

ПОКАЗАТЕЛИ ВРОЖДЕННОГО И АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ПАЦИЕНТОВ ПРИ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ КОРОНАВИРУСОМ SARS-CoV-2

Ситдикова Т.С.^{1, 2}, Кабиева А.А.², Просекова Е.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

² КГБУЗ «Владивостокская поликлиника № 3», г. Владивосток, Россия

Резюме. В реализации заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, ведущими патогенетическими механизмами являются дисбаланс иммунного ответа и нарушение цитокиновой регуляции с недостаточным синтезом интерферонов при инициации болезни и последующей гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, приводящие к выраженному воспалению с повреждением легочной паренхимы.

Цель — мониторинг содержания цитокинов, антител и иммунокомпетентных клеток, биомаркеров воспаления у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, вызванную COVID-19, в течение заболевания и периода реконвалесценции.

В исследование включено 60 пациентов старше 18 лет с тяжелым и среднетяжелым течением болезни, вызванной COVID-19. Верификацию диагноза проводили согласно с временными методическими рекомендациями Министерства здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» версия 11 (17.05.2021). Анализировали медицинские документы, проводили оценку лейкоцитограммы, субпопуляций Т-лимфоцитов, определяли уровень СРБ, интерлейкина-6 (IL-6), интерферона гамма (IFN γ), фактора некроза опухоли альфа (TNF α) и антител классов IgM и IgG к SARS-CoV-2.

Статистическая обработка данных проводилась при использовании программы Statistica 13 с критическим уровнем значимости $p < 0,05$, исследование связей коэффициентом ранговой корреляции Спирмена, многомерный корреляционный анализ с построением плеяд по В.П. Терентьеву (1959) и проверка нормальности распределения значений признака (Shapiro–Wilk). Объем выполненных исследований позволил оценить результаты с достоверностью 95-99%. Проведенные исследования выявили особенности динамики биомаркеров воспаления в различные периоды болезни, стойкие изменения количественных и качественных характеристик иммунокомпетентных клеток и показателей цитокинов, корреляции иммунологических показателей и тяжести клинического течения и степени поражения легочной паренхимы. У пациентов с тяжелым течением заболевания в период выраженных клинических проявлений отмечена лейкопения с низким удельным весом лимфоцитов и длительное сохранение высоких показателей СРБ и СОЭ, включая раннюю реконвалесценцию. Уровень и динамика антител класса IgG и IgM к SARS-CoV-2 различались в зависимости от тяжести клинического течения и длительности периода реконвалесценции. В период реконвалесценции отмечен

Адрес для переписки:

Ситдикова Татьяна Сергеевна
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
690014, Россия, г. Владивосток, пр. Красного знамени,
117д, кв. 191.
Тел.: 8 (924) 234-09-18.
E-mail: sestrichka_1985@mail.ru

Address for correspondence:

Sitdikova Tatiana S.
Pacific State Medical University
690014, Russian Federation, Vladivostok,
Krasnogo Znameni ave., 117d, apt 191.
Phone: 7 (924) 234-09-18.
E-mail: sestrichka_1985@mail.ru

Образец цитирования:

Т.С. Ситдикова, А.А. Кабиева, Е.В. Просекова
«Показатели врожденного и адаптивного
иммунитета пациентов при вирусной инфекции,
вызванной коронавирусом SARS-CoV-2» // Российский
иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 547-554.
doi: 10.46235/1028-7221-1051-IOI
© Ситдикова Т.С. и соавт., 2021

For citation:

T.S. Sitdikova, A.A. Kabieva, E.V. Prosekova
“Indexes of innate and adaptive immunity in the patients with
SARS-CoV-2 infection”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4,
pp. 547-554.
doi: 10.46235/1028-7221-1051-IOI
DOI: 10.46235/1028-7221-1051-IOI

дисбаланс регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов и низкий уровень $IFN\gamma$. Стойкие нарушения структурно-функциональных показателей иммунокомпетентных клеток и aberrантная продукция цитокинов при болезни, вызванной вирусом SARS-CoV-2, могут служить обоснованием актуальности мониторинга иммунологических показателей для поиска персонализированной иммунотропной терапии.

Ключевые слова: цитокины, иммунокомпетентные клетки, биомаркеры воспаления, коронавирусная инфекция, SARS-CoV-2

INDEXES OF INNATE AND ADAPTIVE IMMUNITY IN THE PATIENTS WITH SARS-CoV-2 INFECTION

Sitdikova T.S.^{a, b}, Kabieva A.A.^b, Prosekova E.V.^a

*Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation
City Polyclinic No.3, Vladivostok, Russian Federation*

Abstract. The main pathogenetic mechanisms of the SARS-CoV-2 infection include imbalance of immune response and impaired cytokine regulation involving insufficient interferon synthesis at the onset of the disease, and subsequent hyperproduction of proinflammatory cytokines resulting in marked inflammation and damage of pulmonary parenchyma. Our objective was to perform monitoring of cytokine content, determination of antibodies, immune cells, and inflammatory biomarkers in the patients who had coronavirus infection caused by COVID-19, during the disease and over the convalescence period. The study included sixty patients at the age of 18 y.o. and older with severe and moderate course of disease caused by COVID-19. The diagnosis was verified in accordance with provisional instructional guidelines of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation "Prevention, diagnosis and treatment of novel coronavirus infection (COVID-19)" version 11 (17.05.2021). The study involved analysis of medical documents, evaluation of differential white blood cell count, T cell subpopulations, C-reactive protein (CRP) levels, interleukin-6 (IL-6), interferon gamma ($IFN\gamma$), tumor necrosis factor-alpha ($TNF\alpha$), as well as IgM and IgG antibodies against SARS-CoV-2.

Statistical processing of data was performed by Statistica 13 program with critical significance level $p < 0.05$, correlations were analyzed using Spearman rank correlation coefficient, multidimensional correlation analysis with creation of pleiads, according to V.P. Terentyev's method (1959), and Shapiro–Wilk testing for normality of data distributions. The sample size made it possible to evaluate the results at a significance of 95–99%. These studies have yielded the results concerning specific changes of the inflammatory biomarkers at different stages of disease, persistent changes in quantitative and qualitative characteristics of immune cells and cytokine levels, correlations between immunological indicators and severity of clinical course, and degree of damage to pulmonary parenchyma. During the period of significant clinical presentations, the patients with severe course of disease exhibited leukopenia with low proportion of lymphocytes, and maintenance of CRP and ESR at high levels for longer terms, including early recovery. Levels and changes in amounts of IgG and IgM antibodies to SARS-CoV-2 varied in accordance with clinical severity and duration of convalescence period. During the recovery period, an imbalance of regulatory T cell subpopulations and low levels of $IFN\gamma$ were observed. The stable impairment of structural and functional characteristics of immune cells and aberrant production of cytokines during the disease caused by SARS-CoV-2 may serve as a pre-requisite for monitoring immunological indices in search for personalized immunotropic therapy.

Keywords: cytokines, immunocompetent cells, inflammatory biomarkers, coronavirus infection, SARS-CoV-2

Введение

В настоящее время широко изучаются особенности патогенетических иммунных механизмов реализации новой коронавирусной инфекции, вызванной COVID-19 [2, 3, 7, 8]. В процессе реализации данной инфекции зафиксированы системная гипервоспалительная реакция и дисбаланс иммунного ответа с нарушением цитокиновой регуляции и преобладанием синтеза про-

воспалительных цитокинов [8, 13]. Нарушения в регуляции цитокинового ответа являются одними из ведущих механизмов прогрессирования COVID-19 и развития органной недостаточности [4, 12, 15]. По мнению D.E. Leisman и соавт. (2020), роль увеличения содержания цитокинов дискуссионна и возникла необходимость сместить акцент с концепции «цитокиновой бури» на поиск альтернативных патогенетических механизмов развития органной дисфункции [13] и

концепции «иммунологического коллапса» [4, 13]. К.Е. Remy и соавт. (2020) зафиксировали у пациентов с коронавирусной инфекцией значимые нарушения механизмов иммунной защиты, которые характеризуются низким числом эффекторных иммунных клеток и структурно-функциональными изменениями моноцитов и Т-лимфоцитов [4, 15]. При коронавирусной инфекции выявлены нарушения в системе врожденного и адаптивного противовирусного иммунитета, интерфероногенеза, нарушения в клеточном звене иммунной системы с дисбалансом регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов. Последние сохраняются длительно и требуют иммунотропной фармакокоррекции и реабилитации [12, 15].

Исследователи отмечают, что в ряде случаев выраженность иммунных нарушений не позволяет объяснить развитие тяжелых осложнений, и указывают на актуальность поиска альтернативных клинико-лабораторных маркеров патогенетических механизмов и программ терапии не только с эффектом коррекции избыточного цитокинового ответа, но и восстановления структурных и функциональных свойств Т-лимфоцитов [4, 7, 15].

Патогенетическая значимость aberrантного функционирования врожденного и адаптивного иммунитета, особенностей динамики биомаркеров воспаления при коронавирусной инфекции COVID-19 и в период реабилитации определяют информативность и актуальность мониторингования иммунологических показателей и поиска индивидуальных показаний для применения иммуномодулирующей терапии.

Цель — мониторинг содержания цитокинов, антител и иммунокомпетентных клеток, биомаркеров воспаления у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, вызванную COVID-19, в течение заболевания и периода реконвалесценции.

Задачи исследования включали анализ клеточного спектра лейкоцитограммы и динамики биомаркеров воспаления у пациентов с разной тяжестью клинического течения коронавирусной инфекции, вызванной COVID-19, в различные периоды болезни и оценку содержания регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов, IFN γ , TNF α , IL-6 и антител к SARS-CoV-2 классов IgM и IgG

Исследование выполнено в ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России (ректор В.Б. Шуматов), комплексное клинико-иммунологическое обследование проводили в учебно-научной лаборатории кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии (заведующая кафедрой, д.м.н., профессор Просекова Е.В.). В период реабилитации пациенты

исследуемой группы находились под наблюдением в отделении дневного стационара Городского аллерго-респираторного центра краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Владивостокская поликлиника № 3» (главный врач Кабиева А.А.).

Материалы и методы

В исследование включено 60 пациентов старше 18 лет с тяжелым и средней тяжести клиническим течением коронавирусной инфекции, вызванной COVID-19. Верификацию диагноза проводили в соответствии с временными методическими рекомендациями Министерства Здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» версия 11 (17.05.2021) [5]. Критериями включения в исследование являлись: коронавирусная инфекция, вызванная COVID-19, среднетяжелого или тяжелого течения и осложненная пневмонией разной степени поражения легочной ткани. Критерии исключения включали: ОРВИ, обострения хронических заболеваний дыхательной системы; бессимптомное или легкое течение коронавирусной инфекции, вызванной COVID-19; применение иммуномодулирующих препаратов, в течение предшествующих исследованию 6 месяцев. В группу сравнения взяты 20 здоровых добровольцев, проживающих в Приморском крае. Проводили ретроспективный анализ медицинских документов (амбулаторные карты, выписки из медицинских карт и историй болезни) и гематологические и иммунологические исследования характеристик лейкоцитограммы, Т-лимфоцитов и их субпопуляций. Подготовка образцов периферической крови и настройка проточного цитофлуориметра проведены в соответствии с национальными рекомендациями [9]. Субпопуляции лимфоцитов определяли методом мультицветной проточной цитометрии, используя автоматический цитофлуориметр MACSQuant TM Analyzer 10 (Miltenyi Biotec GmbH, Германия), оснащенном тремя диодными лазерами 405, 488 и 638 нм. Результаты представлены в виде абсолютного количества каждой субпопуляции клеток в единице объема и относительного количества позитивных клеток (%). Определение уровня СРБ в сыворотке крови осуществляли методом латекс-агглютинации с использованием реагентов «СРБ-ОЛЬВЕКС» (Санкт-Петербург) и выражали в г/л. Содержание в сыворотке крови интерлейкина-6 (IL-6), интерферона гамма (IFN γ) и фактора некроза опухоли альфа (TNF α) учитывали методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) и выражали

в пикограммах в миллилитре. Оценку антител к SARS-CoV-2 в сыворотке крови проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ» и «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

Материалом для исследования иммунологических показателей и биомаркеров воспаления являлись цельная кровь и сыворотка крови.

Комплексное клиничко-иммунологическое обследование проведено на кафедре клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России (заведующая кафедрой, д.м.н., профессор Просекова Е.В.).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения STATISTICA 13 (StatSoft, Inc., США) и Excel (Microsoft Office 2010). Для проверки различных показателей (выборки) на наличие нормального распределения использовали тест Колмогорова–Смирнова и критерий согласия Пирсона χ^2 . При значении $p < 0,05$ считали существенным отклонение от нормального распределения. При обработке данных использовались методы параметрической статистики при коэффициенте вариации меньше 30% и непараметрической статистики при коэффициенте вариации больше 30%. Deskриптивные статистики представлены при нормальном распределении массива данных как $M \pm SD$; $M \pm m$, где M – среднее, SD – стандартное отклонение, m – стандартная ошибка средней величины и при распределении, не соответствующем нормальному, как $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$, где Me – медиана, $Q_{0,25}$ – нижний и $Q_{0,75}$ – верхний квартили.

Сравнение средних значений количественных признаков в нескольких группах проводили с помощью параметрического t-критерия Стьюдента. Оценку различий средних значений в попарно несвязанных выборках проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Критическое значение уровня статистической значимости (p) при проверке нулевых гипотез принималось равным 0,05. Для выявления наличия зависимости проведены корреляционный анализ с использованием коэффициента корреляции Спирмена и многомерный корреляционный анализ с построением плеяд по В.П. Терентьеву (1959) Проверка нормальности распределения значений признака (Shapiro–Wilk). Объем выполненных исследований позволил оценить результаты с достоверностью 95-99%.

Результаты и обсуждение

В группе наблюдения среди пациентов с вирусной инфекции, вызванной коронавирусом

SARS-CoV-2 ($n = 60$), преобладали женщины –63,34% ($n = 38$) в возрасте 45-59 лет. Средний возраст пациентов в наблюдаемой группе составил $53,08 \pm 5,17$ лет. У 70% ($n = 42$) пациентов течение заболевания было средней тяжести, при этом у мужчин чаще отмечалось тяжелое течение заболевания. Среди 22 мужчин с вирусной инфекцией, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2, у 12 (54,55%) диагностировано тяжелое течение заболевания. В исследуемой группе у женщин среднетяжелое течение коронавирусной инфекции диагностировано в 86,84% случаев. Данные компьютерной томографии (КТ) зафиксировали у трети пациентов объем поражения легочной паренхимы в диапазоне от 51% до 75% и в половине случаев объем поражения легких определялся в диапазоне от 26% до 50%. У 6 человек (1 женщина и 5 мужчин) объем поражения легких превышал 75% легочной паренхимы. У пациентов с объемом поражения легочной ткани 75% и более зафиксирован высокий уровень антител IgM к SARS-CoV-2. При тяжелом течении коронавирусной инфекции содержание IgM антител к SARS-CoV-2 в сыворотке крови было значительно выше данных показателей у пациентов со среднетяжелым течением заболевания на протяжении всех периодов болезни и реконвалесценции ($p < 0,05$).

Исследование лейкоцитограммы пациентов в динамике заболевания коронавирусной инфекцией, вызванной COVID-19, зафиксировали различия структуры и количественных показателей клеточного спектра в зависимости от периода болезни (табл. 1). В период выраженных клинических проявлений выявлено в преобладающем большинстве случаев при средней тяжести течения заболевания увеличение абсолютного числа лейкоцитов ($12,47 \pm 1,68 \times 10^9/\text{л}$). У 15 пациентов увеличение общего числа лейкоцитов сопровождалось ростом числа нейтрофилов, у 8 пациентов – увеличением роста числа моноцитов. При тяжелом клиническом течении болезни в большинстве случаев определялись явления лейкопении ($2,77 \pm 0,52 \times 10^9/\text{л}$). У 24 пациентов число лейкоцитов в периферической крови было сопоставимо с данными группы контроля ($5,95 \pm 0,32 \times 10^9/\text{л}$).

При коронавирусной инфекции, вызванной COVID-19, в период выраженных клинических проявлений болезни у 31 пациента зафиксирована лимфопения и средние показатели числа лимфоцитов составляли $0,85 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$. В данный период число лимфоцитов в периферической крови в исследуемой группе было достоверно ниже, чем в группе здоровых доноров, и составляло $1,31 \pm 0,09 \times 10^9/\text{л}$ против $2,60 \pm 0,10 \times 10^9/\text{л}$ соответственно ($t = 9,59$; при $p < 0,001$). Значи-

мое нарастание абсолютного числа лимфоцитов в периферической крови, сопоставимое с показателями здоровых, у пациентов с коронавирусной инфекцией, вызванной COVID-19, зафиксировано в ранний период реконвалесценции при среднетяжелом течении болезни ($2,24 \pm 0,15 \times 10^9/\text{л}$) (табл. 1).

В проведенном исследовании у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, вызванную COVID-19, в период выраженных клинических проявлений было отмечено увеличение абсолютного числа нейтрофилов и моноцитов при снижении абсолютного числа лимфоцитов. В период разрешения заболевания сохранялись данные проявления в большинстве случаев и только в период реконвалесценции при среднетяжелом течении болезни показатели лейкоцитограммы были сопоставимы с показателями здоровых доноров.

У 52 пациентов (86,67%) с коронавирусной инфекцией, вызванной COVID-19, в период выраженных клинических проявлений выявлены высокие показатели содержания СРБ с медианой равной 39,45 мг/л и квантилями – 21,1 мг/л и 3-92,83 мг/л), достоверно превышающие показатели здоровых доноров (1,0 мг/л и (0,8-1,5) мг/л соответственно при $p < 0,01$) (табл. 2).

Полученные результаты особенностей лейкоцитограммы и биомаркеров воспаления в динамике заболевания зафиксировали достоверные изменения.

В литературных источниках представлена информация о том, что при заболевании, вызванном COVID-19, происходят изменения клинико-иммунологических показателей, степень которых коррелирует с тяжестью течения инфекции.

В исследованиях Р.Ю. Абдуллаева и соавт. (2020) и W. Guan и соавт. (2020) у 1099 пациентов с инфекцией, вызванной COVID-19, зафиксировали лейкоцитоз у 4,8% больных с легким течением болезни и у 11,4% – с тяжелым, а лейкопению в 28,1% и 61,1% случаев соответственно при лимфопении в обеих группах в 80,4 и 96,1% случаев соответственно [1, 11].

Y. Liu и соавт. (2020), при обследовании взрослых и детей с инфекцией COVID-19, выявляли лимфопению в 75% случаев, в зависимости от течения болезни [14].

W. Guan и соавт. (2020) обнаружили, что уровень С-реактивного белка повышался > 10 мг/л у 56,4% пациентов при легком течении и у 81,5 – при тяжелом течении процесса [5, 11].

По данным Y. Liu и соавт. (2020), было обнаружено, что при инфекции COVID-19 ускорение скорости оседания эритроцитов встречалась в

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕЙКОЦИТОГРАММЫ ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ COVID-19, В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ (АБСОЛЮТНОЕ ЧИСЛО КЛЕТОК В $M \pm m \times 10^9/\text{л}$)

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF THE LEUKOCYTOGRAM OF PATIENTS WITH CORONAVIRUS INFECTION CAUSED BY COVID-19 IN DIFFERENT PERIODS OF THE DISEASE (ABSOLUTE NUMBER OF CELLS IN $M \pm m \times 10^9/\text{l}$)

Клеточный спектр лейкоцитограммы Cell spectrum of the leukocytogram	Период заболевания Period of the disease			
	Период выраженных клинических проявлений Period of pronounced clinical manifestations	Период угасания клинических проявлений Period of extinction of clinical manifestations	Период реконвалесценции Period of convalescence	Группа сравнения (здоровые доноры) Comparison group (healthy donors)
Лейкоциты White blood cells	$6,95 \pm 0,77$	$8,21 \pm 0,62$	$6,35 \pm 0,35$	$6,35 \pm 0,10$
Нейтрофилы Neutrophils	$5,44 \pm 0,86$	$5,17 \pm 0,66$	$3,30 \pm 0,25$	$3,50 \pm 0,40$
Лимфоциты Lymphocytes	$1,31 \pm 0,09$	$1,84 \pm 0,18$	$2,40 \pm 0,15$	$2,60 \pm 0,10$
Моноциты Monocytes	$0,50 \pm 0,08$	$0,55 \pm 0,09$	$0,51 \pm 0,05$	$0,35 \pm 0,02$
Эозинофилы Eosinophils	$0,07 \pm 0,02$	$0,09 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,04$	$0,20 \pm 0,02$
Базофилы Basophils	$0,010 \pm 0,001$	$0,020 \pm 0,001$	$0,130 \pm 0,020$	$0,014 \pm 0,001$

ТАБЛИЦА 2. УРОВНИ БИОМАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ (СОЭ, СРБ) У ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ COVID-19, В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. LEVELS OF INFLAMMATORY BIOMARKERS (ESR, CRP) IN PATIENTS WITH COVID-19 CORONAVIRUS INFECTION DURING VARIOUS PERIODS OF THE DISEASE, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели, единицы Indicators, units	Период заболевания Period of the disease			Группа сравнения (здоровые доноры) Comparison group (healthy donors)
	Период выраженных клинических проявлений Period of pronounced clinical manifestations	Период разрешения клинических проявлений Period of resolution of clinical manifestations	Период реконвалесценции Period of reconvalescence	
СРБ (мг/л) CRP (mg/l)	30,90 (17,75-86,50)	10,55 (6,85-25,13)	3,00 (2,00-5,00)	1,00 (0,80-1,50)
СОЭ (мм/ч) ESR (mm/h)	6,00 (4,00-8,25)	35,50 (23,25-42,00)	36,00 (20,50-45,00)	6,00 (4,00-8,25)

85% случаев. Из биохимических анализов крови частота повышения значения СРБ наблюдалась в 93% случаев [1, 4, 14].

Достоверная разница отмечена между показателями СРБ у пациентов в период угасания клинических проявлений и показателями СРБ у пациентов в период реконвалесценции 10,55 мг/л (6,85-25,13) мг/л и 3 мг/л (2,0-5,0) мг/л соответственно ($p < 0,01$) (табл. 2).

Продукция цитокинов, генерируемая антигенпрезентирующими клетками обуславливает общую адаптивную реакцию, а активация цитотоксических Т-клеток приводит к элиминации вируса из организма [10, 11, 15].

В исследуемой группе показатель медианы $IFN\gamma$ составил 0,19 пг/мл, с границами нижнего квартиля 0,18 пг/мл, верхнего квартиля 0,36 пг/мл, что достоверно ниже показателей здоровых добровольцев, проживающих в Приморском крае. Дефицит содержания $IFN\gamma$ в сыворотке крови ($p < 0,05$) выявлен у всех пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19 в не зависимости от степени поражения легочной паренхимы и тяжести клинического течения болезни. Медиана содержания $TNF\alpha$ в сыворотке крови пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, фиксировалась на уровне 0,79 пг/мл, с границами нижнего квартиля 0,34 пг/мл, верхнего квартиля 1,85 пг/мл, при отсутствии значимых различий от степени тяжести и периода болезни.

В период реконвалесценции содержание IL-6 в сыворотке крови у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, вызванную COVID-19, было в пределах значений здоровых добровольцев.

Корреляционный анализ клинико-иммунологических показателей с объемом поражения

легочной паренхимы у пациентов с коронавирусной инфекцией, вызванной COVID-19, выявил разнонаправленные по структуре, силе и направленности взаимосвязи: прямая средней силы с СРБ ($r = 0,53$; $p < 0,01$); обратная средней силы с абсолютным числом лимфоцитов ($r = -0,63$; $p < 0,001$); прямая умеренной силы с абсолютным числом нейтрофилов ($r = -0,35$; $p < 0,05$). Комплекс клинико-лабораторных исследований является определяющим в оценке тяжести течения заболевания, персонализации терапии и определении прогноза исхода заболевания [1, 2, 6]. При COVID-19 в спектре биомаркеров воспаления особое место принадлежит С – реактивному белку [2, 6, 7]. Его повышение коррелирует с объемом поражения легочной ткани, а у большинства пациентов высокая концентрация СРБ прослеживалась с увеличением скорости оседания эритроцитов (СОЭ) [6, 7].

Проведенные исследования иммунокомпетентных клеток периферической крови пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, определили дефицит общего числа Т-лимфоцитов, незначительные изменения содержания Т-хелперов ($CD3^+CD4^+CD8^-$) с удельным весом $39,36 \pm 1,67\%$ ($M \pm m$), в абсолютном количестве – $1042,00 \pm 111,69$ кл/мкл ($M \pm m$); значимое снижение показателей Т-цитотоксических ($CD3^+CD4^-CD8^+$) с корреляцией по тяжести течения болезни. При средней тяжести клиническом течении болезни удельный вес Т-цитотоксических лимфоцитов составил $19,55 \pm 3,94\%$ ($M \pm m$), в абсолютном количестве – $440,00 \pm 83,88$ кл/мкл ($M \pm m$). У этих пациентов коронавирусная инфекция протекала в среднетяжелой форме и степень поражения легочной паренхимы не превышала 50%. У пациентов с тяжелым течением болезни выявлено снижение относительного содержания

Т-цитотоксических лимфоцитов до 14% и дефицит абсолютного числа клеток данной популяции. У пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением болезни, вызванной SARS-CoV-2, выявлено низкое содержание Т-цитотоксических лимфоцитов, с более низкими показателями при утяжелении патологического процесса и поражением паренхимы легких более 75%.

У пациентов с коронавирусной инфекцией, вызванной COVID-19, в период реконвалесценции сохраняется низкое содержание в сыворотке крови $IFN\gamma$, отмечается дисбаланс регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов за счет снижения числа $CD3^+CD4^+CD8^-$ -клеток при сохранении обеспеченности $CD3^+CD4^+CD8^-$ -клеток на уровне здоровых.

Проведенные исследования выявили: особенности динамики биомаркеров воспаления в различные периоды болезни, стойкие изменения количественных и качественных характеристик иммунокомпетентных клеток и показателей цитокинов, корреляции иммунологических показателей и тяжести клинического течения и степени поражения легочной паренхимы. У пациентов с тяжелым течением заболевания в период выраженных клинических проявлений отмечена лейкопения с низким удельным весом лимфоцитов и длительное сохранение высоких показателей биомаркеров воспаления (СРБ, СОЭ), включая

ранний период реконвалесценции. Уровень и динамика антител класса IgG и класса IgM к SARS-CoV-2 различались в зависимости от тяжести клинического течения и длительности периода реконвалесценции. В период реконвалесценции сохранялось в сыворотке крови низкое содержание $IFN\gamma$, при показателях $TNF\alpha$ и IL-6 в пределах референсных значений и отмечен дисбаланс регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов за счет снижения числа $CD3^+CD4^+CD8^-$ -клеток при сохранении обеспеченности $CD3^+CD4^+CD8^-$ -клеток на уровне здоровых. Зафиксированы обратная корреляция содержания в сыворотке крови антител класса M к SARS-CoV-2, прямая слабая зависимость уровня антител класса G к SARS-CoV-2 и продолжительности периода реконвалесценции.

Заключение

Выявленные особенности динамики биомаркеров воспаления, разнонаправленные изменения и дисбаланс структурно-функциональных показателей иммунокомпетентных клеток и цитокинов на протяжении всех периодов болезни, включая период реконвалесценции инфекции, вызванной COVID-19, обуславливают актуальность исследования данных показателей с целью поиска точек применения патогенетической и иммунотропной терапии.

Список литературы / References

1. Абдуллаев Р.Ю., Комиссарова О.Г. Изменения маркеров гематологического, биохимического и коагулологического анализов крови при новой коронавирусной инфекции COVID-19 // *Consilium medicum*, 2020. Т. 22, № 11. С. 51-55. [Abdullaev R.Yu., Komissarova O.G. Changes in markers of hematological, biochemical and coagulological blood tests in a new coronavirus infection COVID-19. *Consilium Medicum*, 2020, Vol. 22, no. 11, pp. 51-55. (In Russ.)]
2. Амвросьева Т.В., Поклонская Н.В. SARS-CoV 2: лабораторная диагностика // *Наука и инновации*, 2020. № 7. С. 22-27. [Amvrosyeva T.V., Poklonskaya N.V. SARS-CoV 2: laboratory diagnostics. *Nauka i innovatsii = Science and Innovations*, 2020, no. 7, pp. 22-27. (In Russ.)]
3. Баклаушев В.П., Кулемзин С.В., Горчаков А.А. COVID-19. Этиология, патогенез, диагностика и лечение // *Клиническая практика*, 2020. Т. 11. № 1. С. 7-2. [Baklaushev V.P., Kulemzin S.V., Gorchakov A.A. COVID-19. Etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Klinicheskaya praktika = Clinical Practice*, 2020, Vol. 11, no. 1, pp. 2-7. (In Russ.)]
4. Бугоркова С.А. Некоторые аспекты формирования иммунного ответа у пациентов с COVID-19. COVID19-PREPRINTS.MICROBE.RU. 2020. [Bugorkova S.A. Some aspects of the formation of the immune response in patients with COVID-19. COVID19-PREPRINTS.MICROBE.RU. 2020. doi: 10.21055/preprints-3111717.]
5. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 11 (07.05.2021). 224 с. [Temporary methodological recommendations. Prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection (COVID-19). Version 11 (07.05.2021). 224 p.]
6. Елеукина А.А., Коржумбаев А.Н., Акшалов А.Р. Изменение С-реактивного белка в сыворотке крови при коронавирусной и бактериальной пневмонии // *Тенденции развития науки и образования*, 2021. № 74-1. С. 43-48. [Eleukina A.A., Korzhumbaev A.N., Akshalov A.R. Changes in C-reactive protein in blood serum in coronavirus and bacterial pneumonia. *Tendentsii razvitiya nauki i obrazovaniya = Trends in the Development of Science and Education*, 2021, no. 74-1, pp. 43-48. (In Russ.)]
7. Климов Н.А., Симбирцев А.С. COVID-19: особенности патогенеза заболевания и мишени для иммунотерапевтического воздействия // *Медицинский академический журнал*, 2020. Т. 20, № 3. С. 75-88.

[Klimov N.A., Simbirtsev A.S. COVID-19: features of the pathogenesis of the disease and targets for immunotherapy. *Meditsinskiy akademicheskii zhurnal = Medical Academic Journal*, 2020, Vol. 20, no. 3, pp. 75-88. (In Russ.)]

8. Пашенков М.В., Хаитов М.Р. Иммуный ответ против эпидемических коронавирусов // Иммунология, 2020. Т. 41, № 1. С. 5-18. [Paschenkov M.V., Khaitov M.R. Immune response against epidemic coronaviruses. *Immunologiya = Immunologiya*, 2020, Vol. 41, no. 1, pp. 5-18. (In Russ.)]

9. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8, № 4. С. 974-992. [Khaydukov S.V., Baidun L.A., Zurochka A.V., Totolian A.A. Standardized technology "Study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorimeters-analyzers". *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, Vol. 8, no. 4, pp. 974-992. (In Russ.)]

10. Garcia L.F. Immuneresponse, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. *Front. Immunol.*, 2020, no. 11, 1441. doi: 10.3389/fimmu.2020.01441.

11. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y. China Medical Treatment Expert Group for COVID-19. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.*, 2020, Vol. 382, no. 18, pp. 1708-1720.

12. Hou H., Wang T., Zhang B., Luo Y., Mao L., Wang F. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *Clin. Transl. Immunol.*, 2020, Vol. 9, no. 5, e01136. doi: 10.1002/cti2.1136.

13. Leisman D.E., Ronner L., Pinotti R. Cytokine elevation in severe and critical COVID-19: a rapid systematic review, metaanalysis, and comparison with other inflammatory syndromes. *Lancet Respir. Med.*, 2020, Vol. 8, Iss. 12, pp. 1233-1244.

14. Liu Y. C., Yang Y., Zhang C. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci. China Life Sci.*, 2020, Vol. 63, no. 3, pp. 364-374.

15. Remy K.E., Mazer M., Striker D.A. Severe immunosuppression and not a cytokine storm characterizes COVID-19 infections. *JCI Insight*, 2020, Vol. 5, Iss. 17, pp. 1-15.

Авторы:

Ситдикова Т.С. — к.м.н., врач — аллерголог-иммунолог, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заведующая отделением КГБУЗ «Владивостокская поликлиника № 3», г. Владивосток, Россия

Кабиева А.А. — главный врач КГБУЗ «Владивостокская поликлиника № 3»; главный внештатный специалист Министерства здравоохранения Приморского края по медицинской профилактике, г. Владивосток, Россия

Просекова Е.В. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

Authors:

Siddikova T.S., PhD (Medicine), Allergologist and Clinical Immunologist, Assistant Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, General and Clinical Immunology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation; Head, City Polyclinic No. 3, Vladivostok, Russian Federation

Kabieva A.A., Chief Physician, City Polyclinic No. 3; Chief Regional Specialist for Medical Prevention, Vladivostok, Russian Federation

Prosekova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Clinical Laboratory Diagnostics and General and Clinical Immunology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 15.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 15.07.2021
Accepted 20.08.2021