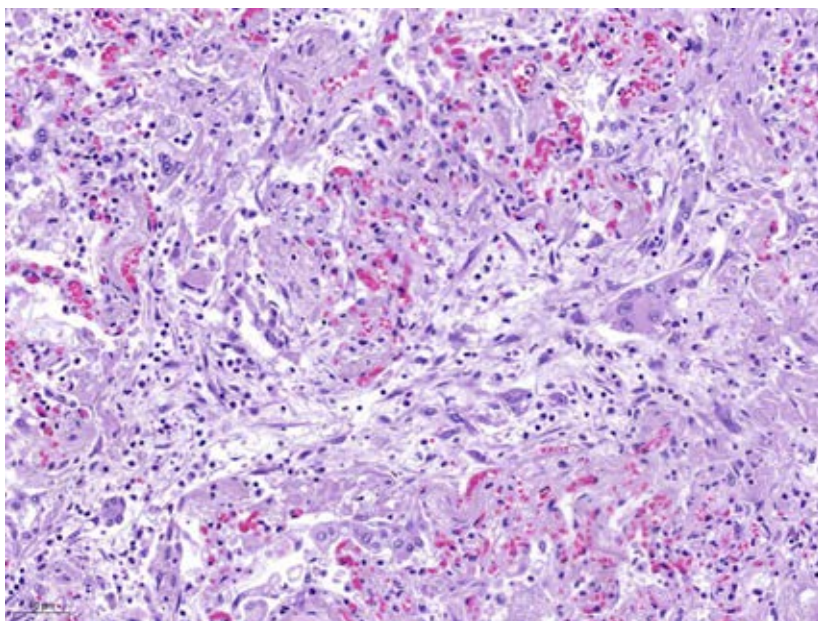


Рис.33. М. 72 лет, ДЗ 25 суток. Фибрин и пролиферация фибробластов в просветах альвеол. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$.

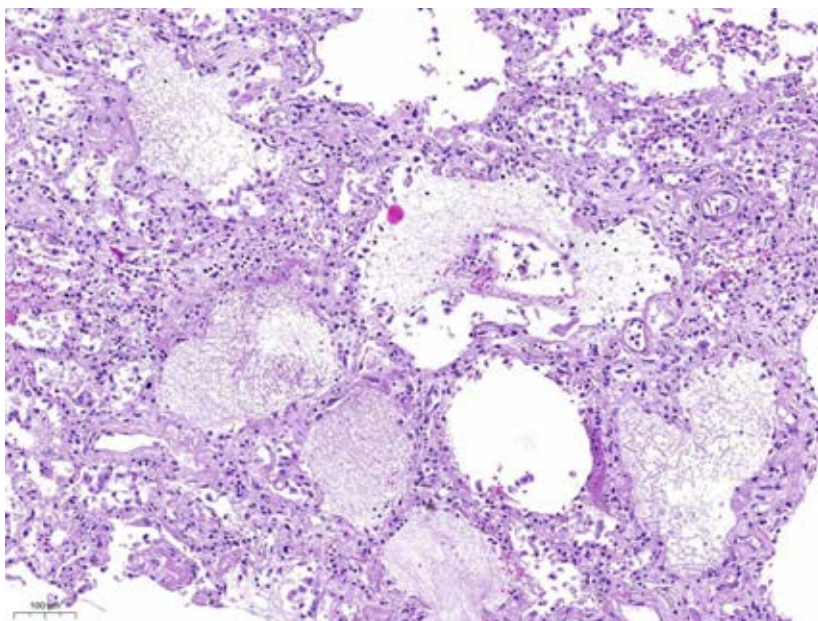


Рис.34. М. 66 лет, ДЗ 22 суток. Сетчатый фибрин в просветах альвеолах. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 60$.

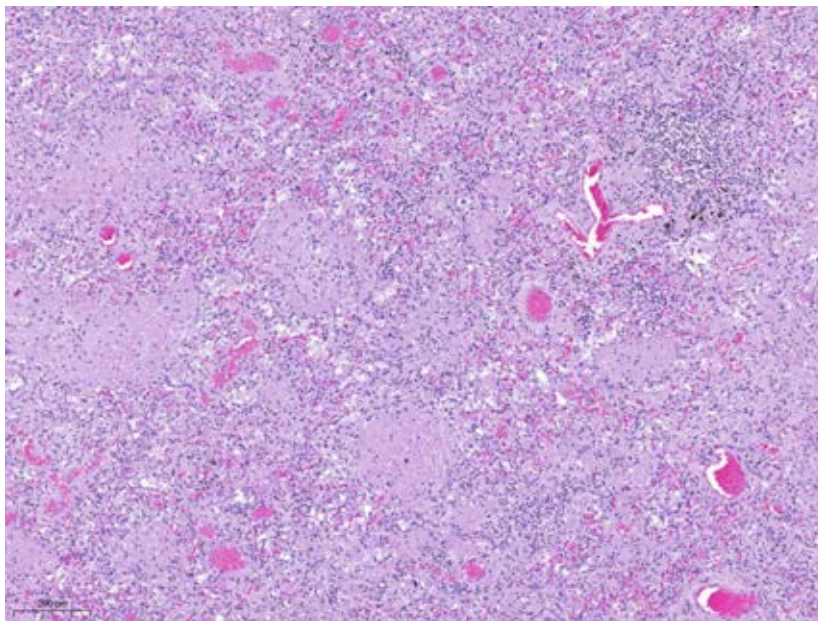


Рис. 35. М. 83 лет, ДЗ 30 суток. Внутриальвеолярная молодая соединительная ткань в виде клубочков. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 60$.

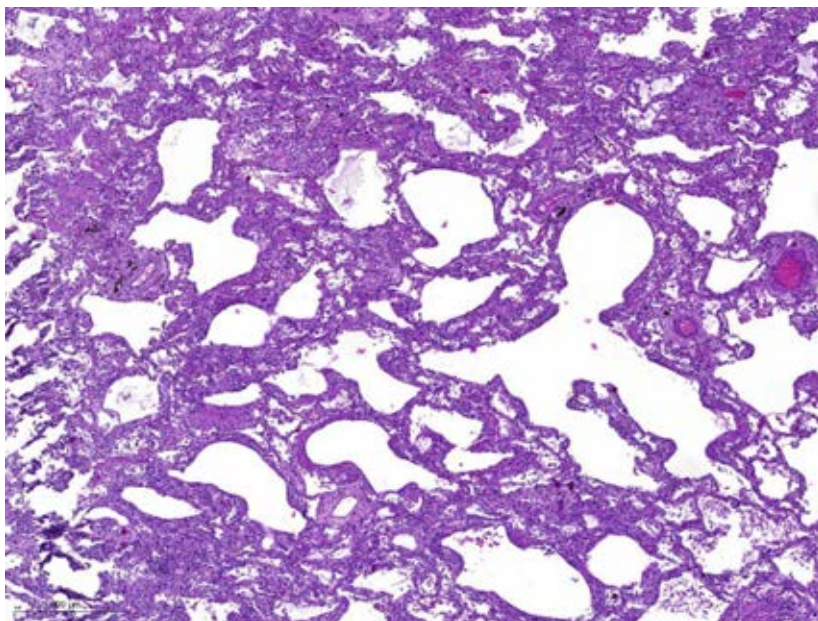


Рис. 36. М. 67 лет, ДЗ 38 сутки. Утолщение межалвеолярных перегородок за счет отека. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$.

В части наблюдений имел место миксоидный отек межальвеолярных перегородок и периваскулярной соединительной ткани. У 39,8% умерших интерстициальное воспаление было довольно выраженным что проявлялось резким утолщением межальвеолярных перегородок (рис. 35).

В 6,1% наблюдений были обнаружены крахмальные тельца в альвеолах, как следствие длительно существующего отека и общих метаболических нарушений. Для этой фазы было характерно наличие репаративных изменений бронхиолярного и альвеолярного эпителия в виде пролиферации альвеолоцитов II типа и плоскоклеточной метаплазии (рис. 37, 38).

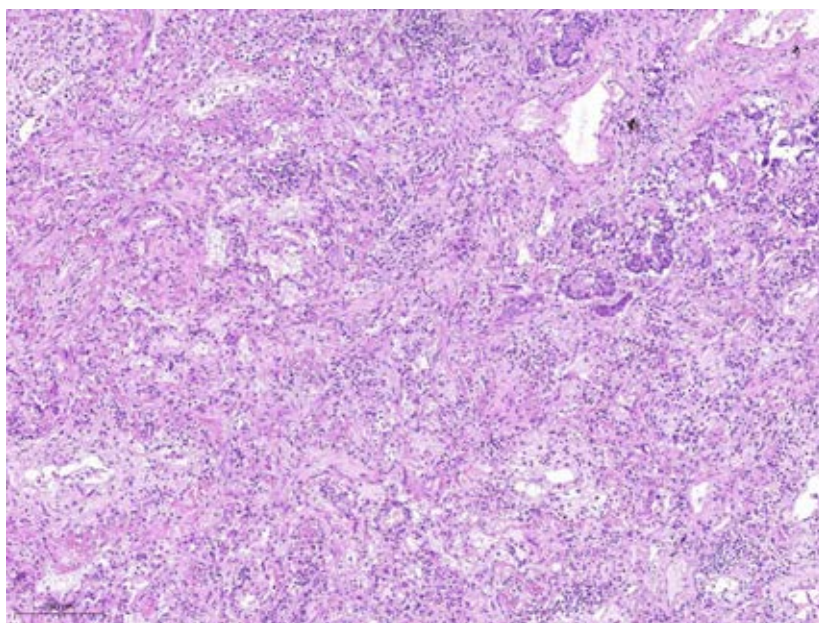


Рис. 37. М. 75 лет, ДЗ 23 сутки. Плоскоклеточная метаплазия альвеолярного эпителия. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 30$.

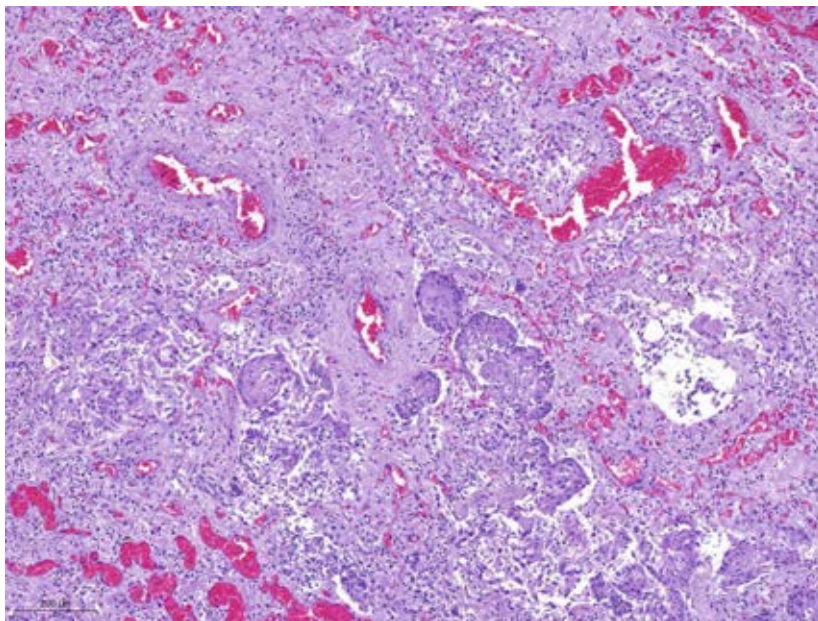


Рис. 38. М. 84 лет, ДЗ 20 сутки. Плоскоклеточная метаплазия альвеолярного эпителия, полнокровие сосудов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$.

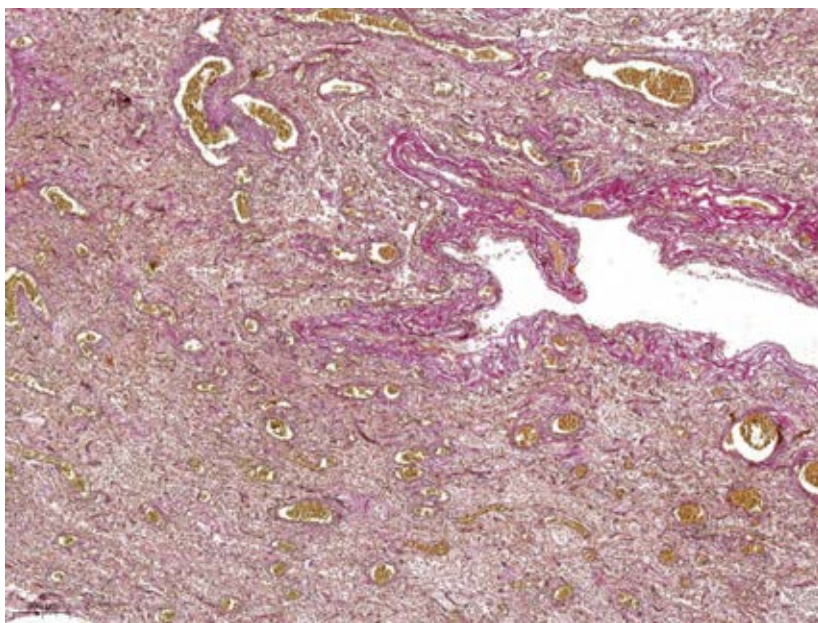


Рис. 39. Ж. 69 лет, ДЗ 35 сутки. Фиброателектаз с прослойками коллагеновых волокон по периферии. Окраска по пикрофуксину по Ван-Гизону, $\times 40$.

Кроме того, встречались участки фиброателектазов, состоящих из нежной соединительной ткани с небольшим количеством коллагеновых волокон и пролиферацией гладких мышц. Однако выраженного фиброза с отложением коллагена не было обнаружено ни у одного умершего (рис. 39).

У 7 из 103 умерших с признаками пролиферативной фазы ДАП в полостях альвеол были обнаружены фрагменты костной ткани, с локализацией в одном наблюдении среди десквамированных и метаплазированных альвеолоцитов (рис. 40).

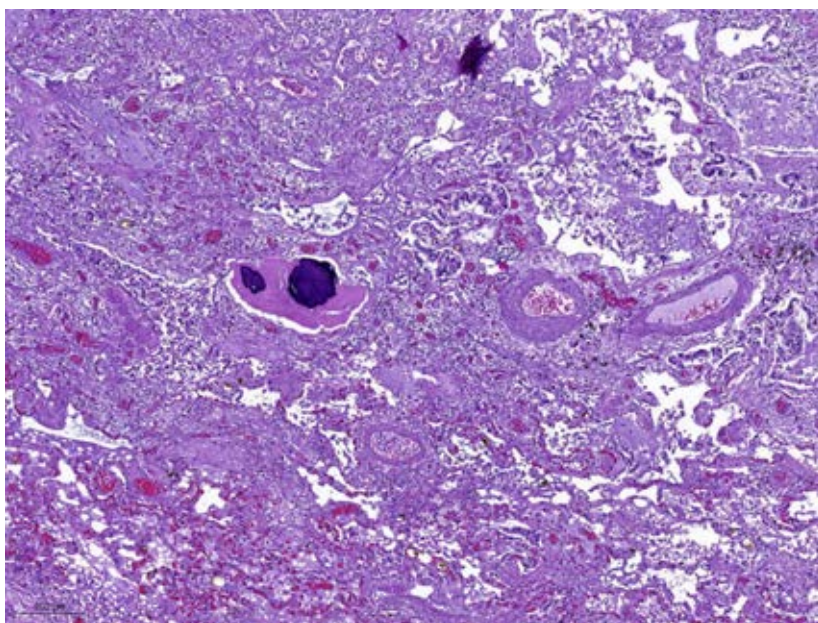


Рис. 40. М. 87 лет, ДЗ 56 сутки. В просветах альвеол фрагмент костной ткани и клеточный детрит с десквамированным альвеолярным эпителием. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$.

При иммуногистохимическом исследовании ткани лёгких с антителами против нуклеокапсида SARS-CoV-2 (X155) выявлена положительная реакция в бронхиолярном и метаплазированном альвеолярном эпителии, миофибробластах, макрофагах, миоцитах стенок бронхов и сосудов (рис. 41, 42, 43).

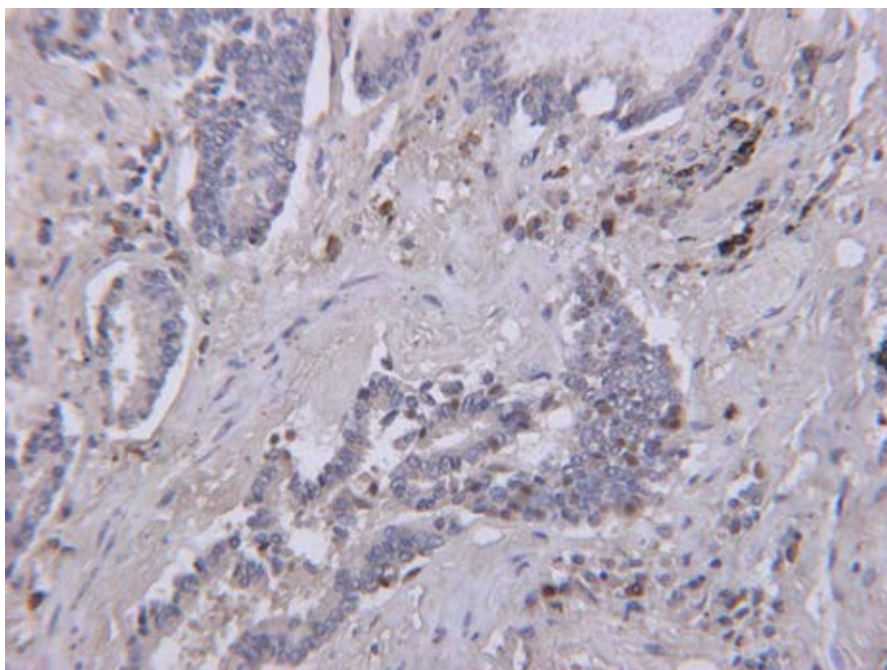


Рис. 41. М. 78 лет, ДЗ 30 сутки. Нуклеокапсид SARS-CoV-2 в бронхиолярном и метаплазированном альвеолярном эпителии. Иммуногистохимическое исследование с использованием моноклональных мышинных антител X155, $\times 200$.

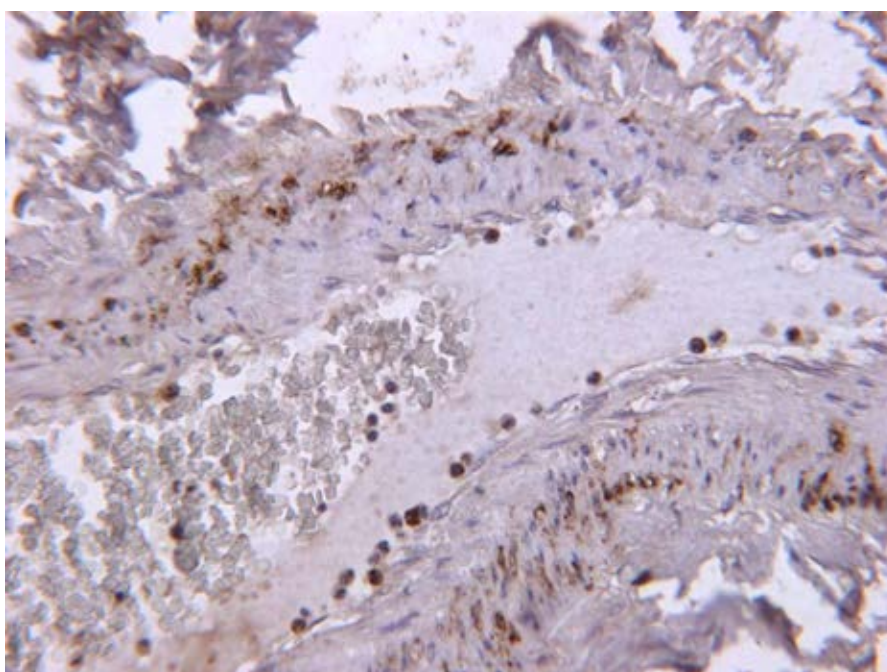


Рис. 42. Ж. 71 года, ДЗ 24 сутки. Нуклеокапсид SARS-CoV-2 в миоцитах в стенке ветви легочной артерии. Иммуногистохимическое исследование с использованием моноклональных мышинных антител X155, $\times 200$.

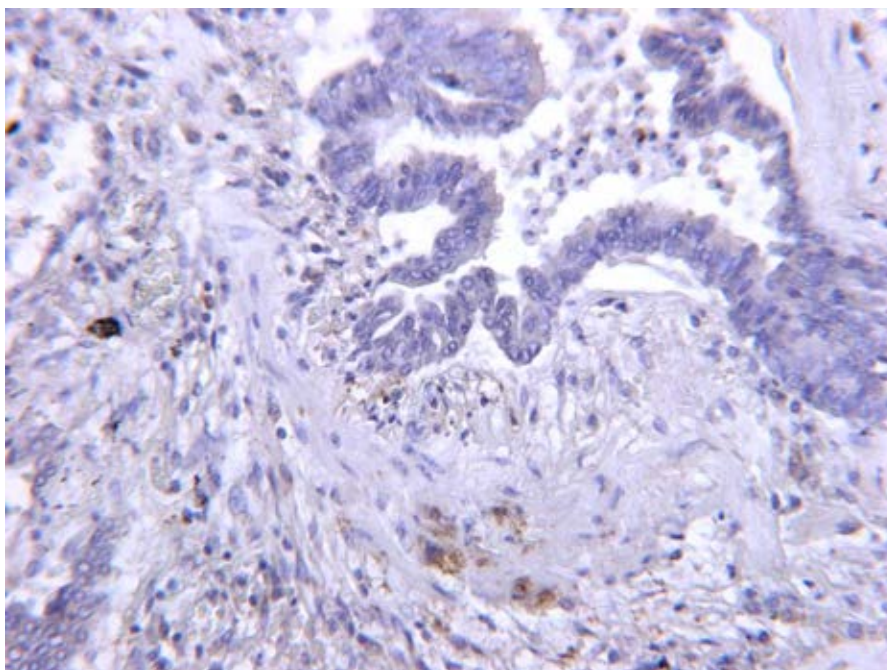


Рис. 43. М. 67 лет, ДЗ 38 сутки. Нуклеокапсид SARS-CoV-2 в миоцитах в стенке бронха. Иммуногистохимическое исследование с использованием моноклональных мышинных антител X155, $\times 200$.

В пролиферативную фазу из 103 умерших у 69 (66,99%) наблюдали в пролиферативную фазу ДАП признаки экссудативной фазы, медиана продолжительности заболевания у них составила 17 (9-75) суток. У этих пациентов в одних участках имел место острый процесс с наличием отека и гиалиновых мембран, выраженная десквамация альвеолоцитов, в том числе с признаками цитопатических изменений, в других – были выявлены признаки пролиферативной фазы – организация фибрина, очаги организующейся пневмонии, иногда весьма распространенные, или очаги грануляционной ткани, наблюдали появление сидерофагов в альвеолах, а также отложение железосодержащего пигмента в эндотелии сосудов (рис. 44, 45).

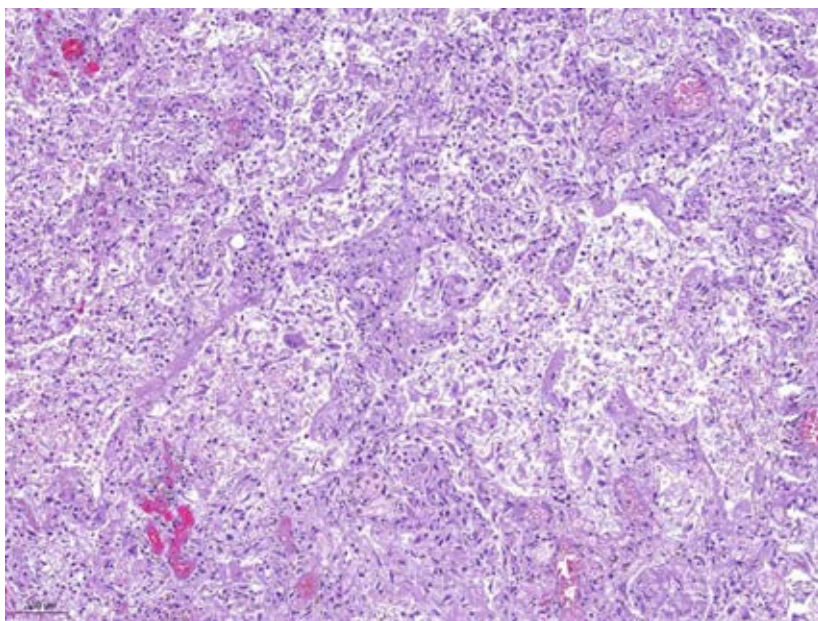


Рис. 44. М. 72 лет, ДЗ 23 сутки. Фибробластическая ткань в просветах альвеол. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 60$.

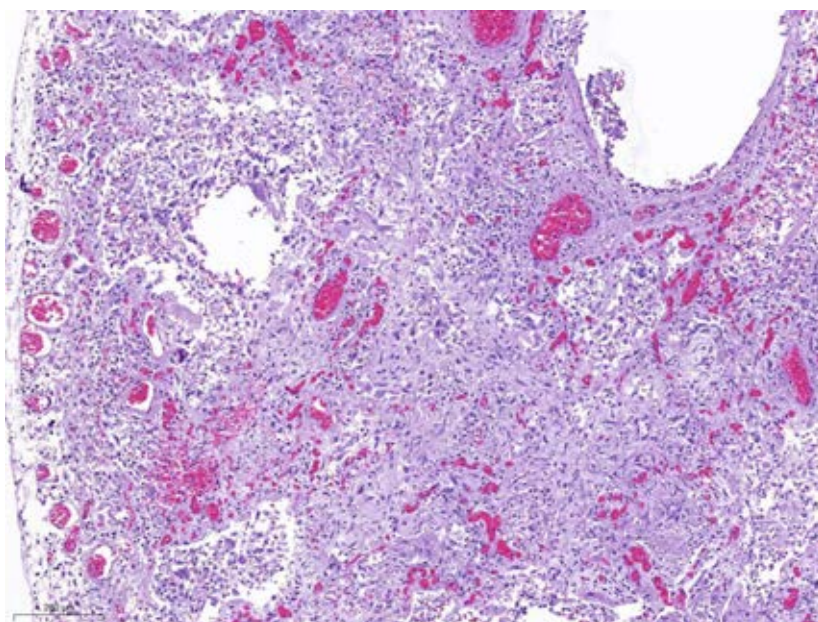


Рис. 45. М. 61 года, ДЗ 21 сутки. Очаговый дистелектаз, десквамированный эпителий в просвете респираторной бронхиолы, полнокровие сосудов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 60$.

При иммуногистохимическом исследовании нуклеокапсид SARS-CoV-2 в данной группе наблюдений не был обнаружен.

Гистологические изменения, косвенно свидетельствующие в пользу нарушения коагуляции, а именно появление внутриальвеолярных кровоизлияний, тромбов в ветвях легочных артерий и вен были обнаружены при всех фазах заболевания. Минимальные признаки васкулита в виде лимфоидной инфильтрации стенки сосуда были выявлены у 10 умерших (рис. 46, 47), при этом острый васкулит и эндотелиит наблюдался лишь при присоединении бактериальной пневмонии.

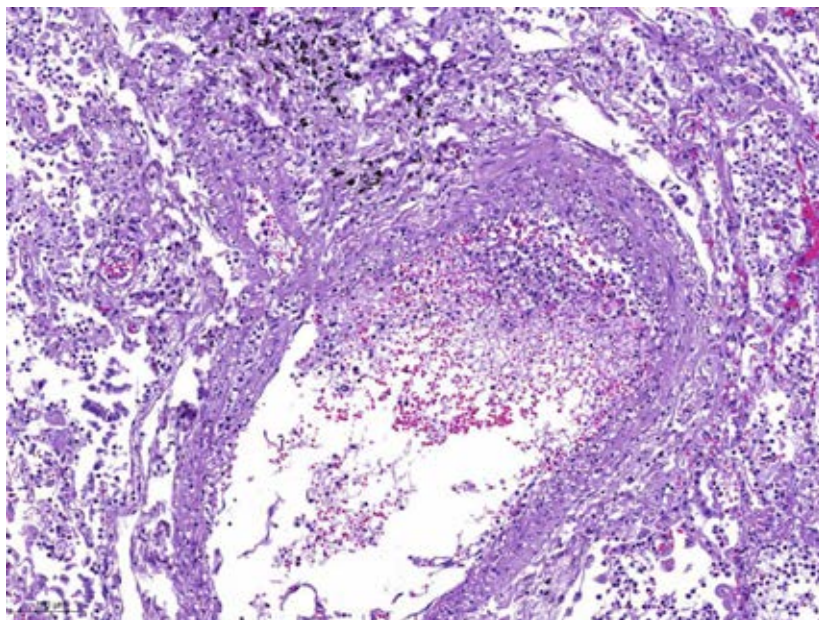


Рис. 46. М. 76 лет, ДЗ 22 сутки. Сетчатый фибрин в просвете сосуда, периваскулярное отложение угольного пигмента. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

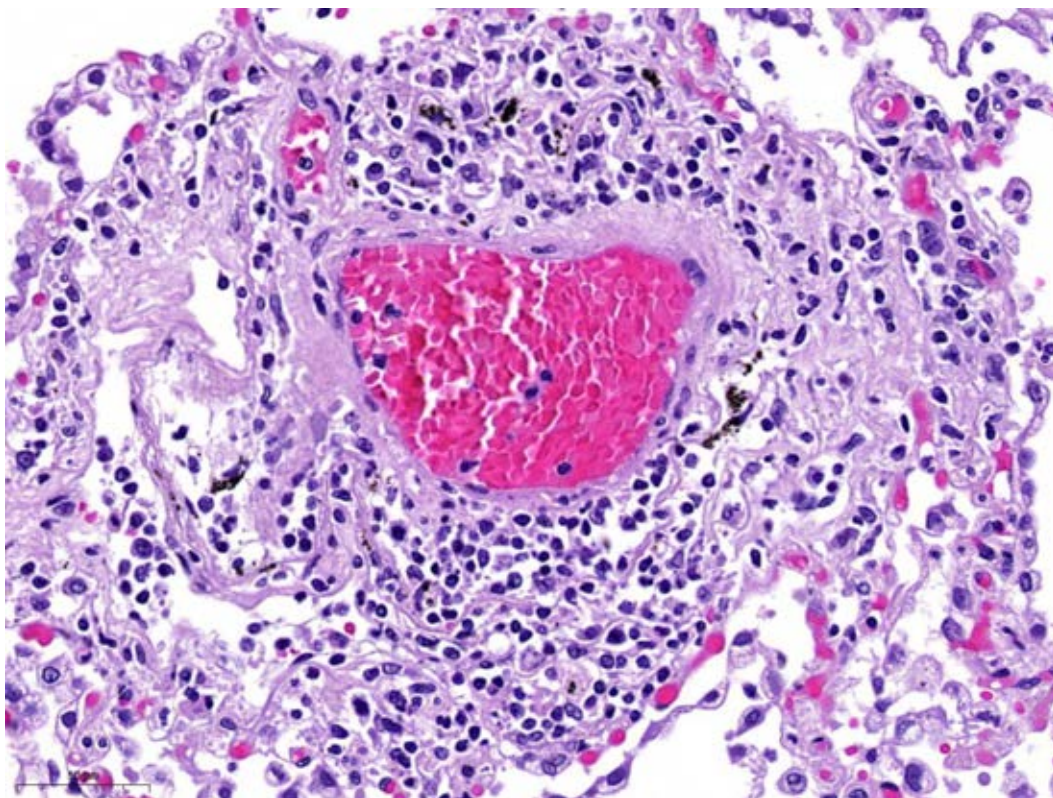


Рис. 47. М. 68 лет, ДЗ 23 сутки. Полнокровие сосудов ветви легочной вены со стазом эритроцитов, периваскулярная лимфо-плазмоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$.

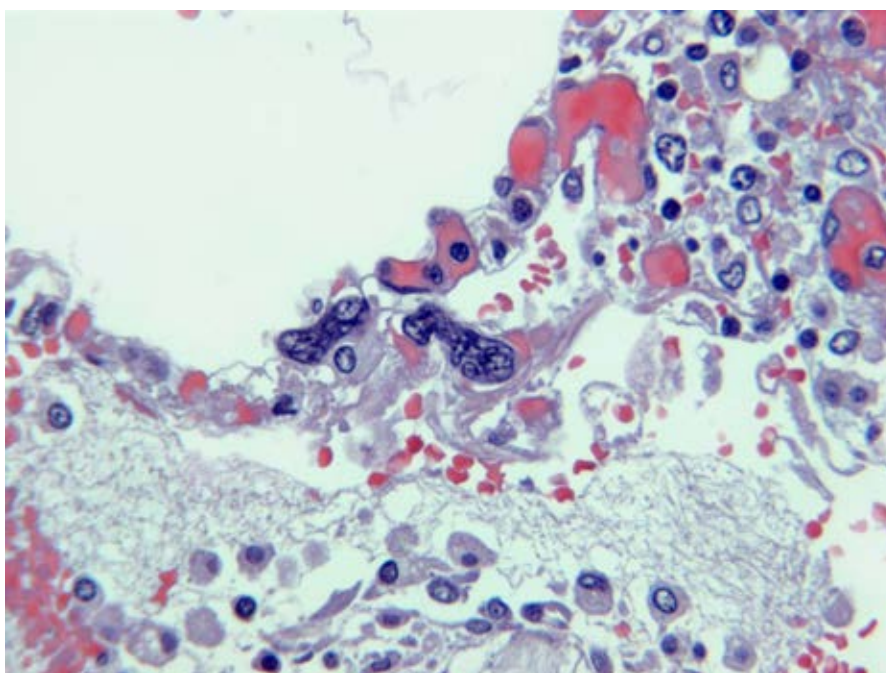


Рис. 48. Ж. 79 лет, ДЗ 17 сутки. Резкое полнокровие капилляров межалвеолярных перегородок, мегакарициты в капиллярах межалвеолярных перегородок. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$.

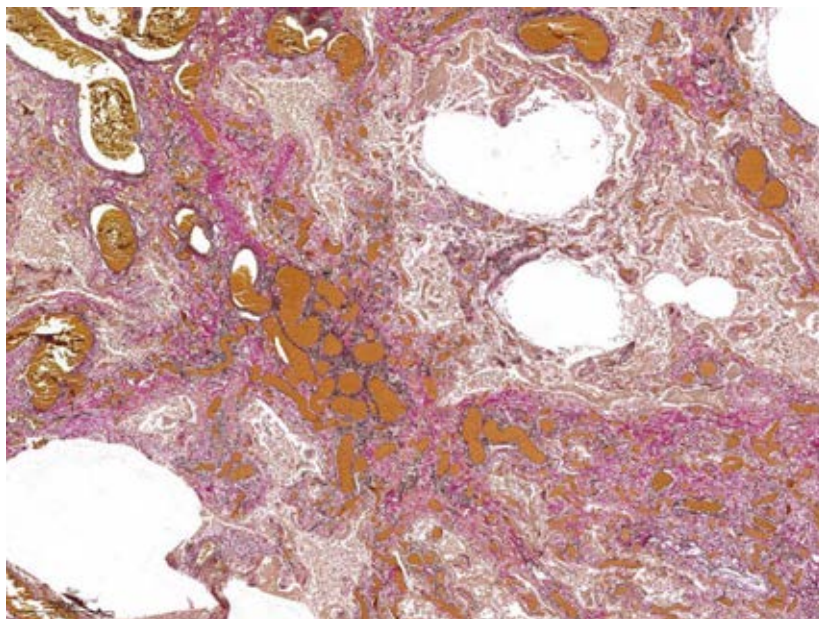


Рис. 49. М. 65 лет, ДЗ 20 сутки. Очаговый ангиоматоз. Окраска пикрофуксином Ван-Гизону, $\times 40$.

В капиллярах межальвеолярных перегородок более чем в трети наблюдений были обнаружены мегакариоциты (рис.48). Также были выявлены участки ангиоматоза (рис. 49)

При иммуногистохимическом исследовании нуклеокапсид SARS-CoV-2 был обнаружен в эндотелии сосудов и перицитах (рис. 50, 51).

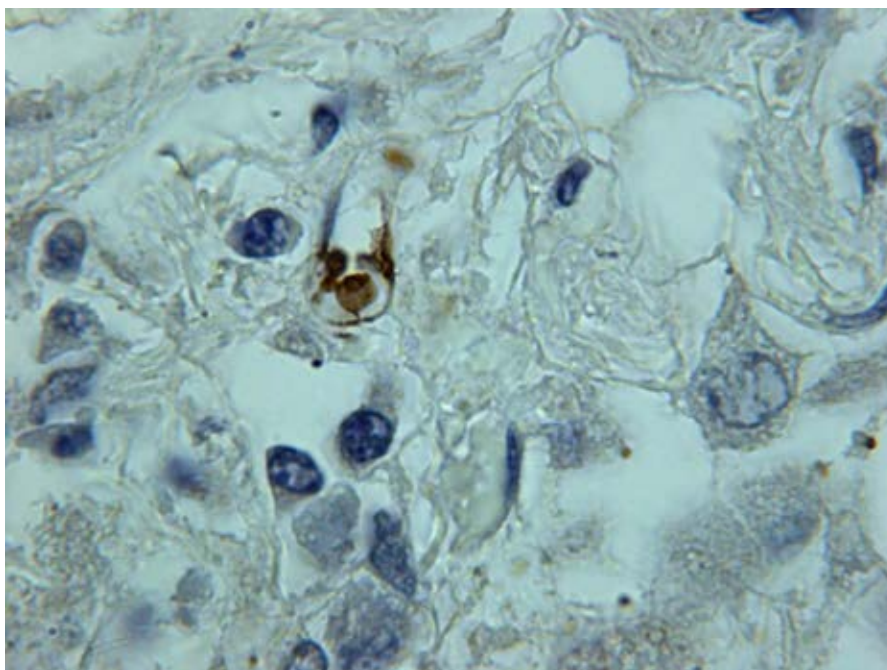


Рис. 50. М. 63 лет, ДЗ 19 сутки. Нуклеокапсид SARS-CoV-2 в эндотелии капилляра. Иммуногистохимическое исследование с использованием моноклональных мышинных антител X155, $\times 400$.

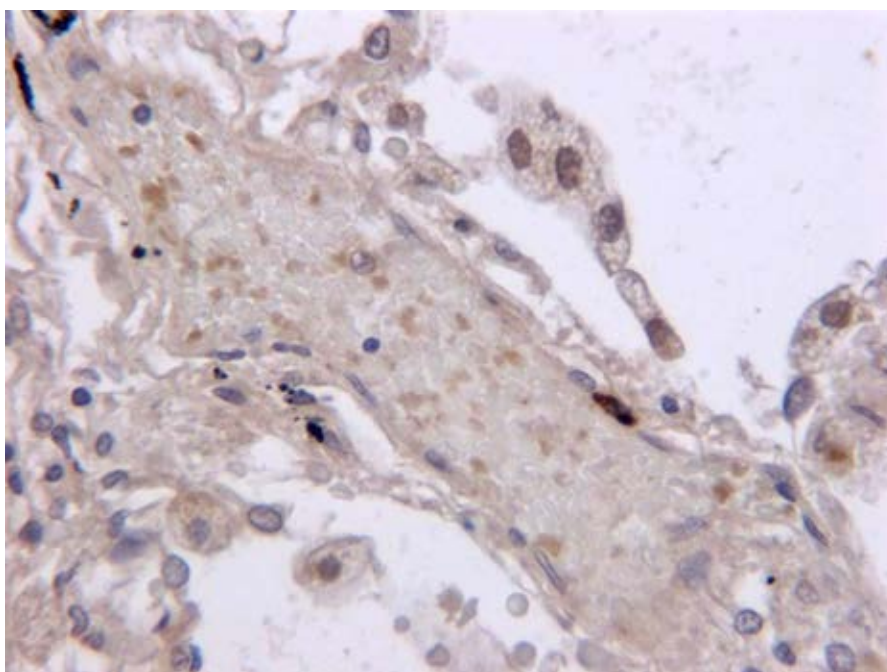


Рис. 51. Ж. 77 лет, ДЗ 23 сутки. Нуклеокапсид SARS-CoV-2 в периците сосуда. Иммуногистохимическое исследование с использованием моноклональных мышинных антител X155, $\times 400$.

У 5 умерших, средний возраст которых составил $47,6 \pm 18,5$ (19-68 лет). Длительность заболевания с момента возникновения симптомов до наступления летального исхода составила 14 (5-25) суток, продолжительность госпитализации

6 (1-20) суток. Всем пациентам проводилась инвазивная вентиляция легких, медиана продолжительности которой составила 8 (3-17) суток. При гистологическом исследовании в легких отмечались признаки коагулопатии в виде резкого полнокровия артерий, артериол, капилляров межальвеолярных перегородок, с наличием в отдельных из них фибрина с тенденцией к тромбообразованию, стазов, сладжей, при этом имелись минимальные изменения, характерные для экссудативной фазы, а именно: незначительный отек, единичные гиалиновые мембраны. В этой группе умерших выявлены тромбы в сосудах малого круга кровообращения разного калибра – от артериол – до сегментарных ветвей. При этом признаки отека были выражены тем меньше, чем больше был калибр сосудов с тромбами в просвете (рис. 52, 53, 54, 55).

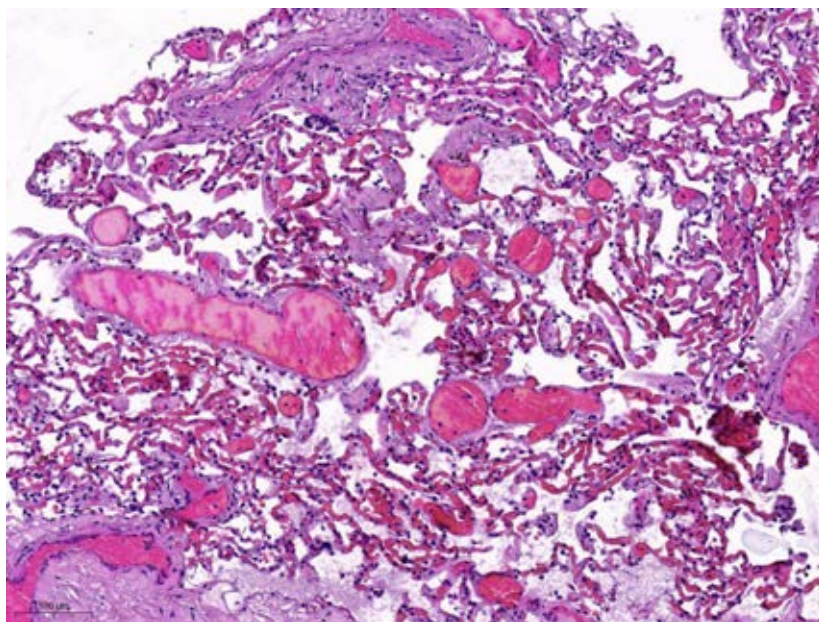


Рис. 52. М. 74 лет, ДЗ 21 сутки. Стазы и сладжи в просветах сосудов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

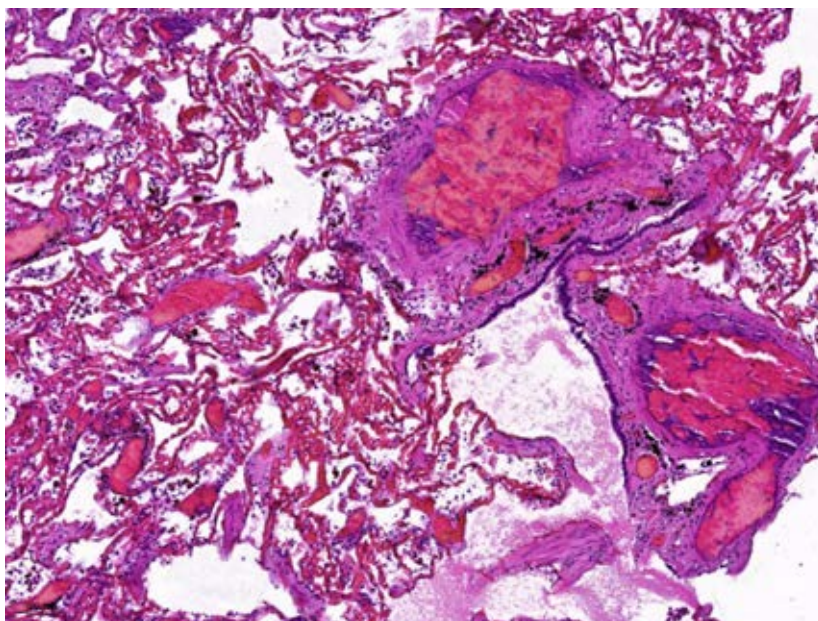


Рис. 53. М. 61 года, ДЗ 20 сутки. Полнокровие сосудов, стазы с формированием пристеночных тромбов в двух ветвях легочной артерии. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

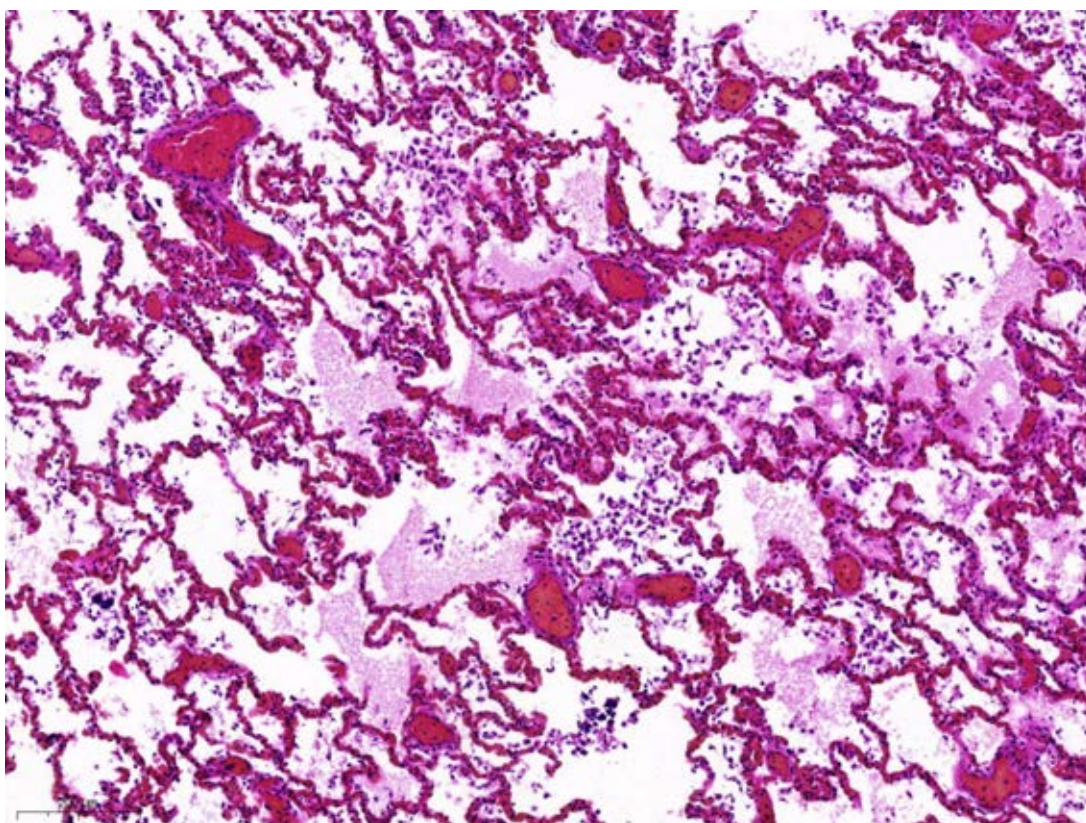


Рис. 54. М. 19 лет, ДЗ 14 суток. Очаговый внутриальвеолярный отек, полнокровие сосудов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

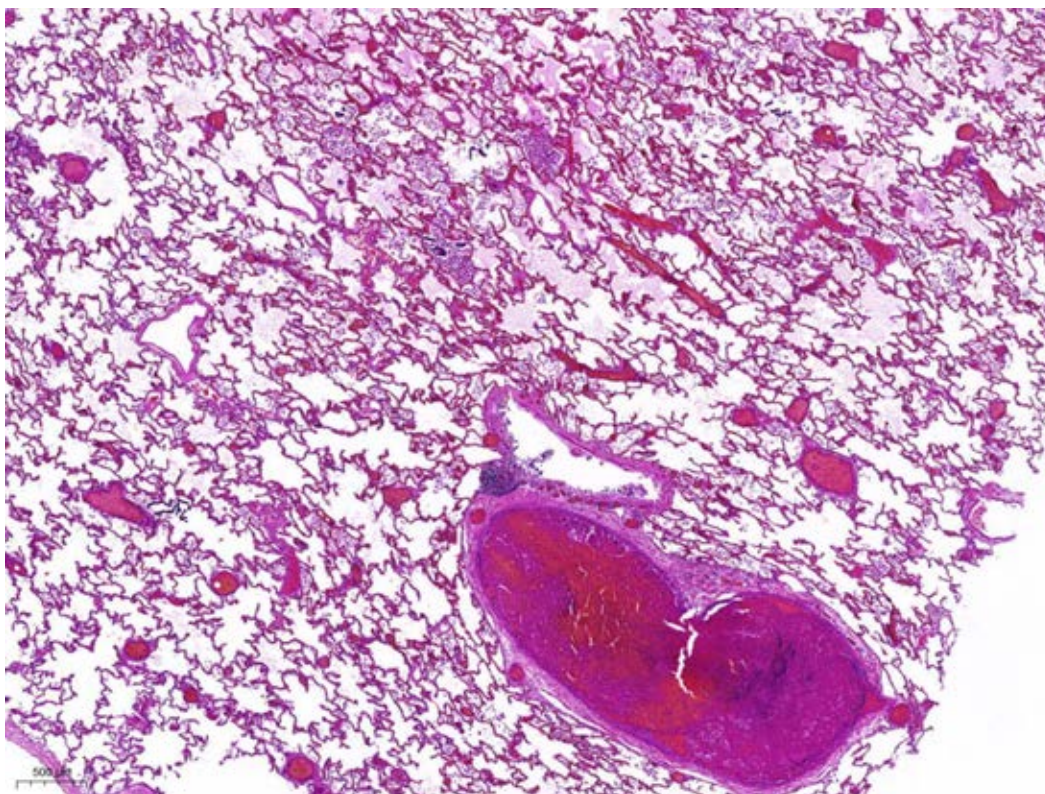


Рис. 55. М. 19 лет, ДЗ 19 суток. Организующийся тромб в просвете ветви легочной вены. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$.

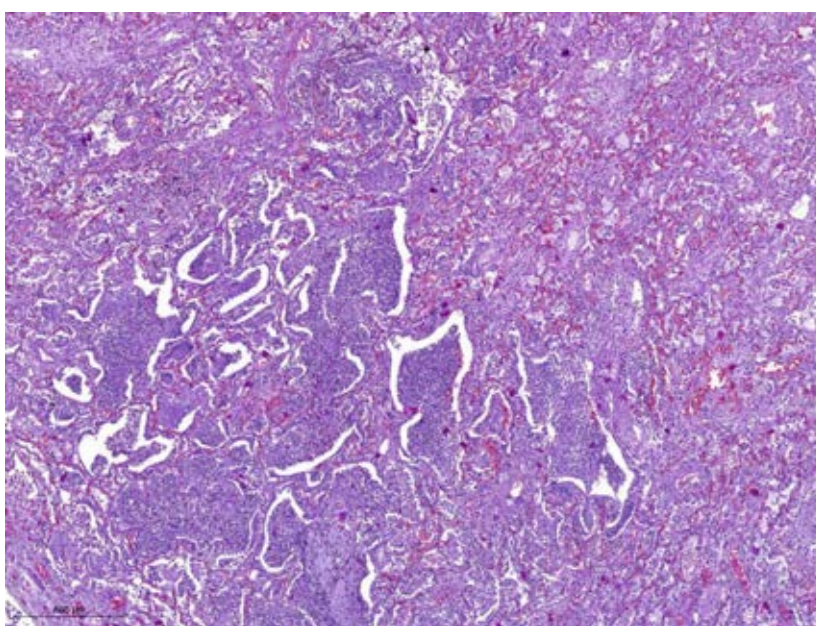
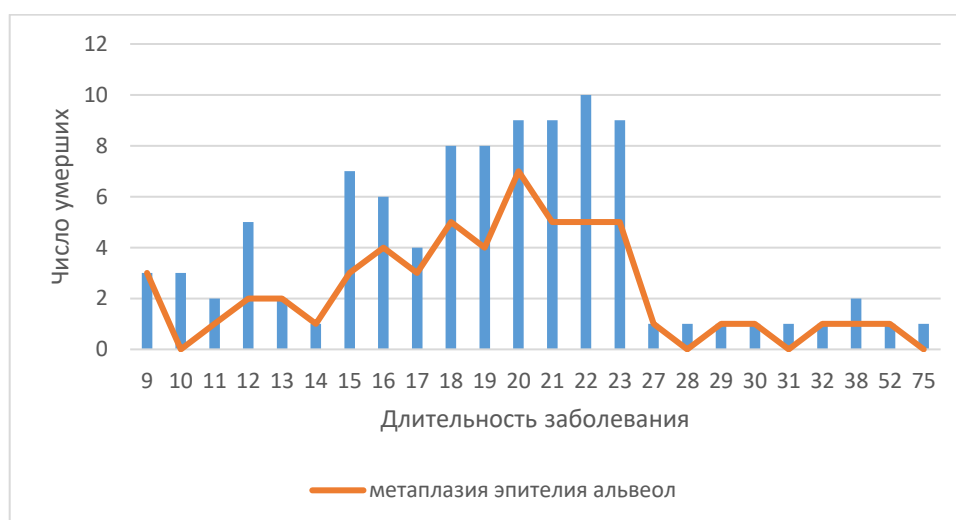


Рис. 56. М. 65 лет, ДЗ 38 суток. Бронхопневмония. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 30$.

Очаговая или очагово-сливная бронхопневмония встречалась в 29,1% наблюдений (рис. 56). У одного из умерших были обнаружены множественные абсцессы с густым серовато-желтым гноем в просветах, по периферии которых

участки уплотнения, зернистого вида на разрезе. Гистологически сформированная пиогенная мембрана, по периферии которой массивные скопления нейтрофилов в просветах альвеол, местами с некрозами межальвеолярных перегородок. У 3 умерших имела место аспирационная пневмония, при гистологическом исследовании были обнаружены инородные бесструктурные пищевые частицы в просветах терминальных, респираторных бронхиол и в просветах альвеол.

В пролиферативную фазу ДАП такие гистологические признаки как фибрин в альвеолах, метаплазия эпителия альвеол, грануляционная ткань, интерстициальное воспаление, инфаркты, кровоизлияния, тромбы в артериях и венах, в основном, чаще встречались в пятнадцатый день и с восемнадцатого по двадцать третий день от начала заболевания (рис. 57).



А



Б



В

Рис. 57. Частота встречаемости признаков ДАП и число умерших по дням заболевания в пролиферативную фазу: А – метаплазия эпителия альвеол, Б – грануляционная ткань, В – интерстициальное воспаление.

У части умерших (n=69) в пролиферативную фазу имеются признаки экссудативной фазы, внутриальвеолярный отек, гиалиновые мембраны, десквамация эпителия альвеол. Все три признака в наибольшей степени встречались на 12, 15, 19, 20 дни (рис.58).



A



Б



В

Рис. 58. Частота встречаемости признаков ДАП и число умерших по дням заболевания в пролиферативную фазу с признаками экссудативной фазы: А – гиалиновые мембраны, Б – десквамация альвеолярного эпителия, В – интерстициальное воспаление.

При сравнительной оценке частоты встречаемости гистологических признаков в экссудативную и пролиферативную фазы ДАП, признаки коагулопатии встречались в обе фазы, однако, инфаркты легкого чаще встречались в экссудативную фазу; тромбы в венах, капиллярах чаще встречались в пролиферативную фазу, а тромбы артерий – почти с одинаковой частотой в обе фазы (рис. 59).

У 57 (29,08%) умерших, из которых 48 (84,21%) находились на ИВЛ, была выявлена вторичная (нозокомиальная) очаговая или очагово-сливная

бактериальная пневмония, средний возраст которых составил $63 \pm 5,1$ года, длительность заболевания колебалась от 25 до 58 суток.

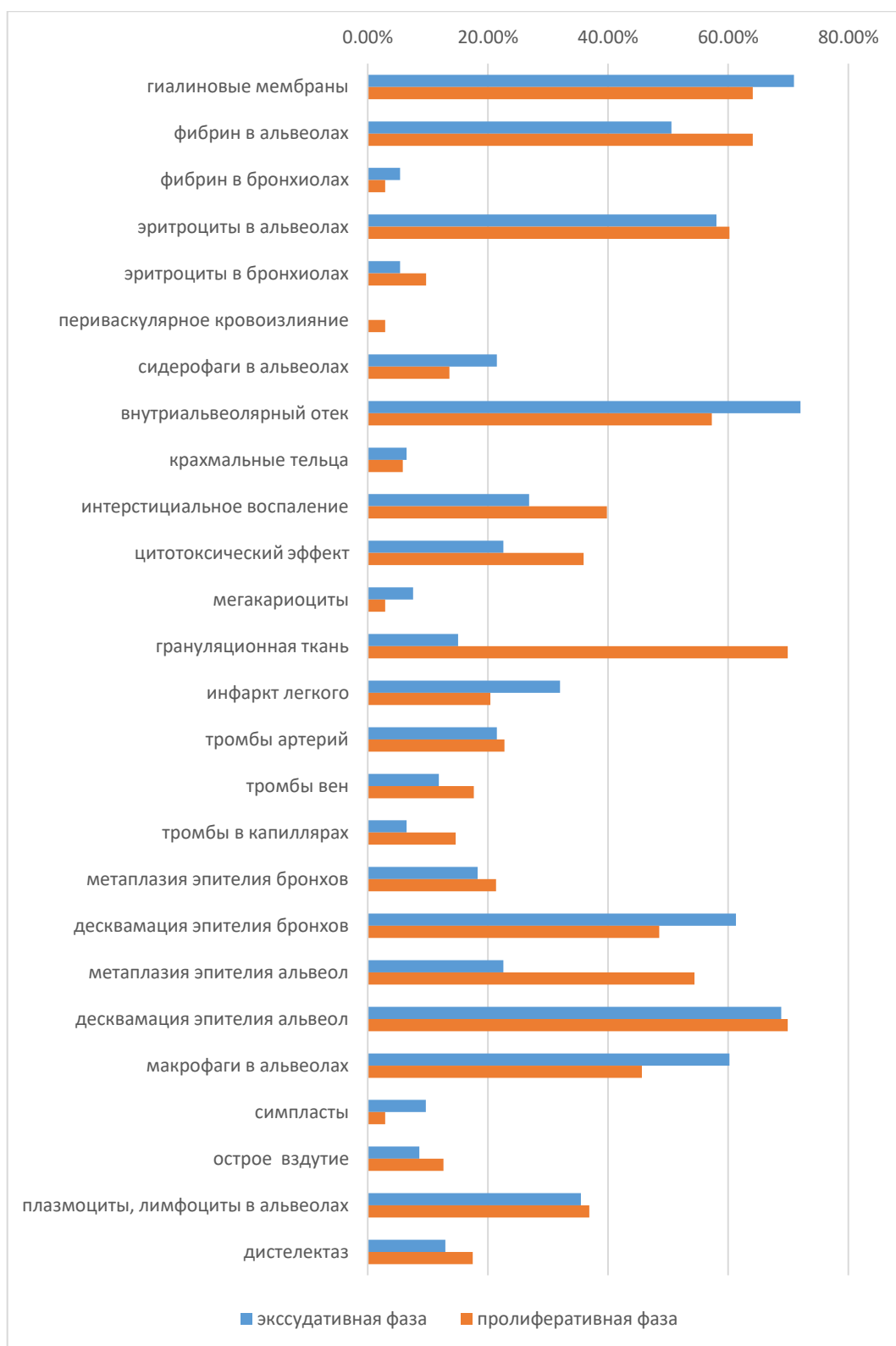


Рисунок 59. Сравнительная частота гистологических признаков в разные фазы ДАП.

3.2 «Цитокиновый шторм» при новой коронавирусной инфекции.

6 пациентов мужского пола средний возраст составил $41 \pm 4,5$ года, длительность заболевания колебалась от 3 до 7 суток. При поступлении состояние всех пациентов тяжелое, жалобы на одышку в покое и слабость. Частота дыхания (ЧД) 28-32 в минуту, сатурация крови при вдыхании атмосферного воздуха (SpO_2) 87-91%, температура тела $38,6-39,2^{\circ}C$. Пациенты не были вакцинированы против новой коронавирусной инфекции. Результат ПЦР назофарингеальных мазков на COVID-19 - положительный. Тяжесть состояния больных была обусловлена дыхательной недостаточностью и интоксикационным синдромом. При ЭХО-КГ было выявлено снижение фракции выброса левого желудочка до 40-44%, у 3 пациентов - диффузный гипокинез миокарда левого желудочка. При КТ легких у всех пациентов имели место субплевральные участки уплотнения легочной ткани по типу «матового стекла» и обширные зоны консолидации высокой интенсивности с ретикулярными изменениями, захватывающие от 52 до 80% объема лёгких. При анализе результатов лабораторных исследований было выявлено увеличение интерлейкина-6 (ИЛ-6) от 4956 до 5558 пг/мл (норма - 7 пг/мл), С-реактивного белка (СРБ) от 395 до 520 мг/л (норма - 0-5,0 мг/л), ферритина от 1024,3 до 2007,8 мкг/л (норма - 30-400 мкг/л), фибриногена от 5,1 до 6,45 г/л (норма - 3,5-4,5 г/л), прокальцитонина от 34,2 до 85,7 нг/мл (норма - 0-0,046 нг/мл), Д-димера от 3496 до 5199 нг фибрин-эквивалентных единиц (ФЭЕ)/мл (норма - 0-650,0 нг ФЭЕ/мл), а также снижение лимфоцитов до $0,1 \times 10^9$ /л (1,2-3,0) и тромбоцитов до 46×10^9 /л (180-320). Данные лабораторных исследований позволили подтвердить у пациентов наличие «цитокинового шторма». В связи с тяжестью состояния больные были интубированы и переведены на искусственную вентиляцию легких. Все пациенты получали антибактериальную терапию и терапию, направленную на коррекцию нарушений метаболизма. Однако, несмотря на проведенную интенсивную терапию и реанимационные мероприятия, все пациенты умерли в течение суток после госпитализации.

При гистологическом исследовании у всех умерших с клинико-лабораторными признаками «цитокинового шторма» межальвеолярные перегородки были незначительно утолщены, в значительном числе альвеол определялись массивные скопления клеток, представленные преимущественно макрофагами, частью с признаками фагоцитоза клеточных фрагментов и эритроцитов, клеточными фрагментами в виде апоптотных телец, а также единичными лимфоцитами (CD8+). Единичные CD4-позитивные лимфоциты были обнаружены периваскулярно. В фазу «цитокинового шторма» вирус был обнаружен преимущественно в капиллярах межальвеолярных перегородок, макрофагах и в единичных альвеолоцитах. Экспрессия TNF α определялась в альвеолярных макрофагах, преимущественно в фагосомах (рис 60, 61, 62, 63, 64).

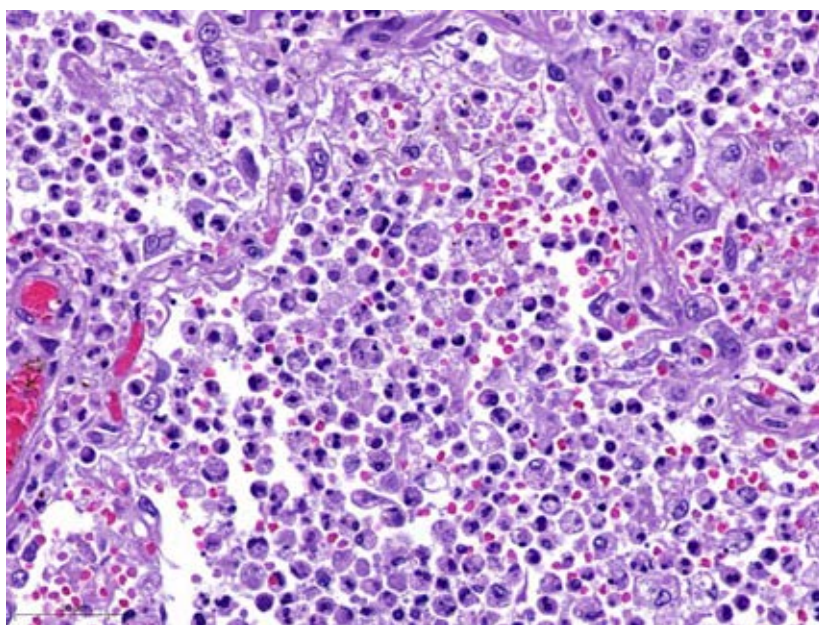


Рис. 60. М. 32 лет, ДЗ 4 сутки. «Цитокиновый шторм»: в просвете альвеолы массивные скопления макрофагов и эритроцитов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$.

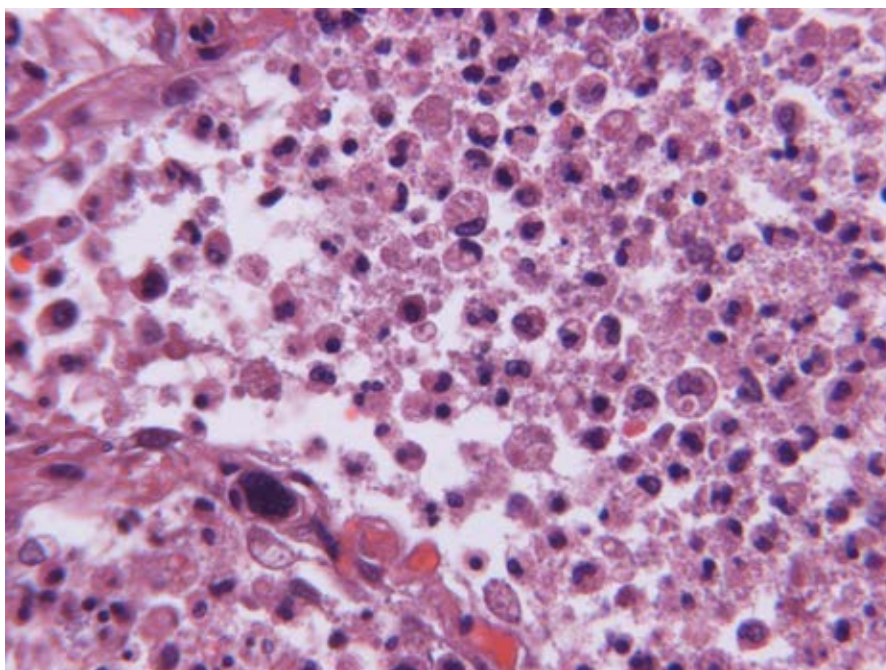


Рис. 61. М. 32 лет, ДЗ 4 сутки. «Цитокиновый шторм»: в просвете альвеолы фагоцитирующие макрофаги и апоптозные тельца. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$.

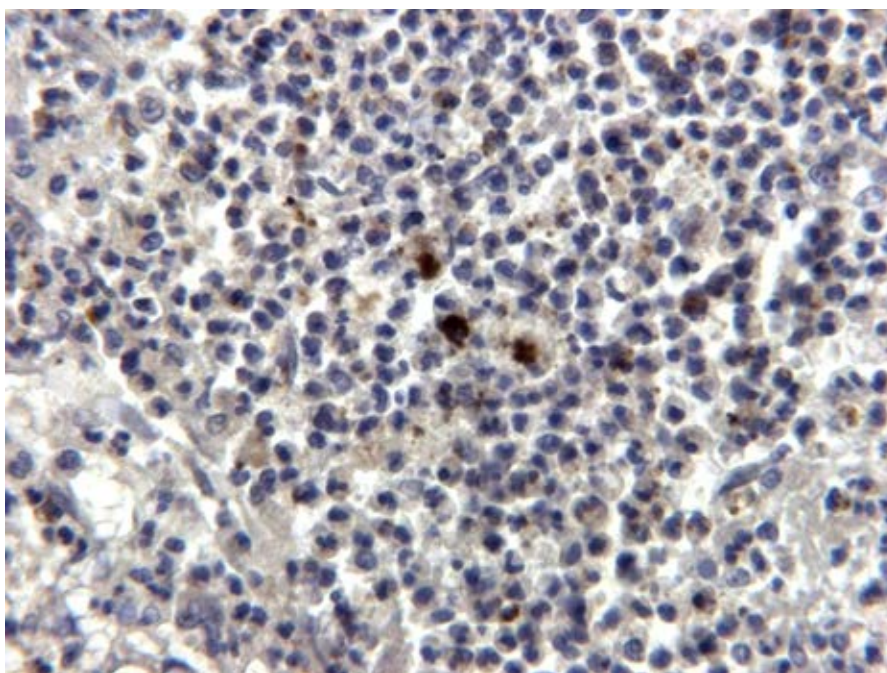


Рис 62. М. 32 лет, ДЗ 4 сутки. «Цитокиновый шторм»: экспрессия $\text{TNF}\alpha$ в макрофагах и апоптозных тельцах (фагосомах). Иммуногистохимическое исследование с использованием поликлональных антител к $\text{TNF}\alpha$, $\times 200$.

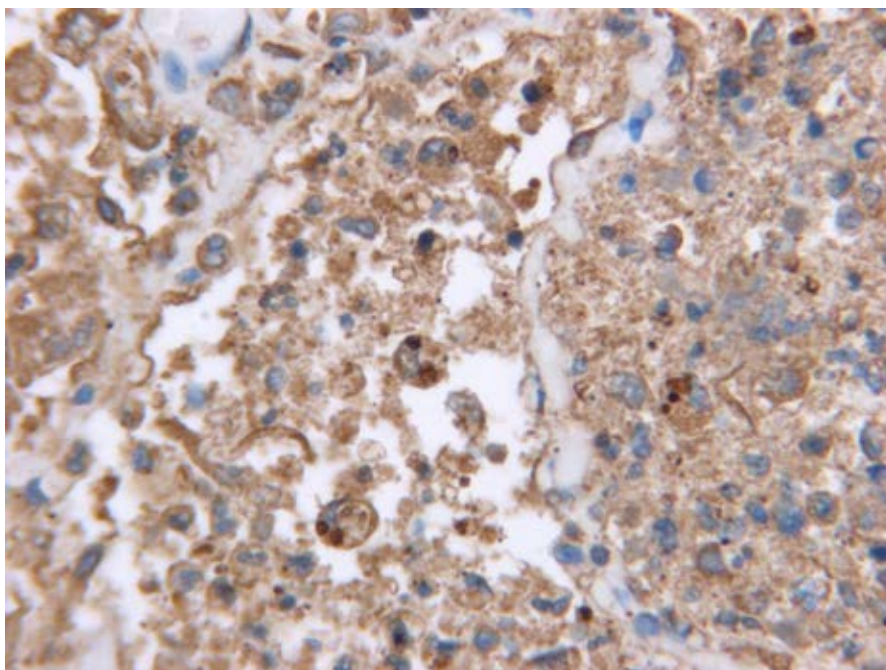


Рисунок 63. М 41 года, 6 суток. «Цитокиновый шторм»: экспрессия $\text{TNF}\alpha$ в макрофагах и апоптозных тельцах (фагосомах). Иммуногистохимическое исследование с использованием поликлональных антител к $\text{TNF}\alpha$, $\times 400$.

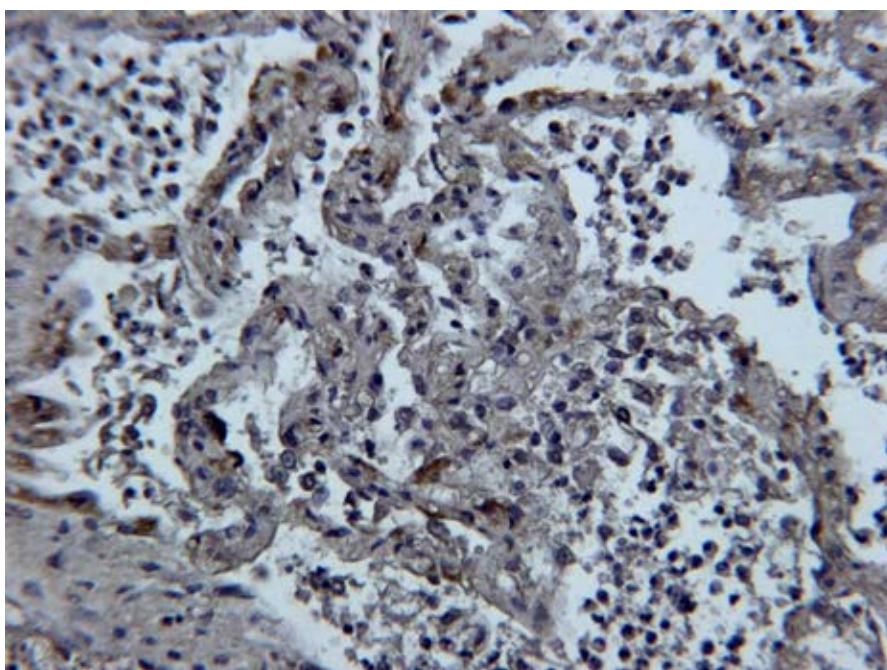


Рис. 64. М. 34 лет, ДЗ 3 сутки. «Цитокиновый шторм»: нуклеокапсид SARS-CoV-2 в капиллярах межальвеолярных перегородок и единичных альвеолоцитах. Иммуногистохимическая окраска с использованием моноклонального мышинового антитела (X155), $\times 100$.

При гистологическом исследовании в просветах малой части альвеол обнаружены внутриальвеолярный отёк и скопления эритроцитов, в просветах основной массы альвеол – скопления лимфоцитов, макрофагов, в цитоплазме части макрофагов определялись фагоцитированные эритроциты и клеточные фрагменты. При иммуногистохимическом исследовании отмечалась положительная экспрессия TNF- α в цитоплазме внутриальвеолярных макрофагов. Межалвеолярные перегородки в этих участках утолщены за счет интерстициального отека, выраженного полнокровия капилляров. В части капилляров обнаружены сгустки эритроцитов и фибриновые тромбы. В просветах большей части бронхиол выявлены скопления лимфоцитов и макрофагов. При иммуногистохимическом исследовании ткани лёгких с антителами против нуклеокапсида SARS-CoV-2 (X155) выявлена положительная реакция в капиллярах межалвеолярных перегородок и единичных альвеолоцитах. В почках обнаружены коллапс единичных клубочков, некроз эпителия части канальцев, полнокровие капилляров части клубочков и артериол.

В описанных выше наблюдениях у пациентов со стремительным течением COVID-19 клинико-лабораторные признаки «цитокинового шторма» развивались, как правило, к 3 суткам от начала заболевания. При этом в лабораторных показателях обращали на себя внимание лейко-, лимфо- и тромбоцитопении в сочетании с повышением СРБ, D-димера, ферритина, ИЛ-6 в 4-1000 раз относительно референсных значений и впервые были описаны основные гистологические изменения в лёгких при развитии «цитокинового шторма».

3.3 Сравнительная оценка рентгенологических и морфологических изменений в легких при новой коронавирусной инфекции по материалу аутопсий.

При оценке прижизненно проведенного КТ-исследования умерших пациентов были выделены ведущие КТ-симптомы: «матовое стекло», «булыжная мостовая», консолидация, симптомокомплекс организующейся пневмонии (зоны консолидации треугольной и полигональной формы, перилобулярная консолидация), субплевральные тяжи консолидации, симптомы «ободка» и «обратного ободка», расцениваемые как симптомокомплекс организующейся пневмонии (рис. 65а).

Были оценены следующие гистологические признаки: внутриальвеолярный отек, наличие в просветах полостей альвеол различных клеток/гиалиновых мембран, наличие внутриальвеолярной грануляционной (фибробластической) ткани и/или фибрина (организующаяся пневмония), интерстициальное воспаление в виде лимфоидной инфильтрации, отека, отложения коллагена в межалвеолярных перегородках, диффузные и/или очаговые внутриальвеолярные кровоизлияния, геморрагический инфаркт, аэрированные альвеолы обычных размеров или с расширением альвеолярных ходов и мешочков («острое вздутие»), дистелектаз/фиброателектаз (рис. 65б).

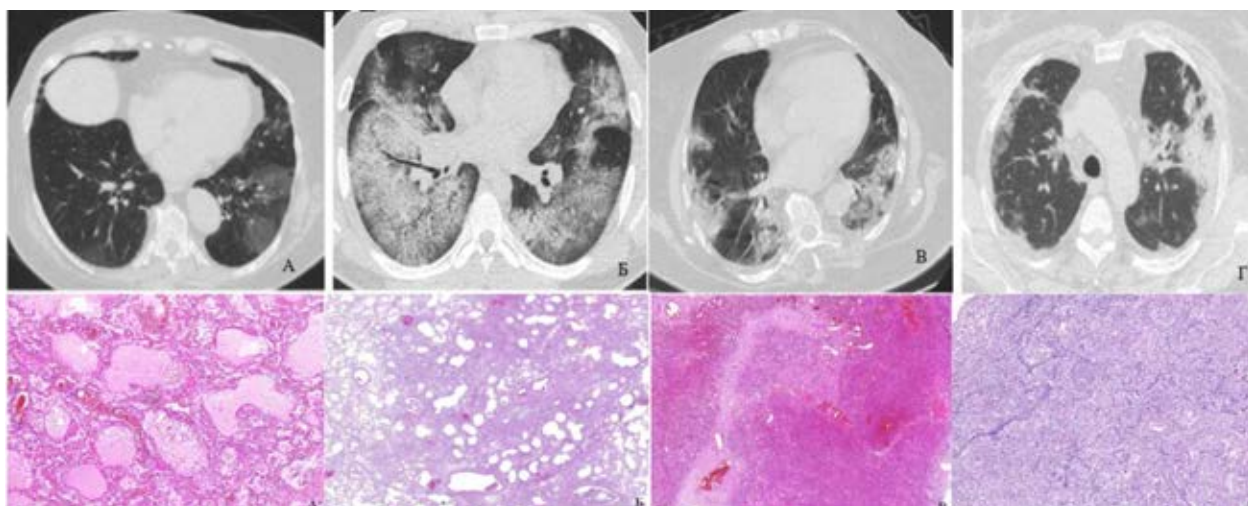


Рис. 65а. А – КТ-симптом «матового стекла», Б-симптом «булыжной мостовой», В-симптом консолидации, Г-паттерн организуемой пневмонии (перилобулярные уплотнения паренхимы, симптом «обратного ободка»)

Рис. 65б. Гистология. А-внутриальвеолярный отек и гиалиновые мембраны, Б - заполненные и аэрированные альвеолы, В -внутриальвеолярное скопление эритроцитов, Г- полиповидная фибробластическая ткань в альвеолах. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$.

При анализе объема поражения степень КТ-1 (поражение 0-25% объема паренхимы легких) была выявлена у одного пациента, КТ-2 (25-50%) у одного пациента, КТ-3 (50-75%) у 8 пациентов и КТ-4 (более 75%) у 4 пациентов. Частота встречаемости КТ-симптомов в исследуемых участках легкого представлена в таблице 4.

Таблица 4.

Встречаемость КТ-симптомов.

Признак	Встречаемость (в %)	КТ- симптом (в %)
«Матовое стекло»	44,4	28,9
«Булыжная мостовая»	40,0	28,9
Организующаяся пневмония	24,4	15,6
Консолидация	31,1	24,4

Во всех наблюдениях встречалась комбинация указанных выше гистологических признаков, соответствующих для экссудативной и пролиферативной фаз. Частота встречаемости признаков представлена в таблице 5.

Таблица 5.

Частота встречаемости гистологических признаков.

Признак	Доля (в%)
Внутриальвеолярный отек	33,3
Внутриальвеолярная клеточность/гиалиновые мембраны	44,4
Организирующаяся пневмония	53,4
Бактериальная пневмония	6,7
Интерстициальное воспаление/НСИП	24,5
Диффузные/очаговые кровоизлияния	24,5
Геморрагический инфаркт	11,1
Кровоизлияния (все)	35,6
Аэрированные альвеолы	6,7
Острое вздутие	40,0
Дистелектаз/фиброателектаз	13,3

На рис. 66 представлена частота встречаемости различных гистологических признаков при изучаемых нами КТ-симптомах.



Рис. 66. Частота встречаемости гистологических признаков при симптоме «матовое стекло».

При КТ-симптоме «матового стекла» при гистологическом исследовании наиболее часто встречались внутриальвеолярная клеточность (57,1%) в сочетании с внутриальвеолярным фибрином (42,9%) и отеком (28,6%). В части наблюдений на более поздних сроках заболевания зоны «матового стекла» характеризовались интерстициальной инфильтрацией или утолщением альвеол по типу неспецифической интерстициальной пневмонии (НСИП) – 14,3 и 28,6% соответственно (рис 67 А, Б, В).

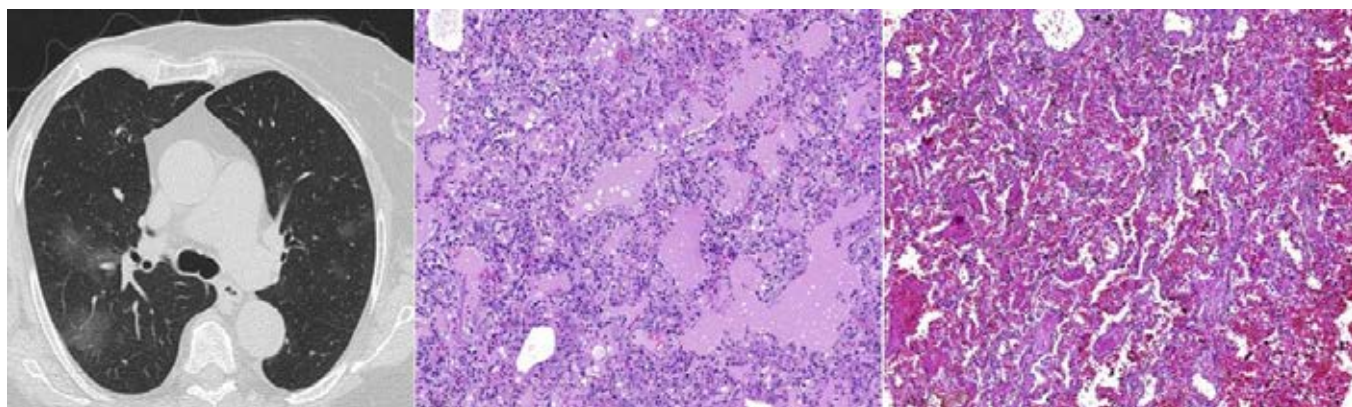


Рис. 67. А – КТ признак «матовое стекло». Б – внутриальвеолярный отек. В – фибрин в альвеолах и эритроциты.



Рис. 68. Частота встречаемости гистологических признаков при симптоме «булыжная мостовая».

Симптом «булыжной мостовой» во всех наблюдениях характеризовался комбинацией признаков, включая внутриальвеолярное заполнение отечной жидкостью, клеточными скоплениями, в том числе эритроцитами или фибрином при наличии в соседних участках, аэрированных или гипервоздушных альвеол. (рис. 69 А, Б, В).

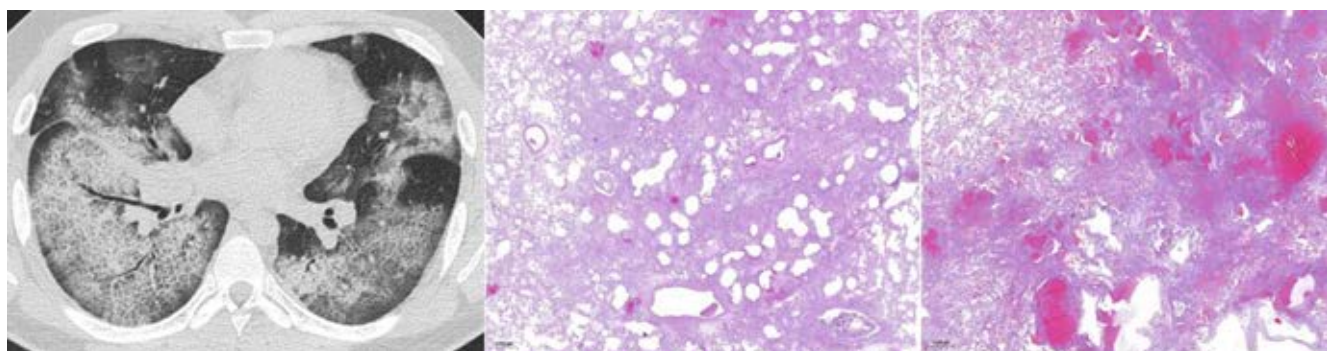


Рис. 69. А – КТ симптом «булыжная мостовая». Б – внутриальвеолярный отек в сочетании с гипервоздушными альвеолами. В – полнокровие сосудов, внутриальвеолярное скопление эритроцитов, в сочетании с аэрированными альвеолами.



Рис. 70. Частота встречаемости гистологических признаков при организирующейся пневмонии.

При симптомокомплексе организирующейся пневмонии наиболее частыми гистологическими признаками оказались очаговые дистелектазы, внутриальвеолярная грануляционная ткань в сочетании со скоплением гиалиновых мембран, встретившихся с равной частотой (42,9%) (рис. 71 А, Б, В).

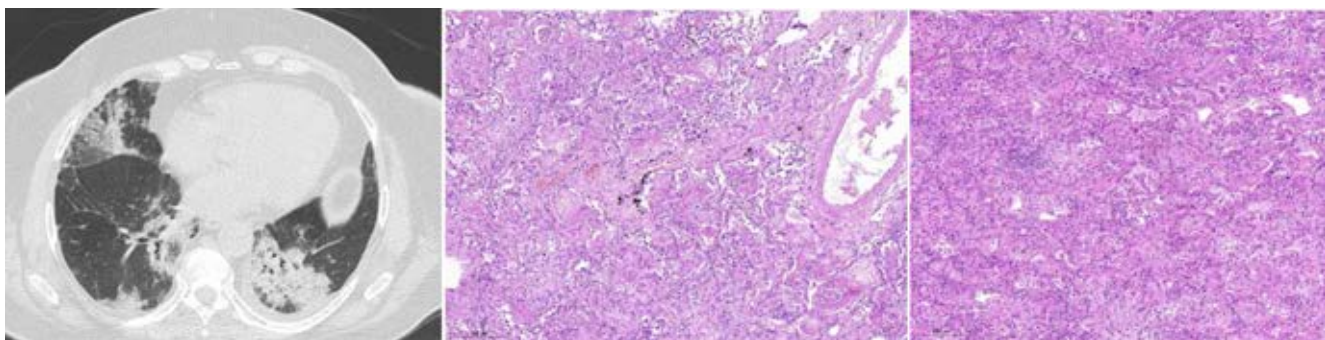


Рис. 71. А – КТ признак организуемой пневмонии. Б – грануляционная ткань в просвете альвеол. В – дистелектаз.



Рис. 72. Частота встречаемости гистологических признаков при консолидации.

При наличии симптома консолидации на КТ в гистологических срезах наиболее часто выявляли массивные кровоизлияния (особенно при наличии облаковидных консолидатов при КТ) (в 45,5%), а также признаки организации в виде скопления фибрина (36,4%), грануляционной ткани (18,2%) или безвоздушных дистелетазированных участков (18,2%) (рис. 72, 73 А, Б, В).

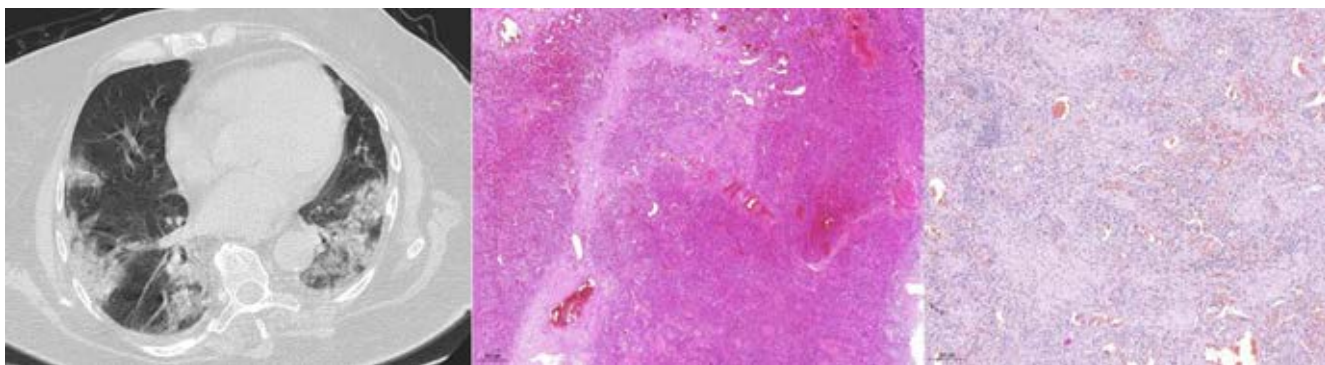


Рис. 73. А – КТ признак консолидации. Б – инфаркт-пневмония легкого. В – дистелектаз.

Таким образом, для каждого гистологического препарата была выявлена комбинация перечисленных изменений.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В исследовании проанализирован аутопсийный материал 196 умерших с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 в период с 20 марта по 6 июня 2020 года. В начале работы по данным мировой литературы имелись лишь немногочисленные публикации с описанием морфологических изменений в легких, вызванных вирусом SARS-CoV-2. В настоящее время опубликовано множество работ, однако, в данном исследовании проанализирован наибольший объем аутопсийного материала легких.

Критически тяжелое течение новой коронавирусной пневмонии, приведшее к летальному исходу чаще развивается в старших возрастных группах. В нашем исследовании доля умерших старше 60 лет составила 77%. Это согласуется с данными литературы [19]. Соотношение мужчин и женщин составило 114/82. По данным литературы летальность преобладала среди мужчин [73]. В нашем исследовании наиболее часто встречающимися сочетанными заболеваниями были сердечно-сосудистые нарушения (ИБС, гипертоническая болезнь) – в 48% наблюдений, сахарный диабет – в 21% и ожирение – в 10%. Имеющиеся литературные данные свидетельствуют о частой встречаемости данных коморбидных состояний тяжелом течении новой коронавирусной инфекции [14, 37].

Особенностью морфологических проявлений COVID-19 является обнаруженное при исследовании неполное соответствие между продолжительностью течения заболевания и фазой ДАП. Аналогичные данные были получены рядом исследователей [35]. Так, изменения, характерные для экссудативной фазы, преимущественно наблюдались на 4–37-й день заболевания, а признаки пролиферации – на 9-е сутки появления симптомов. Кроме того, в 35,2 % наблюдений выявлено сочетание экссудативной и пролиферативной фазы заболевания. Предположительным объяснением такого феномена может быть особенность клинического течения заболевания. Хорошо известно, что в некоторых случаях временное улучшение состояния, а также клинических и лабораторных показателей сменяется повторным ухудшением, что, возможно,

связано с волнообразным характером процесса репликации вируса в эпителии нижних дыхательных путей и альвеолярном эпителии. Этим, вероятно, можно объяснить и тот факт, что у части пациентов в позднюю пролиферативную фазу ДАП наблюдалась десквамация альвеолярного эпителия с выраженными цитопатическими изменениями. Нельзя исключить, что это может быть связано с длительной персистенцией вируса, который обнаруживается в ткани легкого в течение многих дней и является триггером для повторного повреждения легких и прогрессии заболевания [25, 114]. При этом в позднюю фазу течения болезни РНК вируса уже не определяется в материале назофарингеальных мазков, однако в большинстве наблюдений в нашей группе был обнаружен в аутопсийном материале легких (72%). Такая временная гетерогенность отличает COVID-19 от других вирусных пневмоний. Во время эпидемии, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1), морфологические изменения четко соответствовали продолжительности заболевания и фазам ДАП. При иммуногистохимическом исследовании было продемонстрировано, что в пролиферативную фазу ДАП частицы вируса не были обнаружены в тех наблюдениях, где отмечалось сочетание экссудативной и пролиферативной фаз. В исследовании Travis, однако, было показано, что вирус определялся с помощью метода ИГХ и ПЦР *in situ* в тех участках, где имели место признаки экссудативной фазы ДАП [89].

Цитопатические изменения в эпителии обусловлены, вероятнее всего, прямым вирусным повреждением клеток. Бронхиолярный эпителий, альвеолоциты 1-го и преимущественно 2-го типа экспрессируют рецепторы к ангиотензинпревращающему ферменту-2 (АПФ2), позволяющему вирусу проникать в клетку. В ряде исследований [25, 111] вирус SARS-CoV-2 обнаружен в альвеолярном эпителии. В нашем исследовании нуклеокапсид вируса SARS-CoV-2 был выявлен в альвеолоцитах, гиалиновых мембранах, эндотелиоцитах и бронхиолярном эпителии в экссудативную фазу ДАП. В фазу пролиферации нуклеокапсид вируса был выявлен в бронхиолярном и метаплазированном эпителии, в миофибробластах грануляционной ткани и миоцитах в стенках бронхов и сосудов среднего калибра.

В ряде морфологических исследований, основанных на аутопсийном материале умерших с COVID-19, продемонстрирована высокая частота тромбоэмболических изменений в легких. В данном исследовании частота выявления тромбов в ветвях легочной артерии, вен и капиллярах составила 31,63%, 11,73% и 3,06% соответственно. Однако, несмотря на имеющиеся данные о системной коагуляции, в большинстве наблюдений следует расценивать эти изменения в легких как тромбоз, а не тромбоэмболию (за исключением четко выявленных тромбоэмболов на аутопсии). При этом мы учитывали характер внутрисосудистого содержимого – от сладжей эритроцитов до фибриново-эритроцитарных тромбов, а также сетчатого фибрина в просветах сосудов. Фибриновые тромбы в ветвях легочной артерии обнаружены в данном исследовании лишь в 2 наблюдениях. Обнаружение тромбов в артериолах и ветвях легочной артерии в нашем исследовании сопровождалось наличием участков внутриальвеолярного отека, иногда с единичными гиалиновыми мембранами, в том числе и у умерших на поздних сроках, с признаками пролиферативной фазы ДАП.

Ряд авторов указывает на наличие эндотелиита, в том числе лейкоцитарного, как причины повреждения эндотелия [7, 100]. В нашем исследовании истинного васкулита мы не наблюдали, в части наблюдений была выявлена периваскулярная инфильтрация клетками лимфоидного ряда. В целом картина не укладывается в изменения, характерные для васкулита, по всей вероятности, стоит говорить об иммунном повреждении сосудов, развивающимся вслед за вирусным и цитокиновым повреждением [77].

Патогенез внутрисосудистой легочной коагулопатии связан с повреждением аэрогематического барьера и, в первую очередь, эндотелия. В нашем исследовании частицы вируса были обнаружены не только в эндотелиоцитах, но и в перицитах. Перициты являются одним из составляющих эндотелия сосудов и играют важную роль в стабильности микрососудистого русла, регулируют барьерную функцию и перфузию. Они также вовлечены в поддержание реологии

и гомеостаза, включая регуляцию потока крови, ангиогенеза, стабилизации сосудов и их проницаемости [31, 39, 113]

Эндотелиальные клетки экспрессируют тромбомодулин, обладающий антикоагулянтными свойствами, тогда как перициты обеспечивают прокоагулянтную активность вследствие выработки тканевого фактора (Tissue Factor, TF). [30]. Ранее было показано, что перициты имеют рецепторы к АПФ2, таким образом, вирус SARS-CoV-2 может напрямую повреждать перициты. [51]. Тромбообразование, являющееся ключевым фактором, определяющим прогноз течения заболевания, может быть обусловлено повреждением перицитов, связанным с прямым цитопатическим действием вируса.

Полнокровие и микротромбоз капилляров межальвеолярных перегородок является одним из ярких морфологических признаков вирусной пневмонии COVID-19 [78, 104]. В ряде исследований [16, 36] показана высокая частота внутрилегочных тромбозов и микротромбозов. Такие изменения могут быть обнаружены уже на ранних сроках заболевания, однако, в нашей работе у 6 пациентов полнокровие и микротромбоз капилляров межальвеолярных перегородок при наличии минимальной выраженности отека и скудных немногочисленных гиалиновых мембран, были выявлены через 5-35 дней от появления симптомов. Вероятнее всего, в этих наблюдениях отек и гиалиновые мембраны могут быть следствием острого повреждения, связанного с микротромбозом, а не с развитием классической картины ДАП, вызванный вирусным повреждением, прежде всего альвеолоцитов и эндотелиоцитов. У этих умерших КТ изменения в легких свидетельствовали о наличии минимально выраженной вирусной пневмонии. Margo et al., Menter et al. показали, что у пациентов с полнокровием и микротромбозом капилляров, признаки диффузного альвеолярного повреждения были менее выраженными [71, 78]. По всей вероятности, у части умерших возможно разрешение признаков вирусной пневмонии, однако развитие внутрисосудистой коагулопатии, преимущественно в микроциркуляторном русле, что может приводить к резкому нарушению функции легких, в первую очередь к резкому падению сатурации крови кислородом и

выраженной декомпенсированной дыхательной недостаточности с возможным последующим летальным исходом.

В 7,1% наблюдений в легких имелась костная метаплазия во время пролиферативной фазы ДАП при COVID-19. На наличие костной метаплазии в легких при новой коронавирусной инфекции указывает Schaller T. et al [90]. Процессы кальцификации и оссификации в легких связаны, вероятнее всего с повышением в сыворотке крови концентрации кальция и фосфатов, активностью алкальной фосфатазы и местным нарушением pH в тканях. Для достоверности необходимы дополнительные исследования для выяснения возможных патогенетических механизмов столь быстрого (в течение 1,5 месяцев) формирования кальцификатов и оссификатов в легких при вирусной пневмонии.

Появление мегакариоцитов в капиллярах межальвеолярных перегородок, по всей вероятности, также является признаком, отражающим нарушение коагуляции. Мегакариоциты в капиллярах межальвеолярных перегородок описаны рядом авторов при инфекции, вызванной SARS-CoV-2 [25, 35, 95]. В работе Кунгуровой В.В., Хасанянова С.В (2015) было показано, что мегакариоциты могут быть обнаружены в капиллярах межальвеолярных перегородок и других органах при шоковых состояниях различной этиологии [8], в том числе при сепсисе [1]. В норме мегакариоциты редко покидают костный мозг, однако при гипоксии появление этих клеток в капиллярах легких свидетельствует о напряженном кроветворении и может приводить к местному тромбообразованию. Кроме того, имеются предположения, что ряд вирусов, в том числе вирус Денге может напрямую повреждать мегакариоциты, приводя к нарушению продукции тромбоцитов и к тромбоцитопении [20], которая является одним из лабораторных признаков COVID-19 [44]. В доступной нам литературе мы не обнаружили доказательств прямого вирусного повреждения мегакариоцитов. Это требует дальнейшего подтверждения, что поможет уточнить патогенез развития внутрилегочной коагулопатии при COVID-19.

В настоящем исследовании продемонстрирована патогистологическая картина в легких у 6 умерших с клинико-лабораторными признаками

«цитокинового шторма», приведшего к летальному исходу на 7-е сутки заболевания. При этом в лабораторных показателях обращали на себя внимание лейко-, лимфо- и тромбоцитопения в сочетании с повышением лабораторных параметров крови выше верхней границы нормы в несколько раз.

Многие провоспалительные цитокины, такие как интерлейкины 1 и 10, фактор некроза опухоли α (TNF α), повышаются примерно от 2 до 100 раз при «цитокиновом шторме» по сравнению с нормальными значениями, а ИЛ-6 увеличивается в некоторых наблюдениях более чем в 1000 раз. Повышенный уровень сывороточного ИЛ-6 связан с развитием лимфопении и активацией эндотелия [27].

Провоспалительные цитокины участвуют в рекрутировании лимфоцитов, например, TNF α , как известно, увеличивает адгезию лимфоцитов за счет активации путей SDF-1 (stromal cell-derived factor-1, фактор 1 стромальных клеток)/CXCR-4 (chemokine receptor type 4, хемокиновый рецептор 4 типа). Взаимодействие Т-лимфоцитов и эндотелия, вероятно, способствует длительному интерстициальному воспалению при COVID-19 [15], что косвенно подтверждается стойким снижением числа лимфоцитов при развитии «цитокинового шторма», особенно CD⁴⁺ Т-лимфоцитов и NK-клеток, – факторами неблагоприятного прогноза болезни [67]. Предполагают, что лимфопения при COVID-19 обусловлена так называемой секвестрацией, то есть привлечением лимфоцитов в зону активного воспаления. Кроме того, в исследовании Andre S. и соавт. продемонстрировано, что лимфопения при тяжелом течении COVID-19 обусловлена апоптозом Т-лимфоцитов, который может быть предотвращен введением пан-ингибитора каспаз Q-VD [17].

Мы предполагаем, что выявленные нами признаки активации макрофагального звена со скоплением большого числа внутриальвеолярных макрофагов с фагоцитированными клеточными частицами и эритроцитами могут свидетельствовать в пользу апоптоза. Последний, возможно, является одним из причин резкого развития лимфопении.

Косвенным подтверждением апоптоза является выявление при ИГХ TNF α в цитоплазме внутриальвеолярных макрофагов с фагоцитированными клеточными фрагментами. Известно, что TNF α участвует в апоптозе различных клеток. Лиганд, индуцирующий апоптоз, связанный с TNF α (TRAIL), инициирует пути клеточной гибели, при которой активация каспазы опосредована либо напрямую (без митохондриальной амплификации), или косвенно через высвобождение апоптогенных факторов из митохондрий. [82].

Описана активация макрофагального звена при инфекции SARS-CoV-2. Макрофаги активно участвуют в утилизации апоптозных частиц. Кроме того, показано, что при повышении уровня провоспалительных цитокинов может развиваться гемофагоцитоз [54, 80]. Ранее было показано, что эритроциты могут подвергаться самодеструкции, при которой отмечаются некоторые черты, сходные с апоптозом, включая сморщивание клеток, микровезикуляцию плазматической мембраны, экстернализацию фосфатидилсерина, приводящую к распаду эритроцитов или к их фагоцитозу макрофагами, например, в легких. [23].

Кроме того, развитие «цитокинового шторма» сочетается с диссеминированным внутрисосудистым свертыванием крови с окклюзией просветов мелких сосудов, развитием гипоксемии, гипотонии, гемостатического дисбаланса и вазодилаторного шока, обуславливающим повышенную летальность при болезни [81, 94].

Впервые продемонстрирована гистологическая картина в лёгких при развитии «цитокинового шторма». По нашему мнению, обнаружение в альвеолах массивного скопления макрофагов, часть из которых содержала фагоцитированные эритроциты и фрагменты апоптотических телец, является отражением активации клеточного звена иммунитета, индуцируемой провоспалительными цитокинами. Интересно, что в фазу «цитокинового шторма» частицы вируса с помощью метода ИГХ обнаружены преимущественно в капиллярах межальвеолярных перегородок, а не в альвеолоцитах.

Эндотелий играет важную роль в патогенезе COVID-19, описана активация транскрипции генов, ответственных за развитие тромбовоспалительных каскадов,

что приводит к повышению частоты микротромбозов [16, 21, 47, 50]. Повреждение эндотелиоцитов может быть обусловлено прямым действием вируса. При выполнении ИГХ исследования авторы обнаруживали вирус SARS-CoV-2 не только в клетках респираторного эпителия, преимущественно в альвеолоцитах II типа, но также в эндотелии сосудов. Кроме того, вирусные частицы выявлены в альвеолоцитах II типа и эндотелии с помощью метода электронной микроскопии [16, 22].

Интрализация вируса SARS-CoV-2 внутрь эпителиоцитов и эндотелиоцитов происходит с помощью его мембранного рецептора - АПФ2. При этом происходит активация Toll-подобных рецепторов (TLR). Эпителиальные и эндотелиальные клетки с помощью TLR распознают и идентифицируют SARS-CoV-2, что приводит к активации транскрипционного ядерного фактора κ B, который вызывает повышенную экспрессию зависимых генов. Активированные эпителиальные клетки начинают синтезировать различные биологически активные молекулы, в том числе хемокины. Данные цитокины, обладая хемоаттрагирующим действием, привлекают к месту внедрения инфекции макрофагов, полиморфноядерных лейкоцитов и лимфоцитов [2]. Выявленные при гистологическом исследовании фрагменты клеток и эритроцитов в цитоплазме внутриальвеолярных макрофагов также могут являться косвенным свидетельством апоптоза лимфоцитов, однако это требует дальнейшего подтверждения.

Таким образом, локализация вируса SARS-CoV-2 преимущественно в капиллярах межальвеолярных перегородок вместе с признаками выраженной активации макрофагального звена, по-видимому, отражают развитие «цитокинового шторма» при новой коронавирусной пневмонии. Гиперцитокинемия приводит к активации капиллярного эндотелия и активному выбросу в системный кровоток цитокинов, привлекающих в альвеолы эффекторные клетки, в том числе лимфоциты. Последующее усиление фагоцитоза, вероятно, направлено на поглощение макрофагами апоптотических телец – фрагментов лимфоцитов. На данном этапе развития болезни вирус, по всей

вероятности, локализуется преимущественно в эндотелии сосудов [24], повреждение которого в сочетании с развитием внутрисосудистой коагулопатии приводит к развитию полиорганной недостаточности.

Гистологические изменения в легких при COVID-19 позволяют уточнить механизмы повреждения легких при вирусной пневмонии. Поиск взаимосвязей между патогистологическими изменениями в легких и их морфологическими отражениями при рентгенологическом исследовании позволит осуществить принцип персонализированного подхода к терапии пациентов. В настоящей работе с использованием метода прицельного забора материала при аутопсии мы предприняли попытку провести сопоставление морфологии легких, определяемой с помощью двух вышеописанных методов.

КТ-исследование вирусной пневмонии является одним из ключевых методов диагностики заболевания и определения его тяжести. В рекомендациях консенсуса Североамериканского общества радиологов к основным находкам при КТ относят такие симптомы, как “матовое стекло”, консолидация, “бульбозная мостовая”, симптом “обратного ободка” и другие изменения, характерные для организуемой пневмонии [93]. При этом было выявлено, что первичным КТ симптомом в подавляющем большинстве случаев является “матовое стекло”, а все остальные описанные в литературе легочные симптомы в определенной последовательности являются следствием его развития [6, 58, 84, 91, 102]. J. Kanne и соавт. отметили, что разрешение происходит через изменения по типу организуемой пневмонии [58] с последующим сохранением остаточных изменений в виде участков “матового стекла”. У умерших пациентов с наличием симптома “матового стекла” при КТ в большинстве случаев (57,1%) были выявлены увеличение числа клеток в просветах альвеол (внутриальвеолярная клеточность), гиалиновые мембраны, десквамация альвеолярного эпителия в виде пластов и инфильтрация лимфоцитами меж альвеолярных перегородок, что соответствует экссудативной фазе ДАП. Из имеющихся публикаций известно, что симптом “матового стекла” соответствует внутриальвеолярному отеку за счет серозного и фибринозного экссудата [110]. Однако внутриальвеолярный отек как

более раннее проявление экссудативной фазы ДАП нами был выявлен только в 28,6% наблюдений. Очевидно, что в нашей выборке это связано с тем, что мы исследовали материал умерших с тяжелым течением вирусной пневмонии, т.е. не в самую раннюю фазу болезни. Кроме того, “матовое стекло” в 42,9% случаев соответствовало интерстициальному воспалению за счет лимфоидной инфильтрации межалвеолярных перегородок или отложения в них коллагена (интерстициальная клеточность/НСИП), что определяется в позднюю экссудативную или раннюю пролиферативную фазу ДАП. Симптом “булыжной мостовой” наиболее сложен для интерпретации, в том числе при исследовании легких у пациентов с COVID-19. Традиционно принято считать, что этот симптом отражает утолщение внутри- и междолькового интерстиция и встречается при ряде заболеваний, в том числе легочном альвеолярном протеинозе, альвеолярном гемосидерозе, эозинофильной пневмонии и др. [40]. Однако при гистологическом исследовании при описанных выше заболеваниях, как правило, не выявляют выраженного изменения межалвеолярных перегородок и междольковой соединительной ткани. Мы не наблюдаем этого и при вирусной пневмонии COVID-19. При прицельном посмертном взятии материала из участков, обозначенных как зоны “булыжной мостовой”, были выявлены мозаичные гистологические изменения с чередованием заполненных альвеол (внутриальвеолярный отек, скопления эритроцитов, макрофагов, лимфоцитов, реже нейтрофилов) и воздушных альвеол (острое вздутие или аэрированные альвеолы), местами при наличии интерстициального отека и лимфоидной инфильтрации межалвеолярных перегородок разной степени выраженности без их утолщения. Такая мозаичность изменений дает картину “матового стекла” с ретикулярными изменениями, т.е. симптом “булыжной мостовой”.

Участки консолидации гистологически были представлены обширными внутриальвеолярными кровоизлияниями и/или типичными зонами геморрагических инфарктов в 45,5% случаев. По данным исследования группы из Нового Орлеана, доминирующими процессами в легких, кроме ДАП, были тромбозы мелких сосудов и ассоциированные с ними кровоизлияния (у 9 из 10

умерших) [41]. Кроме того, в 18,2% наблюдений зоны консолидации на компьютерной томограмме представлены участками с внутриальвеолярным скоплением фибрина и разрастанием фибробластической ткани, что соответствует морфологическим признакам организующейся пневмонии. По нашему мнению, это может объясняться сложностью оценки симптома консолидации. Важно отметить, что в большинстве публикаций симптом консолидации не дифференцируется. Однако мы отметили, что зоны сливной лобулярной консолидации, по нашим данным, в 100% случаев соответствовала массивному альвеолярному кровоизлиянию, тогда как консолидация линейного и перилобулярного типа (которую мы расценивали в рамках паттерна организующейся пневмонии) в большинстве случаев соответствовала морфологическим изменениям, характерным для организующейся пневмонии. Тем не менее во многих случаях рентгенологически разграничить консолидацию как самостоятельный КТ-симптом (морфологически, вероятно, соответствующий выраженному альвеолярному кровоизлиянию/геморрагическому инфаркту) или в рамках паттерна организующейся пневмонии (морфологически – организующаяся пневмония) крайне сложно. Однако сопоставление сроков заболевания с анализом динамики рентгенологических изменений, а также клинико-лабораторных данных (клиническое ухудшение, повышение в сыворотке крови концентрации Д-димера и ЛДГ, свидетельствующих в пользу синдрома внутрилегочной коагулопатии и кровоизлияний [77, 97] помогает в дальнейшей тактике выбора терапевтического подхода. Кроме того, наличие в участках консолидации организующейся пневмонии по данным гистологического исследования связано с тем, что в зонах геморрагического инфаркта при его разрешении образуется грануляционная ткань – т.е. организующаяся пневмония. Перилобулярная консолидация, субплевральные тяжи, симптомы “ободка” и “обратного ободка”, которые мы расценивали в рамках симптомокомплекса организующейся пневмонии на компьютерной томограмме, по результатам гистологического исследования были обусловлены заполнением просветов альвеол фибробластической тканью в виде “пробок” (43%), дистелектазами (безвоздушные участки легкого с нежной

соединительной тканью), что характерно для пролиферативной фазы ДАП. Однако в 43% наблюдений также встречалось увеличение числа клеток в просветах альвеол, в части случаев с наличием гиалиновых мембран.

Группой исследователей Стэнфордского университета описан случай прижизненной трансбронхиальной биопсии, проведенной у пациентки с инфекцией COVID-19 и изменениями на компьютерной томограмме в виде перилобулярной консолидации, которые морфологически соответствовали организующейся пневмонии [87], что согласуется с нашими данными. Важно отметить, что в большинстве проанализированных нами образцов было выявлено сочетание изменений, которые характерны как для экссудативной, так и пролиферативной фазы ДАП. Так, внутриальвеолярный отек, гиалиновые мембраны и внутриальвеолярное скопление макрофагов, лимфоцитов и лейкоцитов в ряде случаев сочетались с организацией фибрина, скоплением фибробластов и фибробластической ткани. Сочетание фаз ДАП подтверждено рядом исследований [35]. Однако остаются некоторые сложные вопросы. Например, трактовка таких симптомов, как “булыжная мостовая”, для которого характерны как частичное разрешение изменений за счет освобождения альвеол от экссудата, так и признаки течения экссудативной фазы ДАП за счет присоединения очаговых кровоизлияний. Не до конца ясна возможность оценки симптома консолидации, так как, по нашим данным, преимущественно он представлен выраженным альвеолярным кровоизлиянием, но также в ряде случаев патоморфологическими изменениями, соответствующими организующейся пневмонии. Вероятно, вопрос специфичности КТ-изменений требует дальнейших исследований. Кроме того, безусловно, при анализе полученных нами данных необходимо принимать во внимание разницу во времени между последней прижизненной КТ и днем смерти (медиана 2,0 дня [0; 3,5]), что также может повлиять на точность наших данных. Мы предполагаем, что наши результаты могут иметь ценность в определении прогноза и тактики ведения пациентов с COVID-19.

В настоящий момент наиболее широко обсуждаются как минимум два основных патогенетических механизма течения болезни: “цитокиновый шторм”, развивающийся на 7–14-й день болезни и являющийся первичной причиной развития дыхательной недостаточности, и выходящая на передний план несколько позже коагулопатия, которая напоминает несколько известных синдромов, таких как тромботическая микроангиопатия и диссеминированное внутрисосудистое свертывание [57, 77, 92, 97]. Основными проявлениями пневмонии COVID-19 при тяжелых формах заболевания являются ДАП с развитием в экссудативную фазу “цитокинового шторма” и синдром легочной внутрисосудистой коагулопатии, требующие, вероятно, различных терапевтических подходов в разные периоды течения болезни. По нашим данным, КТ-картина этих двух состояний различна. “Цитокиновый шторм” в рамках экссудативной фазы ДАП проявляется преимущественно изменениями по типу “матового стекла” или “булыжной мостовой”, синдром внутрисосудистой коагулопатии, вероятнее всего, может соответствовать кровоизлияниям, определяемым на компьютерной томограмме как участки консолидации, в том числе зоны сливной лобулярной консолидации. Безусловно, возможно их сочетание. Однако в ситуациях, когда удастся выделить ведущий паттерн изменений в легких на различных этапах течения заболевания, метод КТ в сочетании с клинико-лабораторными данными может стать перспективным методом в определении выбора терапевтического подхода.

ВЫВОДЫ

1) При критически тяжелом течении COVID-19 доля умерших старше 60 лет составила 77%, преобладали мужчины, среди сочетанных заболеваний наиболее часто встречались ИБС и/или артериальная гипертензия - в 48% наблюдений, сахарный диабет – в 21%, ожирение – в 10%, болезни органов дыхания - в 8%, злокачественные новообразования – в 8%, другие заболевания – в 5%.

2) При COVID-19 развивается вирусная интерстициальная пневмония в виде диффузного альвеолярного повреждения, у четверти умерших - с выраженным альвеолярно-геморрагическим синдромом, распространенными тромбозами ветвей легочной артерии, вен и капилляров межальвеолярных перегородок.

3) При новой коронавирусной пневмонии имеет место неполное соответствие фаз диффузного альвеолярного повреждения длительности заболевания, а также – у 35,2% умерших – сочетание признаков экссудативной и пролиферативной фаз ДАП, что связано с персистенцией вируса в ткани легких.

4) При иммуногистохимическом исследовании вирус SARS-CoV-2 был выявлен в альвеолоцитах, эпителиоцитах бронхиол, эндотелии и гиалиновых мембранах в экссудативную фазу; в миофибробластах, бронхиолярном и метapлазированном эпителии и миоцитах стенок бронхов и сосудов – в пролиферативную.

5) При наличии клинико-лабораторных показателей «цитокинового шторма» гистологически обнаружены активированные макрофаги, признаки апоптоза в виде внутриальвеолярных и фагоцитированных апоптозных телец, вирус SARS-CoV-2 выявлен в капиллярах межальвеолярных перегородок. Косвенным свидетельством апоптоза является экспрессия TNF α в фагосомах макрофагов.

6) Внутрисосудистая легочная коагулопатия является одним из ведущих проявлений новой коронавирусной пневмонии, в патогенезе которой играет роль

вирус-опосредованное повреждение эндотелия сосудов - эндотелиоцитов и перицитов.

7) При прицельном рентгено-морфологическом сопоставлении было обнаружено, что КТ-симптом «матового стекла» соответствует ранним изменениям при экссудативной фазе ДАП в виде внутриальвеолярного отека, гиалиновых мембран при наличии внутриальвеолярного и интерстициального воспаления и очаговых кровоизлияний, а при симптоме «булыжной мостовой» имеет место мозаичное распределение описанных выше изменений.

8) При КТ-симптомах организующейся пневмонии гистологические изменения соответствовали пролиферативной фазе ДАП с наличием внутриальвеолярной грануляционной ткани и/или фибрина в сочетании с участками дистелектазов. Консолидация при КТ легких соответствовала морфологическим участкам выраженных внутриальвеолярных кровоизлияний и/или организующейся пневмонии.

9) Вторичная (нозокомиальная) очаговая или очагово-сливная бактериальная пневмония у умерших от COVID-19 была выявлена в 29,1% наблюдений и развивалась после длительной ИВЛ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Результаты анализа морфологических изменений при разных КТ-симптомах новой коронавирусной пневмонии могут быть использованы при назначении и коррекции терапии на разных стадиях вирусной интерстициальной пневмонии.

2. Сочетание различных фаз диффузного альвеолярного повреждения может свидетельствовать о длительной персистенции вируса SARS-CoV-2 в ткани легкого, что позволяет пересматривать подходы к продолжительности патогенетической противовирусной терапии.

3. Учитывая отсутствие признаков диффузного альвеолярного повреждения и наличие микрососудистого поражения у части пациентов с дыхательной недостаточностью, появляется необходимость разработки новых терапевтических стратегий, направленных на коррекцию коагуляции и тромбообразования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Белянин В.Т., Рыбакова М.Г. Сепсис. Патологическая анатомия. СПб.: ГУЗ ГПАБ. – 2004. – 56 с.
- 2) Болевич С.Б., Болевич С.С. Комплексный механизм развития COVID-19 // Сеченовский вестник. – 2020. – № 11(2). – С. 50–61.
- 3) Боровиков В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. – СПб.: Питер. – 2001. – 656 с.
- 4) Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика. – 1999. – 459 с.
- 5) Забозлаев Ф.Г., Кравченко Е.В., Галлямова А.Р. и др. Патологическая анатомия легких при новой коронавирусной инфекции (CoVID-19). Предварительный анализ аутопсийных исследований // Клиническая медицина. – 2020. – №. 11(2). – Р. 21-37
- 6) Кармазановский Г.Г., Замятина К.А., Сташків В.И. и др. Компьютерно-томографическая диагностика и мониторинг течения вирусной пневмонии, обусловленной вирусом SARS-CoV-2, при работе “Госпиталя COVID-19” на базе Федерального специализированного медицинского научного центра // Медицинская визуализация. – 2020. – № 24 (2). – С. 11–36.
- 7) Коган Е.А., Демура С.А., Березовский Ю.С. и соавт. Формы-фазы патологических изменений в легких при новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2. // Вестник ЦНИИТ. – 2020. – № 4 (13). – С. 49-63.
- 8) Кунгурова В.В., Хасанянова С.В. К вопросу о мегакариоцитозе в сосудах микроциркуляции при различных видах наступления смерти (по данным судебно-гистологических исследований) // Проблемы экспертизы в медицине. – 2015. – № 15 (1–2). – С. 15–17
- 9) Ланг Т.А, Сесик М. Как описывать статистику в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов. М.: Практическая Медицина. – 2011. – 480 с.
- 10) Лукьянова Е.А. Медицинская статистика: Учебное пособие. – М.: Изд-во РУДН. – 2003. – 246 с.

- 11) Патологическая анатомия COVID-19: Атлас / Зайратьянц О. В., Самсонова М. В., Михалева Л. М., Черняев А. Л., Мишнев О. Д., Крупнов Н. М., Калинин Д. В. Под общей ред. О. В. Зайратьянца. – М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ». – 2020. – 140 с.
- 12) Покровский В. И., Брико Н. И. Общая эпидемиология с основами доказательной медицины. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2010. – 400 с.
- 13) Потапнев М.П. ЦИТОКИНОВЫЙ ШТОРМ: ПРИЧИНЫ И ПОСЛЕДСТВИЯ // Иммунология. – 2021. – №2. – С. 175-178.
- 14) Рыбакова М.Г., Карев В.Е., Кузнецова И.А. Патологическая анатомия новой коронавирусной инфекции COVID-19. Первые впечатления. // Архив патологии. – 2020. – №82(5). – С. 5–15.
- 15) Ackermann M., Mentzer S.J., Kolb M. et al. Inflammation and intussusceptive angiogenesis in COVID-19: everything in and out of flow // Eur Respir J. – 2020. – Vol. 56(5). – P. 2003147.
- 16) Ackermann M., Verleden S., Kuehnel M. et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19 // New England Journal of Medicine. – 2020. – Vol. 383(2). – P. 120-128.
- 17) André S., Picard M., Cezar R. et al. T cell apoptosis characterizes severe Covid-19 disease // Cell Death Differ. – 2022. – Vol. 22. – P. 1–14.
- 18) Barisione E., Grillo F. et al. Fibrotic progression and radiologic correlation in matched lung samples from COVID-19 post-mortems // Virchows Archiv. – 2021. – Vol. 478. – P. 471-485.
- 19) Bello-Chavolla O.Y., Bahena-López J.P., Antonio-Villa N.E. et al. Predicting Mortality Due to SARS-CoV-2: A Mechanistic Score Relating Obesity and Diabetes to COVID-19 Outcomes in Mexico // J Clin Endocrinol Metab. – 2020. – Vol. 105(8). – P. dgaa346.
- 20) Boilard E., Flamand L. The role of the megakaryocyte in immunity has gone viral // Blood. – 2019. – Vol. 133(19). – P. 2001–2002.
- 21) Bösmüller H., Matter M., Fend F. et al. The pulmonary pathology of COVID-19 // Virchows Arch. – 2021. – Vol. 478(1). – P. 137-150.

22) Bradley B.T., Maioli H., Johnston R. et al. Histopathology and ultrastructural findings of fatal COVID-19 infections in Washington State: a case series // Lancet. – 2020. – Vol. 396(10247). – P. 320-332.

23) Bratosin D., Estaquier J., Petit F. et al. Programmed cell death in mature erythrocytes: a model for investigating death effector pathways operating in the absence of mitochondria // Cell Death Differ. – 2001. – Vol. 8. – P. 1143–56

24) Bryce C., Grimes Z., Pujadas E. et al. Pathophysiology of SARS-CoV-2: targeting of endothelial cells renders a complex disease with thrombotic microangiopathy and aberrant immune response. The Mount Sinai COVID-19 autopsy experience // Mod Pathol. – 2021. – Vol. 34(8). – P. 1456-1467.

25) Carsana L., Sonzogni A., Nasr A. et al. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study // The Lancet Infectious Diseases. – 2020. – Vol. 20(10). – P. 1135-1140.

26) Chen C., Yan JT., Zhou N. et al. Analysis of myocardial injury in patients with COVID-19 and association between concomitant cardiovascular diseases and severity of COVID-19 // Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi. – 2020. – Vol. 48(7). – P. 567-571

27) Chen L.Y.C., Hoiland R.L., Stukas S. et al. Confronting the controversy: interleukin-6 and the COVID-19 cytokine storm syndrome // Eur Respir J. – 2020. – Vol. 56(4). – P. 2003006.

28) Chen N., Zhou M., Dong X. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study // Lancet. – 2020. – Vol. 395(10223). – P. 507-513.

29) Colantuoni A., Martini R., Caprari P. et al. COVID-19 Sepsis and Microcirculation Dysfunction // Front Physiol. – 2020. – Vol. 11.

30) Daisley H., Rampersad A., Daisley M. et al. COVID-19: a closer look at the pathology in two autopsied cases. Is the pericyte at the center of the pathological process in COVID-19? // Autopsy Case Reports. – 2021. – Vol. 11. – P. e2021262.

31) Davis G.E., Norden P.R., Bowers S.L. Molecular control of capillary morphogenesis and maturation by recognition and remodeling of the extracellular matrix:

functional roles of endothelial cells and pericytes in health and disease // *Connect Tissue Res.* – 2015. – Vol. 56(5). – P. 392-402.

32) Dimova I., Karthik S., Makanya A. et al. SDF-1/CXCR4 signalling is involved in blood vessel growth and remodelling by intussusception // *J Cell Mol Med.* – 2019. – Vol. 23(6). – P. 3916-3926.

33) Ding X., Xu J., Zhou J. et al. Chest CT findings of COVID-19 pneumonia by duration of symptoms // *Eur J Radiol.* – 2020. – Vol. 127. – P. 109009.

34) Docherty A.B., Harrison E.M., Green C.A. et al. Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: prospective observational cohort study // *BMJ.* – 2020. – Vol. 369. – P. m1985.

35) Duarte-Neto A., Monteiro R., Silva L. et al. Pulmonary and systemic involvement in COVID-19 patients assessed with ultrasound-guided minimally invasive autopsy // *Histopathology.* – 2020. – Vol. 77(2). – P. 186-197.

36) Edler C., Schröder A., Aepfelbacher M. et al. Dying with SARS-CoV-2 infection—an autopsy study of the first consecutive 80 cases in Hamburg, Germany // *Int J Legal Med.* – 2020. – Vol. 134(4). – P. 1275-1284.

37) Ejaz H., Alsrhani A., Zafar A. et al. COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients // *J Infect Public Health.* – 2020. – Vol. 13(12). – P. 1833-1839.

38) Fajgenbaum, D. C., June, C. H. Cytokine storm // *N. Eng. J. Med.* – 2020. – Vol. 383. – P. 2255–2273.,

39) Ferland-McCollough D., Slater S., Richard J. et al. Pericytes, an overlooked player in vascular pathobiology // *Pharmacol Ther.* – 2017. – Vol. 171. – P. 30-42.

40) Fisser C., Hamer O.W., Eiber R. et al. Pflastersteine in der Lunge [Crazy Paving Pattern of the Lung] // *Pneumologie.* – 2019. – Vol. 73(1). – P. 49-53.

41) Fox S.E., Akmatbekov A., Harbert J.L. et al. Pulmonary and Cardiac Pathology in Covid-19: The First Autopsy Series from New Orleans // *Lancet.* – 2020. – Vol. 8 (7). – P. 681–686.

- 42) Gattinoni L., Coppola S., Cressoni M. et al. COVID-19 Does Not Lead to a “Typical” Acute Respiratory Distress Syndrome // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2020. – Vol. 201(10). – P. 1299-1300.
- 43) Giannis D., Ziogas I., Gianni P. Coagulation disorders in coronavirus infected patients: COVID-19, SARS-CoV-1, MERS-CoV and lessons from the past // *Journal of Clinical Virology.* – 2020. – Vol. 127. – P. 104362.
- 44) Gienke B., Pim G., Mutsaers N. et al. COVID-19-associated immune thrombocytopenia // *Br J Haematol.* – 2020. Vol. 190(2). – P. e61-e64.
- 45) Gralinski L.E., Bankhead A. 3rd, Jeng S. et al. Mechanisms of severe acute respiratory syndrome coronavirus-induced acute lung injury // *mBio.* – 2013. – Vol. 4. – P. e00271-13.
- 46) Grillo F., Barisione E., Ball L. et al. Lung fibrosis: an undervalued finding in COVID-19 pathological series // *Lancet Infect Dis.* – 2021. Vol. 21(4). – P. e72
- 47) Gu S.X., Tyagi T., Jain K. et al. Thrombocytopathy and endotheliopathy: crucial contributors to COVID-19 thromboinflammation // *Nat Rev Cardiol.* – 2021. – Vol. 18(3). – P. 194-209.
- 48) Guan W., Ni Z., Hu Y. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China // *N Engl J Med.* – 2020. – Vol. 382. – P. 1708-1720.
- 49) Hamming I., Timens W., Bulthuis M. et al. Tissue distribution of AIP2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis // *J Pathol.* – 2004. – Vol. 203(2). – P. 631-637.
- 50) Haslbauer J.D., Stalder A., Zinner C. et al. Immunohistochemical and Transcriptional Analysis of SARS-CoV-2 Entry Factors and Renin-Angiotensin-Aldosterone System Components in Lethal COVID-19 // *Pathobiology.* – 2021. – P. 1-12.
- 51) He, Liqun & Andaloussi Mäe, Maarja et al. Pericyte-specific vascular expression of SARS-CoV-2 receptor AIP2 - implications for microvascular inflammation and hypercoagulopathy in COVID-19 patients // *bioRxiv preprint.* – 2020.

- 52) Herold T., Jurinovic V., Arnreich C. et al. Elevated levels of IL-6 and CRP predict the need for mechanical ventilation in COVID-19 // *J Allergy Clin Immunol.* – 2020. – Vol. 146(1). – P. 128-136.
- 53) Heurich A., Hofmann-Winkler H., Gierer S. et al. TMPRSS2 and ADAM17 Cleave AIP2 Differentially and Only Proteolysis by TMPRSS2 Augments Entry Driven by the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein // *J Virol.* – 2013. – Vol. 88(2). – P. 1293-1307.
- 54) Horby P., Lim WS., Emberson J.R. et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 // *N Engl J Med.* – 2021. – Vol. 384(8). – P. 693-704.
- 55) Hosseiny M., Kooraki S., Gholamrezanehad A. et al. Radiology perspective of coronavirus disease 2019 (COVID-19): lessons from severe acute respiratory syndrome and Middle East respiratory syndrome // *Am. J. Roentgenol.* – 2020. – Vol. 214. – P. 1078–1082.
- 56) Huang C., Wang Y., Li X. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* – 2020. – Vol. 395(10223). – P.497-506.
- 57) Josea R.J., Manuelc A. COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation // *Lancet Respir. Med.* – 2020. – Vol. 8(6). – P. e45-e47.
- 58) Kanne J.P. Chest CT findings in 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections from Wuhan, China: key points for the radiologist // *Radiology.* – 2020. – Vol. 295(1). – P. 16-17.
- 59) Khakpour S., Wilhelmsen K., Hellman J. Vascular endothelial cell Toll-like receptor pathways in sepsis // *Innate Immun.* – 201. – Vol. 21(8). – P.827-846.
- 60) Kirschenbaum D, Imbach LL, Rushing EJ et al. Intracerebral endotheliitis and microbleeds are neuropathological features of COVID-19 // *Neuropathol Appl Neurobiol.* – 2021. – Vol. 47(3). – P. 454-459.
- 61) Lee D.W., Gardner R., Porter D.L. et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome // *Blood.* – 2014. – Vol. 124. – P. 188–95.

- 62) Li G., Fox S.E., Summa B. et al. Multiscale 3-dimensional pathology findings of COVID-19 diseased lung using highresolution cleared tissue microscopy. // bioRxiv. –preprint. – 2020.
- 63) Li H., Liu L., Zhang D. et al. SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses // *The Lancet*. – 2020. – Vol. 395(10235). – P.1517-1520.
- 64) Li K, Wohlford-Lenane C, Perlman S et al. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Causes Multiple Organ Damage and Lethal Disease in Mice Transgenic for Human Dipeptidyl Peptidase 4 // *J Infect Dis*. – 2016. – Vol. 213(5). – P. 712-722.
- 65) Lin L., Lu L., Cao W. et al. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review of immune changes in patients with viral pneumonia // *Emerg Microbes Infect.* – 2020. – Vol. 9(1). – P. 727-732.
- 66) Liu J., Li S., Liu J. et al. Longitudinal Characteristics of Lymphocyte Responses and Cytokine Profiles in the Peripheral Blood of SARS-CoV-2 Infected Patients. // *SSRN Electronic Journal*. – 2020.
- 67) Liu Y., Tan W., Chen H. et al. Dynamic changes in lymphocyte subsets and parallel cytokine levels in patients with severe and critical COVID-19 // *BMC Infect Dis*. – 2021. – Vol. 21(1). – P. 79.
- 68) Lu R., Zhao X., Li J. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395(10224). – P. 565-574.
- 69) Lukan N. “Cytokine storm”, not only in COVID-19 patients. Mini-review // *Immunol. Lett.* – Vol. 228. – P. 38–44.
- 70) Luo W, Yu H, Gou J et al. Clinical Pathology of Critical Patient with Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19) // *Preprints.org*. – 2020.
- 71) Magro C., Mulvey J., Berlin D. et al. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases // *Translational Research*. – 2020. – Vol. 220. – P. 1-13.
- 72) Magrone T., Magrone M., Jirillo E. Focus on Receptors for Coronaviruses with Special Reference to Angiotensin- Converting Enzyme 2 as a Potential Drug

Target - A Perspective // Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets. – 2020. – Vol. 20(6). – P. 807-811.

73) Mangia C., Russo A., Civitelli S. et al. Differenze sesso/genere nella letalità COVID-19: cosa dicono e non-dicono i dati [Sex/gender differences in COVID-19 lethality: what the data say, and do not say] // Epidemiol Prev. – 2020. – Vol. 44(5-6 Suppl 2). – P. 400-406.

74) Martines R., Ritter J., Matkovic E. et al. Pathology and Pathogenesis of SARS-CoV-2 Associated with Fatal Coronavirus Disease, United States // Emerg Infect Dis. – 2020. – Vol. 26(9). – P. 2005-2015.

75) Mathew D., Leisman D.E. et al. Cytokine elevation in severe and critical COVID-19: a rapid systematic review, meta-analysis, and comparison with other inflammatory syndromes// Lancet. – 2020. – Vol. 8. – P. 1233-1244.

76) Mauad T., Duarte-Neto A.N., da Silva L.F.F. et al. Tracking the time course of pathological patterns of lung injury in severe COVID-19 // Respir Res. – 2021. – Vol. 22(1). – P. 32.

77) McGonagle D., O'Donnell J., Sharif K. et al. Immune mechanisms of pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19 pneumonia // Lancet Rheumatol. – 2020. – Vol. 2(7). – P. e437-e445.

78) Menter T., Haslbauer J., Nienhold R. et al. Postmortem examination of COVID-19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings in lungs and other organs suggesting vascular dysfunction // Histopathology. – 2020. – Vol. 77(2). – P. 198-209.

79) Mentzer A., Connor T.R., Wieler, L.H. et al. Identification of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) clades with long-term global distribution // Nat Genet. – 2014. . –Vol. 46. – P. 1321–1326.

80) Moore J.B., June C.H. Cytokine release syndrome in severe COVID-19 // Science. – 2020. – Vol. 368(6490). – P.473-474.,

81) Morris G., Bortolaschi C.C., Puri B.K. et al. Preventing the development of severe COVID-19 by modifying immunothrombosis // Life Sci. – 2021. – Vol. 264. – P. 118617

82) Ndebele, K., Gona, P., Jin, T.G. et al. Tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induced mitochondrial pathway to apoptosis and caspase activation is potentiated by phospholipid scramblase-3 // *Apoptosis*. – 2008. – Vol. 13. – P. 845–856.

83) Oudkerk M., Büller H., Kuijpers D. et al. Diagnosis, Prevention, and Treatment of Thromboembolic Complications in COVID-19: Report of the National Institute for Public Health of the Netherlands // *Radiology*. – 2020. – Vol. 297(1). – P. E216-E222.

84) Pan F., Ye T., Sun P., Gui S., Liang B., Li L., Zheng D., Wang J., Hesketh R.L., Yang L. Time course of lung changes on chest CT during recovery from 2019 novel coronavirus (COVID19) pneumonia // *Radiology*. – 2020. – Vol. 295(3). – P. 715-721.

85) Perlman S. Coronavirus: Novel Coronavirus (COVID-19) Infection // Elsevier. – 2020. – 10 p.

86) Plasecia-Urizarri, Thais M. et al. Comorbidities of COVID-19: systematic review and meta-analysis // *Rev. habanera cienc. med.* – 2020. – Vol. 19. – P. e3389-e3389.

87) Pogatchnik B.P., Swenson K.E., Sharifi H. et al. Radiology–Pathology Correlation Demonstrating Organizing Pneumonia in a Patient Who Recovered from COVID-19 // *Am. J. Respiratory Crit. Care Med.* – 2020.

88) Richardson S., Hirsch J.S., Narasimhan M. et al. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City area // *JAMA*. – 2020. – Vol. 323(20). – P. 2052-2059.

89) Sauter J.L., Baine M., Butnor K. et al. Insights into pathogenesis of fatal COVID-19 pneumonia from histopathology with immunohistochemical and viral RNA studies // *Histopathology*. – 2020. – Vol. 77(6). – P. 915-925.

90) Schaller T., Hirschi K., Burkhardt K. et al. Postmortem Examination of Patients With COVID-19 // *JAMA*. – 2020. – Vol. 323(24). – P. 2518.

91) Shi H., Han X., Zheng C. Evolution of CT manifestations in a patient recovered from 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) pneumonia in Wuhan, China. *Radiology*. – 2020. – Vol. 295(1). – P. 20.

92) Shimizu M., Mizuta M., Okamoto N. et al. Tocilizumab modifies clinical and laboratory features of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis // *Pediatr. Rheumatol. Online J.* – 2020. – Vol. 18(1). – P. 2.

93) Simpson S., Kay F.U., Abbara S. et al. Radiological Society of North America Expert Consensus Statement on Reporting Chest CT Findings Related to COVID-19. Endorsed by the Society of Thoracic Radiology, the American College of Radiology, and RSNA // *Radiology: Cardiothoracic imaging*. – 2020. – Vol. 2(2). – P. e200152

94) Song P., Li W., Xie J. et al. Cytokine storm induced by SARS-CoV-2 // *Clin Chim Acta*. – 2020. – Vol. 509. – P. 280-287.

95) Suess C., Hausmann R. Gross and histopathological pulmonary findings in a COVID-19 associated death during self-isolation // *Int J Legal Med*. – 2020. – Vol. 134(4). – P. 1285-1290.

96) Tang N., Bai H., Chen X. et al. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2020. – Vol. 18(5). – P. 1094-1099.

97) Tang N., Li D., Wang X., Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia // *J. Thromb. Haemost.* – 2020. – Vol. 18(4). – P. 844-847.

98) Teoh K., Siu Y., Chan W. et al. The SARS Coronavirus E Protein Interacts with PALS1 and Alters Tight Junction Formation and Epithelial Morphogenesis // *Mol Biol Cell*. – 2010. – Vol. 21(22). – 3838-3852.

99) Tian X., Li C., Huang A. et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody // *Emerg Microbes Infect.* – 2020. – Vol. 9(1). – P. 382-385.

100) Varga Z., Flammer A., Steiger P. et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 // *The Lancet*. – 2020. – Vol. 395(10234). – P. 1417-1418.

101) Wang D., Hu. B., Hu. C. et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China // JAMA. – 2020. – Vol. 323(11). – P.1061-1069.

102) Wang Y, Dong C, Hu Y et al. Temporal changes of CT findings in 90 patients with COVID-19 pneumonia: a longitudinal study // Radiology. – 2020. – Vol. 296(2). – P. E55-64.

103) WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. – URL: <https://who.maps.arcgis.com/apps/dashboards/a19d5d1f86ee4d99b013eed5f637232d> (Data last updated: 2021/9/13, 3:05pm CEST.)

104) Wichmann D., Sperhake J., Lütgehetmann M. et al. Autopsy Findings and Venous Thromboembolism in Patients With COVID-19 // Ann Intern Med. – 2020. – Vol. 173(4). – P. 268-277.

105) Wrapp D., Wang N., Corbett K. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation // Science (1979). – 2020. – Vol. 367(6483). – P. 1260-1263.

106) Wu F., Zhao S., Yu B. et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China // Nature. – 2020. – Vol. 579(7798). – P. 265-269.

107) Wunsch H. Mechanical ventilation in COVID-19: interpreting the current epidemiology // Am J Respir Crit Care Med. – 2020. – Vol. 202(1). – P. 1-4.

108) Xu H., Zhong L., Deng J. et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa // Int J Oral Sci. – 2020. – Vol. 12(1). – P. 8.

109) Xu X.W., Wu X.X., Jiang X.G. et al. Clinical findings in a group of patients infected with the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) outside of Wuhan, China: retrospective case series // BMJ. – 2020. – Vol. 368. – P. m606.

110) Yang Q., Liu Q., Xu H. et al. Imaging of coronavirus disease 2019: A Chinese expert consensus statement // Eur. J. Radiol. – 2020. – Vol. 127. – P. 109008.

111) Zhang H, Wang C, Zhou P et al. Histopathologic Changes and SARS-CoV-2 Immunostaining in the Lung of a Patient With COVID-19 // Ann Intern Med. – 2020. – Vol. 173(4). – P. 324.

112) Zhang H., Penninger J., Li Y. et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (АПФ2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target // Intensive Care Med. – 2020. – Vol. 46(4). – P. 586-590.

113) Zhang Z.S., Zhou H.N., He S.S. et al. Research advances in pericyte function and their roles in diseases // Chin J Traumatol. – 2020. – Vol. 23(2). – P. 89-95.

114) Zhou F., Yu T., Du R. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study // Lancet. – 2020. – Vol. 395(10229) – P. 1054-1062.

115) Zhu N., Zhang D., Wang W. et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019 // N Engl J Med. – 2020. – Vol. 382(8). – P. 727-733.

116) Zu Z.Y., Jiang M.D., Xu P.P. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a perspective from China // Radiology. – 2020. – Vol. 296(2). – P. E15-25.