

ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЕЙ МОЛЕКУЛ ТРЕС И КРЕС В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ДЛЯ ПРОГНОЗА ИСХОДА ЗАБОЛЕВАНИЯ COVID-19 В ОСТРЫЙ ПЕРИОД

Сайтгалина М.А.¹, Останкова Ю.В.¹, Арсентьева Н.Е.¹,
Коробова З.Р.^{1,4}, Любимова Н.Е.¹, Кащенко В.А.^{2,3}, Куликов А.Н.⁴,
Певцов Д.Э.⁴, Станевич О.В.^{4,5}, Черных Е.И.², Тотолян Арег А.^{1,4}

¹ ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ «Северо-Западный окружной научно-клинический центр имени Л.Г. Соколова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁵ ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Заболевание, вызываемое высококонтагиозным вирусом SARS-CoV-2, — «новая коронавирусная инфекция (COVID-19)» — на конец декабря 2022 года привело к смерти более 6,5 млн человек. Тяжесть проявления инфекционного процесса варьирует от бессимптомных форм до быстрого прогрессирования в жизнеугрожающие состояния, требующие экстренных мер. Одним из факторов, выраженность которых влияет на исход заболевания, является лимфопения, причиной которой может быть нарушение лимфопоэза. Выявление лабораторных маркеров высокого риска смертности больных с COVID-19 играет важную роль для совершенствования алгоритмов оказания помощи пациентам и повышения их выживаемости. В качестве молекулярных маркеров степени выраженности Т- и В-лимфопений могут служить уровни молекул ТРЕС и КРЕС в периферической крови соответственно. Целью нашей работы был сравнительный анализ уровней молекул ТРЕС и КРЕС в периферической крови выживших и умерших больных COVID-19. Материалом служили образцы цельной крови, полученные от 1745 человек, в том числе: 1028 больных с диагнозом «новая коронавирусная инфекция (COVID-19)» (код по МКБ-10 — U07.1), из которых 937 пациентов выздоровели и 91 умер; 717 условно здоровых лиц (контрольная группа). Оценку уровней молекул ТРЕС и КРЕС

Адрес для переписки:

Сайтгалина Мария Александровна
ФБУН «Санкт-Петербургский
научно-исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера»
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.
Тел.: 8 (981) 834-66-32.
E-mail: sajgalinam@mail.ru

Address for correspondence:

Maria A. Saitgalina
Saint Petersburg Pasteur Institute
14 Mira St
St. Petersburg
197101 Russian Federation
Phone: +7 (981) 834-66-32.
E-mail: sajgalinam@mail.ru

Образец цитирования:

М.А. Сайтгалина, Ю.В. Останкова, Н.Е. Арсентьева,
З.Р. Коробова, Н.Е. Любимова, В.А. Кащенко,
А.Н. Куликов, Д.Э. Певцов, О.В. Станевич,
Е.И. Черных, Арег А. Тотолян «Значимость определения
уровней молекул ТРЕС и КРЕС в периферической крови
для прогноза исхода заболевания COVID-19 в острый
период» // Российский иммунологический журнал, 2023.
Т. 26, № 4. С. 611-618.

doi: 10.46235/1028-7221-14714-LOT

© Сайтгалина М.А. и соавт., 2023

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

M.A. Saitgalina, Yu.V. Ostantkova, N.A. Arsentieva,
Z.R. Korobova, N.E. Liubimova, V.A. Kashchenko,
A.N. Kulikov, D.E. Pevitsov, O.V. Stanevich, E.I. Chernykh,
Areg A. Totolian “Levels of TREC and KREC molecules
significance determining in peripheral blood for predicting
the outcome of COVID-19 disease in the acute period”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 4, pp. 611-618.

doi: 10.46235/1028-7221-14714-LOT

© Saitgalina M.A. et al., 2023

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-14714-LOT

проводили методом количественной мультиплексной Real-time ПЦР с использованием набора реагентов «TREC/KREC-AMP PS» (ФБУН НИИ Пастера, СПб). Установлены статистически значимые различия уровней молекул KREC и TREC между контрольной группой и пациентами, как выжившими, так и умершими. Показано достоверное снижение медианных значений концентраций молекул KREC у пациентов с летальным исходом по сравнению с выжившими ($p = 0,0019$, 95% ДИ). Среди умерших пациентов в 63,7% случаев уровни молекул TREC или KREC были снижены относительно соответствующих возрастных норм. Из них в 20,9% случаев у пациентов были снижены оба анализа. При оценке методом анализа ROC-кривых диагностической значимости уровней исследуемых анализов для прогнозирования исхода заболевания, величина площади под кривой AUC для KREC составила $0,63 \pm 0,029$, что свидетельствует о средней силе прогностической модели наступления смерти пациента в зависимости от уровня KREC в крови. Построенная модель является статистически значимой ($p = 0,002$). Мониторинг лабораторных показателей пациентов с COVID-19, в том числе умерших, позволяет определять прогностические факторы, являющиеся наиболее существенными для оценки исхода заболевания. Построенная на базе оценки уровня KREC прогностическая модель с высокой специфичностью отражает риск наступления летального исхода у больных COVID-19. Таким образом, количественное определение уровня молекул KREC в периферической крови можно отнести к методам превентивной персонализированной диагностики, направленной на повышение выживаемости больных.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, исход заболевания, TREC, KREC, лабораторная диагностика, прогностические маркеры

LEVELS OF TREC AND KREC MOLECULES SIGNIFICANCE DETERMINING IN PERIPHERAL BLOOD FOR PREDICTING THE OUTCOME OF COVID-19 DISEASE IN THE ACUTE PERIOD

Saitgalina M.A.^a, Ostankova Yu.V.^a, Arsentieva N.A.^a, Korobova Z.R.^{a, d}, Liubimova N.E.^a, Kashchenko V.A.^{b, c}, Kulikov A.N.^d, Pevtsov D.E.^d, Stanevich O.V.^{d, e}, Chernykh E.I.^b, Totolian Areg A.^{a, d}

^a Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^b L. Sokolov North-Western District Scientific and Clinical Center, Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

^c St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

^d First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^e A. Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The disease caused by the highly contagious SARS-CoV-2 virus – “novel coronavirus infection (COVID-19)” – had killed more than 6.5 million people at the end of December 2022. The severity of the manifestation of the infectious process varies from asymptomatic forms to rapid progression to life-threatening conditions requiring emergency measures. One of the factors, the severity of which affects the outcome of the disease, is lymphopenia, the cause of which may be a violation of lymphopoiesis. The identification of laboratory markers of a high risk of mortality in patients with COVID-19 plays an important role in improving patient care algorithms and increasing their survival. Levels of TREC and KREC molecules in peripheral blood, respectively, can serve as molecular markers of the severity of T and B lymphopenias. The aim of our work was a comparative analysis of the levels of TREC and KREC molecules in the peripheral blood of surviving and deceased patients with COVID-19. The material was whole blood samples obtained from 1745 people, including: 1028 patients diagnosed with novel coronavirus infection (COVID-19) (ICD-10 code – U07.1), of which 937 patients recovered and 91 died; 717 apparently healthy individuals (control group). The levels of TREC and KREC molecules were assessed by quantitative multiplex Real-time PCR using the TREC/KREC-AMP PS reagent kit (Federal Scientific Research Institute Pasteur, St. Petersburg). Statistically significant differences in the levels of KREC and TREC molecules between the control group and patients, both surviving and deceased, were established. A significant decrease in median concentrations of KREC molecules was shown in patients with a lethal outcome compared with survivors ($p = 0.0019$, 95% CI). Among the deceased patients, in 63.7%

of cases, the levels of TREC or KREC molecules were reduced relative to the corresponding age norms. Of these, in 20.9% of cases, both analytes were reduced in patients. When assessing the diagnostic significance of the levels of the analytes under study for predicting the outcome of the disease, the area under the AUC curve for KREC was 0.63 ± 0.029 , which indicates the average strength of the prognostic model of the patient's death depending on the level of KREC in the blood. The constructed model is statistically significant ($p = 0.002$). Monitoring laboratory parameters of patients with COVID-19, including those who died, allows you to determine the prognostic factors that are most significant for assessing the outcome of the disease. Based on the assessment of the KREC level, a predictive model with high specificity reflects the risk of death in patients with COVID-19. Thus, the quantitative determination of the level of KREC molecules in the peripheral blood can be attributed to the methods of preventive personalized diagnostics aimed at improving the survival of patients.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, disease outcome, TREC, KREC, laboratory diagnostics, predictive markers

Введение

С момента регистрации первого случая заражения человека новым бета-коронавирусом SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) в декабре 2019 года всего за один год число заразившихся превысило 93 млн человек [8]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, количество связанных с инфекцией смертей на декабрь 2022 года по всему миру превысило шесть с половиной миллионов человек. В Российской Федерации это число приближается к отметке четыреста тысяч человек.

Заболевание, вызываемое вирусом SARS-CoV-2 – «новая коронавирусная инфекция (COVID-19)» (код по МКБ-10 – U07.1), – сопровождается развитием у инфицированных гриппоподобных симптомов, наиболее общими из которых являются лихорадка, кашель, одышка, боль в горле, головная боль, повышенная утомляемость, конъюнктивит и желудочно-кишечные расстройства. Инфекционный процесс может сопровождаться развитием тяжелых состояний, вызванных интерстициальными пневмониями, острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС), полиорганной и острой дыхательной недостаточностью, что в некоторых случаях приводит к смерти пациентов [9].

Тяжесть проявления инфекционного процесса варьирует от бессимптомных форм до быстрого прогрессирования в жизнеугрожающие состояния, требующие экстренных мер. К факторам риска развития осложнений и летальных исходов относят возраст старше 65 лет, сопутствующие хронические легочные и сердечно-сосудистые заболевания, гипертонию, сахарный диабет [13, 15].

По литературным данным уровень смертности от заражения SARS-CoV-2 составляет 2-5%. Этот показатель меньше, чем для других бета-коронавирусов (SARS-CoV – 10%, MERS-CoV – 35%). Однако высокая контагиозность SARS-CoV-2 (индекс репродукции SARS-CoV-2 составляет 2,5-2,9), наряду с системным негативным влиянием инфекции на организм, обуславливают быстрое распространение и большое количество смертей, вызванных COVID-19 [6, 12].

Выявление лабораторных маркеров высокого риска смертности больных с COVID-19 играет важную роль для совершенствования алгоритмов оказания помощи тяжелым пациентам и повышения их выживаемости. Известно, что вирус SARS-CoV-2 способен нарушать лимфопоэз, поражать лимфоциты и усиливать их апоптоз, вызывая лимфопению. Выраженность лимфопении является одним из факторов, влияющих на прогноз исхода заболевания [8].

В качестве молекулярных маркеров степени выраженности Т- и В-лимфопений могут служить уровни в периферической крови небольших молекул кольцевой ДНК Т-рецепторных эксцизионных колец (англ. T cell receptor excision circles – TREC) и каппа-делеционных рекомбинационных эксцизионных колец (англ. kappa-deleting recombination excision circles – KREC) соответственно. Формирование молекул TREC и KREC происходит на определенных стадиях дифференцировки предшественников Т-лимфоцитов в тимусе и В-лимфоцитов в костном мозге путем инициации процессов генетических перестроек и рекомбинаций нуклеотидных последовательностей, кодирующих рецепторный аппарат лимфоцитарных клеток. В ходе таких реаранжировок часть генетического материала вырезается из генома как побочный продукт, при этом вырезанная нуклеотидная последовательность замыкается в кольцо. Такие кольца называют эксцизионными кольцами: Т-клеточными – TREC и В-клеточными – KREC. Эксцизионные кольца TREC и KREC в дальнейшем существует в той лимфоцитарной клетке, в которой они были сформированы, и не реплицируется с дальнейшей пролиферацией лимфоцита при его активации антигеном [10, 11].

Исходя из вышесказанного, уровни молекул TREC и KREC можно рассматривать как количественный маркер созревающих в центральных лимфоидных органах недифференцированных Т- и В-клеток соответственно, а также наивных Т- и В-лимфоцитов, вышедших на периферию.

Цель работы – сравнительный анализ уровней молекул TREC и KREC в периферической крови выживших и умерших больных COVID-19.

Материалы и методы

Материалом служили образцы цельной крови, полученные от 1745 человек, в том числе: 1028 больных с диагнозом «новая коронавирусная инфекция (COVID-19)» (код по МКБ-10 – U07.1), из которых 937 пациентов выздоровели и 91 умер; 717 условно здоровых лиц (контрольная группа). Критерием исключения являлось наличие у обследуемых диагноза иммунодефицит любого генеза, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусные гепатиты. Образцы крови больных были получены от пациентов с подтвержденным диагнозом «новая коронавирусная инфекция (COVID-19)», наблюдавшихся в инфекционных отделениях Клинической больницы №122 им. Л.Г. Соколова и Университетской клиники Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова. В работу брали образцы крови, полученные от больных, инфицированных в период с мая 2021 года по март 2022 года. В качестве контрольных использовали образцы цельной крови, полученные от условно здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 108 лет в медицинском центре ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» в рамках программы оценки популяционного иммунитета жителей Санкт-Петербурга.

Все процедуры соответствовали этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. Дизайн исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера». Исследования проводили при письменном согласии пациентов.

Взятие крови осуществляли в пробирку с антикоагулянтом ЭДТА. Экстракцию тотальной ДНК из лейкоцитарной фракции венозной периферической крови проводили с использованием набора «РИБО-преп» (ЦНИИ Эпидемиологии, Москва). Для оценки уровней молекул TREC и KREC со всеми образцами тотальной ДНК проводили количественную мультиплексную Real-time ПЦР – набор реагентов «TREC/KREC-AMP PS» (ФБУН НИИ Пастера, СПб). В одной пробирке одновременно амплифицировали фрагменты последовательностей TREC, KREC, а также фрагменты генов HPRT и RPP30, которые были выбраны в качестве нормировочных генов. Для количественной оценки в каждом запуске ПЦР амплифицировали серию из пяти калибраторов с известной концентрацией перечисленных выше генетических фрагментов [2].

Статистическую обработку данных проводили с применением пакетов программного обеспечения GraphPad Prizm 5, StatTech и Microsoft

Excel 2010. Нормальность распределения полученных данных оценивали согласно критерию Колмогорова–Смирнова. Сравнительный анализ независимых выборок пациентов проводили с использованием критериев Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса и ROC-анализа.

Результаты и обсуждение

Статистический анализ с применением критерия Манна–Уитни показал достоверное снижение медианных значений концентраций молекул KREC у пациентов с летальным исходом по сравнению с выжившими ($p = 0,0019$, 95% ДИ). Достоверные различия уровней молекул TREC между выборками умерших и выздоровевших отсутствуют ($p = 0,3289$, 95% ДИ). При этом установлены статистически значимые различия уровней как молекул KREC, так и молекул TREC между контрольной группой и пациентами, как выжившими, так и умершими ($p < 0,0001$, 95% ДИ) (рис. 1, 2).

Среди умерших пациентов в 63,7% (95% ДИ: 52,99–73,56%) случаев уровни молекул TREC/KREC были снижены относительно соответствующих возрастных норм [3]. Из них в 20,9% (95% ДИ: 13,06–30,67%) случаев у пациентов были одновременно снижены и TREC, и KREC. При этом абсолютное количество лимфоцитов пациентов со сниженными TREC/KREC также находилось ниже границы нормы.

Для оценки диагностической значимости уровня молекул KREC при прогнозировании исхода заболевания, применяли метод анализа ROC-кривых (рис. 3).

Величина параметра площадь под кривой AUC (area under the curve) составила $0,63 \pm 0,029$ с 95% ДИ: 0,541–0,656, что говорит о средней силе прогностической модели наступления смерти пациента в зависимости от уровня KREC в крови. Построенная модель является статистически значимой ($p = 0,002$).

Пороговое значение уровня KREC (точку cutoff) определяли по наивысшему значению индекса Юдена. Индекс Юдена отражает разницу между долей истинно положительных и долей ложноположительных результатов. Диагностический метод характеризуется наибольшей точностью при наибольшей разнице между этими величинами. Пороговое значение KREC, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 14,55 копий/ 10^5 клеток. Построенная модель прогнозирует наступление летального исхода пациента при значении уровня KREC в крови ниже данной величины. Чувствительность и специфичность модели при этом составили 28,6% и 92,0% соответственно. Высокий показатель специфичности указывает на то, что пациенты с уровнем KREC выше значения 14,55 копий/ 10^5 клеток находятся вне зоны риска летального исхода с вероятностью 92,0%. Низкая

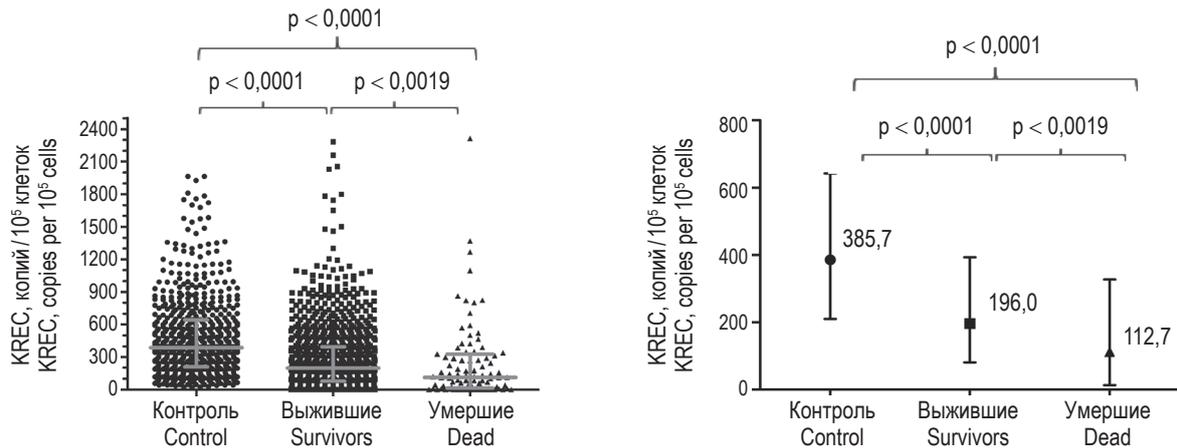


Рисунок 1. Сравнение уровней молекул KREC между группами здоровых, выжившими и умершими пациентами после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19

Примечание. Указаны медианные значения с интерквартильным размахом.

Figure 1. Comparison of KREC levels between groups of healthy, surviving and deceased patients after the novel coronavirus infection COVID-19

Note. Median values are indicated with an interquartile range.

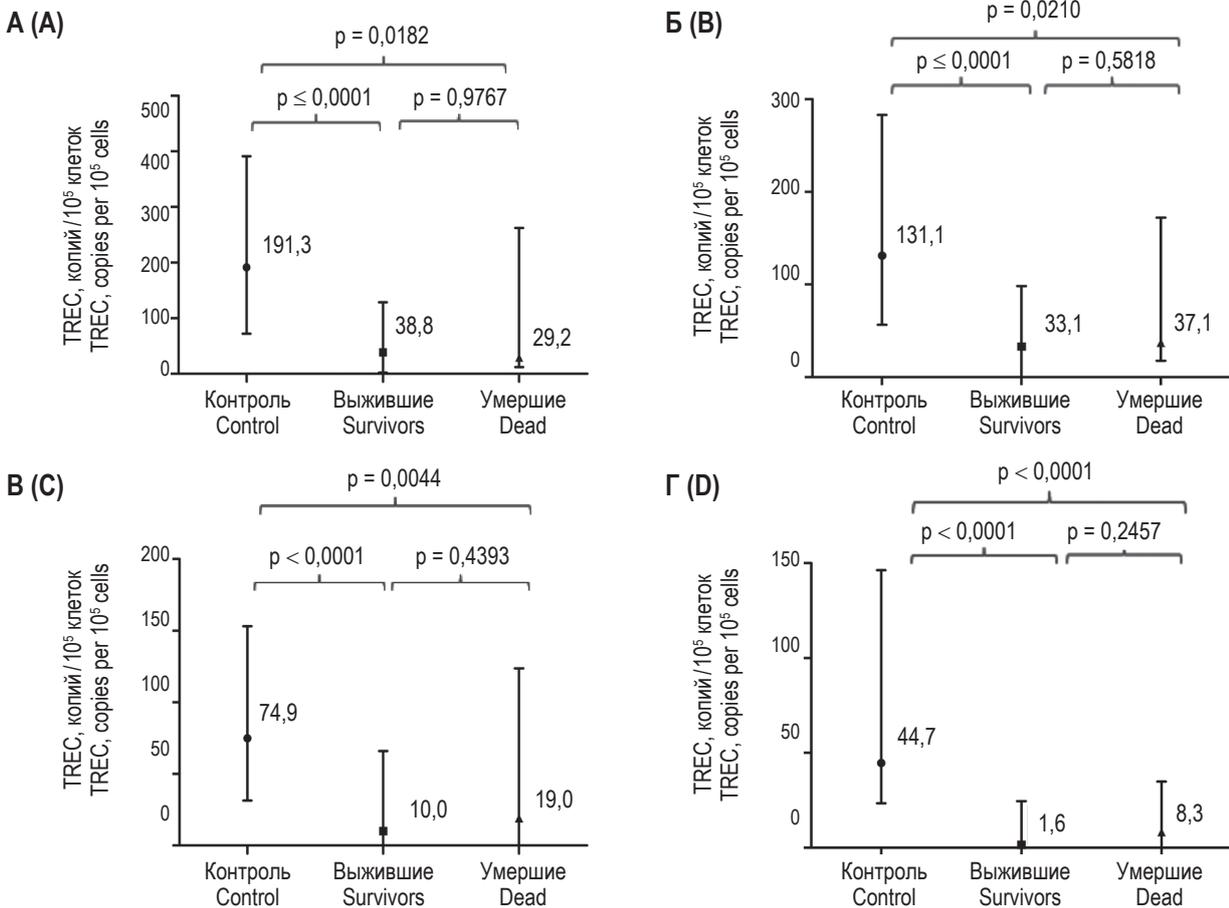


Рисунок 2. Сравнение уровней молекул TREC между группами контроля, выжившими и умершими пациентами после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19

Примечание. А – в возрасте 40-49 лет; Б – в возрасте 50-59 лет; В – в возрасте 60-69 лет; Г – старше 70 лет. Указаны медианные значения с интерквартильным размахом.

Figure 2. Comparison of TREC levels between control groups, surviving and deceased patients after the novel coronavirus infection COVID-19

Note. A, at the age of 40-49 years; B, at the age of 50-59 years; C, at the age of 60-69 years; D, over 70 years old. Median values are indicated with an interquartile range.

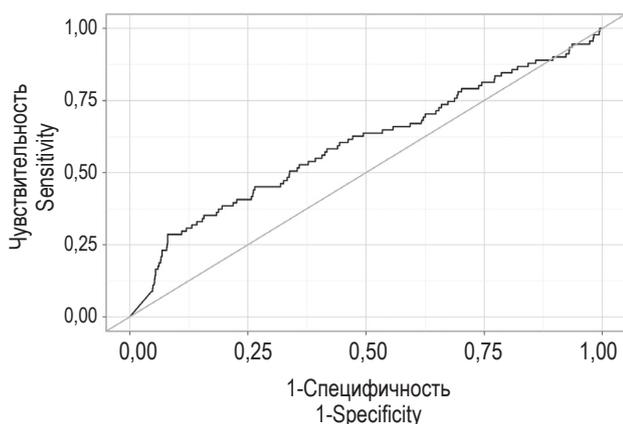


Рисунок 3. ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности наступления летального исхода пациента от уровня KREC

Figure 3. ROC-curve, showing the probability of death depends on the KREC levels

чувствительность диагностического метода может быть связана с тем, что наступление смерти обусловлено множеством факторов и не может быть спрогнозировано, исходя из одного параметра.

Прогностическая модель летального исхода, построенная с применением ROC-анализа по параметру TREC, не является статистически значимой. Площадь под ROC-кривой составила $0,53 \pm 0,031$ с 95% ДИ: 0,470-0,592, $p = 0,329$.

По данным литературы, в случаях со смертельным исходом больных, тяжело переносящих новую коронавирусную инфекцию COVID-19, в их крови наблюдали значительные отклонения в ряде иммунологических и биохимических параметров. У большинства таких пациентов наблюдали лимфопению, лейкопению, повышенные уровни ряда провоспалительных цитокинов, хемокинов, ростовых факторов и противовоспалительных цитокинов, С-реактивного белка, лактатдегидрогеназы, D-димера, АСТ, АЛТ, прокальцитонина и общего билирубина [1, 5, 14].

Учитывая значимые различия в содержании молекул TREC и KREC у умерших и выживших пациентов по сравнению с контролем, можно судить о нарушениях в процессах созревания как

T-, так и В-лимфоцитов при тяжелом течении инфекции COVID-19. Достоверное снижение молекул KREC в крови пациентов с летальным исходом по сравнению с выжившими говорит о более выраженных нарушениях в процессах дифференцировки В-лимфоцитов в костном мозге, что может быть одним из факторов, влияющих на исход заболевания.

Для построения релевантной прогностической модели летального исхода необходимо учитывать комплекс лабораторных показателей с применением инструментов многомерной статистики, в частности, с использованием уравнения логистической регрессии. Особое внимание при этом должно быть уделено уровням иммунологических биомаркеров, поскольку иммунопатология считается основным фактором смертности при COVID-19 [1, 4, 7].

Заключение

Мониторинг лабораторных показателей пациентов с крайне тяжелым проявлением новой коронавирусной инфекции COVID-19, в том числе умерших, позволяет определять прогностические факторы, являющиеся наиболее существенными для оценки исхода заболевания. Нарушения в дифференцировке новых клеток лимфоцитарного ряда в центральных лимфоидных органах могут влиять на развитие осложнений, вызванных COVID-19 и повышать вероятность смертельного исхода. Определение уровней молекул TREC и KREC, описанных в настоящей работе, помогает своевременно выявить и оценить такие нарушения. Согласно полученным нами результатам, построенная на базе оценки уровня молекул KREC прогностическая модель с высокой специфичностью отражает риск наступления летального исхода у больных COVID-19. Детекция ошибок в процессах лимфопоэза на фоне плохой клинической картины и искажения других предиктивных лабораторных маркеров способствует выявлению пациентов с повышенным риском летального исхода и помогает вовремя назначить таким пациентам специализированное лечение. Таким образом, количественную оценку уровня KREC можно отнести к методам превентивной персонализированной диагностики, направленной на повышение выживаемости больных.

Список литературы / References

1. Арсентьева Н.А., Любимова Н.Е., Бацунов О.К., Коробова З.Р., Кузнецова Р.Н., Рубинштейн А.А., Станевич О.В., Лебедева А.А., Воробьев Е.А., Воробьева С.В., Куликов А.Н., Гаврилова Е.Г., Певцов Д.Э., Полушин Ю.С., Шлык И.В., Тотолян Арег А. Прогнозная значимость специфических цитокинов в отношении летального исхода COVID-19 // *Инфекция и иммунитет*, 2022. Т. 12, № 5. С. 859-868. [Arsentieva N.A., Liubimova N.E., Batsunov O.K., Korobova Z.R., Kuznetsova R.N., Rubinstein A.A., Stanevich O.V., Lebedeva A.A., Vorobyov E.A., Vorobyova S.V., Kulikov A.N., Gavrilova E.G., Pevtsov D.E., Polushin Yu.S., Shlyk I.V. Totolian Areg A. Predictive value of specific cytokines for lethal COVID-19 outcome. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, Vol. 12, no. 5, pp. 859-868. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-PVO-2043.
2. Сайтгалина М.А., Останкова Ю.В., Любимова Н.Е., Семенов А.В., Кузнецова Р.Н., Тотолян Арег А. Модифицированный метод количественного определения уровней TREC и KREC в периферической крови

у больных с иммунодефицитными состояниями // Инфекция и иммунитет, 2022. Т. 12, № 5. С. 981-996. [Saitgalina M.A., Ostankova Y.V., Liubimova N.E., Semenov A.V., Kuznetsova R.N., Totolian Areg A. Modified quantitative approach for assessing peripheral blood TREC and KREC levels in immunodeficient patients. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, Vol. 12, no. 5, pp. 981-996. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-MMF-2039.

3. Сайтгалина М.А., Любимова Н.Е., Останкова Ю.В., Кузнецова Р.Н., Тотолян Арег А. Определение референтных интервалов циркулирующих в крови эксцизионных колец TREC и KREC у лиц старше 18 лет // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 6. С. 1227-1236 [Saitgalina M.A., Liubimova N.E., Ostankova Yu.V., Kuznetsova R.N., Totolian Areg A. Determination of reference values for TREC and KREC in circulating blood of the persons over 18 years. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2022, Vol. 24, no. 6, pp. 1227-1236. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-DOR-2587.

4. Щербак С.Г., Камилова Т.А., Голота А.С., Воложанин Д.А. Факторы риска тяжелого течения и летального исхода COVID-19 // Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. 2022. Т. 4, №1. С. 14-36. [Scherbak S.G., Kamilova T.A., Golota A.S., Vologzhanin D.A. Risk factors of the severe course and fatal outcome in COVID-19. *Phizicheskaya i reabilitatsionnaya meditsina, meditsinskaya reabilitatsiya = Physical and Rehabilitation Medicine, Medical Rehabilitation*. 2022, Vol. 4, no. 1, pp. 14-36. (In Russ.)]

5. Fu L., Wang Bi., Yuan T., Chen X., Ao Y., Fitzpatrick T., Li P., Zhou Y., Lin Y.F., Duan Q., Luo G., Fan S., Lu Y., Feng A., Zhan Y., Liang B., Cai W., Zhang L., Du X., Li L., Shu Y., Zou H.. Clinical characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: a systematic review and meta-analysis. *J. Infect.*, 2020, Vol. 80, no. 6, pp. 656-665.

6. Habas K., Nganwuchu C., Shahzad F., Gopalan R., Haque M., Rahman S., Majumder A.A., Nasim T. Resolution of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Expert. Rev. Anti Infect. Ther.*, 2020, Vol. 18, no. 12, pp. 1201-1211.

7. Kudryavtsev I.V., Arsentieva N.A., Batsunov O.K., Korobova Z.R., Khamitova I.V., Isakov D.V., Kuznetsova R.N., Rubinstein A.A., Stanevich O.V., Lebedeva A.A., Vorobyov E.A., Vorobyova S.V., Kulikov A.N., Sharapova M.A., Pevtcov D.E., Totolian Areg A. Alterations in B cell and follicular T-helper cell subsets in patients with acute COVID-19 and COVID-19 Convalescents. *Curr. Issues Mol. Biol.*, 2021, Vol. 44, no. 1, pp. 194-205.

8. Ochani R., Asad A., Yasmin F., Shaikh S., Khalid H., Batra S., Sohail M.R., Mahmood S.F., Ochani R., Hussham Arshad M., Kumar A., Surani S. COVID-19 pandemic: from origins to outcomes. A comprehensive review of viral pathogenesis, clinical manifestations, diagnostic evaluation, and management. *Infesz. Med.*, 2021, Vol. 29, no. 1, pp. 20-36.

9. Pascarella G., Strumia A., Piliago C., Bruno F., del Buono R., Costa F., Scarlata S., Agrò F.E. COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. *J. Intern. Med.*, 2020, Vol. 288, no. 2, pp. 192-206.

10. Serana F., Chiarini M., Zanotti C., Sottini A., Bertoli D., Bosio A., Caimi L., Imberti L. Use of V(D)J recombination excision circles to identify T- and B-cell defects and to monitor the treatment in primary and acquired immunodeficiencies. *J. Transl. Med.*, 2013, Vol. 11, 119. doi: 10.1186/1479-5876-11-119.

11. van Zelm M.C., van der Burg M., Langerak A.W., van Dongen J.J. PID comes full circle: applications of V(D) J recombination excision circles in research, diagnostics and newborn screening of primary immunodeficiency disorders. *Front. Immunol.*, 2011, Vol. 2, 12. doi: 10.3389/fimmu.2011.00012.

12. Wu Z., McGoogan J.M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: Summary of a report of 72 314 cases from the chinese center for disease control and prevention. *JAMA*, 2020, Vol. 323, no. 13, pp. 1239-1242.

13. Yang J., Zheng Y., Gou X., Pu K., Chen Z., Guo Q., Ji R., Wang H., Wang Y., Zhou Y. Prevalence of comorbidities in the novel Wuhan coronavirus (COVID-19) infection: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Infect. Dis.*, 2020, Vol. 94, pp. 91-95.

14. Zhao X., Zhang B., Li P., Ma Ch. Incidence, clinical characteristic and prognostic factor of patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *medRxiv*, 2020, Vol. 12, no. 19, pp. 18853-18865.

15. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z., Xiang J., Wang Y., Song B., Gu X., Guan L., Wei Y., Li H., Wu X., Xu J., Tu S., Zhang Y., Chen H., Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2020, Vol. 395, pp. 1054-1062.

Авторы:

Сайтгалина М.А. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Останкова Ю.В. — к.б.н., заведующая лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Saitgalina M.A., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Ostankova Yu.V., PhD (Biology), Head, Laboratory of Immunology and Virology HIV, Senior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Арсентьева Н.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Arsentieva N.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Коробова З.Р. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»; старший лаборант кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

Korobova Z.R., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Saint Petersburg Pasteur Institute; Senior Laboratory Assistant, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Любимова Н.Е. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Liubimova N.E., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Кащенко В.А. — д.м.н., профессор, заместитель генерального директора по научно-образовательной работе ФГБУ «Северо-Западный окружной научно-клинический центр имени Л.Г. Соколова Федерального медико-биологического агентства»; заведующий кафедрой факультетской хирургии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Kashchenko V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Head, Scientific Department, L. Sokolov North-Western District Scientific and Clinical Center, Federal Medical and Biological Agency; Head, Faculty Surgery Department, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Куликов А.Н. — д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Kulikov A.N., PhD, MD (Medicine), Professor, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Певцов Д.Э. — к.м.н., врач-трансфузиолог ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Pevtsov D.E., PhD (Medicine), Transfusiologist, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Станевич О.В. — врач-инфекционист отдела эпидемиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ; аспирант ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Stanevich O.V., Infectionist, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Postgraduate Student, A. Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

Черных Е.И. — к.м.н., врач-терапевт приемного отделения ФГБУ «Северо-Западный окружной научно-клинический центр имени Л.Г. Соколова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

Chernykh E.I., PhD (Medicine), Therapist, L. Sokolov North-Western District Scientific and Clinical Center, Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Тотолян Арег А. — д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»; заведующий кафедрой иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Totolian Areg A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Molecular Immunology, Director, Saint Petersburg Pasteur Institute; Head, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation