

© Коллектив авторов, 2020

Н.В. ДОЛГУШИНА, Л.В. КРЕЧЕТОВА, Т.Ю. ИВАНЕЦ, В.В. ВТОРУШИНА,  
Е.В. ИНВИЯЕВА, В.А. КЛИМОВ, Г.Т. СУХИХ

## ВЛИЯНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА НА ТЯЖЕСТЬ ТЕЧЕНИЯ COVID-19

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии  
имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

**Цель.** Оценить влияние иммунного статуса больных на тяжесть течения COVID-19.

**Материалы и методы.** В проспективное исследование были включены 63 сотрудника ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, заболевшие COVID-19. В зависимости от тяжести заболевания они были стратифицированы на 3 группы: группа 1 – 17 человек с бессимптомной формой болезни, группа 2 – 29 человек с легкой формой болезни, группа 3 – 17 человек со среднетяжелой формой COVID-19. На 3–7-е сутки от начала заболевания производился забор крови из периферической вены и оценка уровня антител IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) и параметров иммунограммы. Через 20+ дней проводился повторный анализ крови с определением уровня антител IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке крови методом ИФА.

**Результаты.** Сотрудники, которые имели более высокий ИМТ, А(II) группу крови, более низкое число лейкоцитов и лимфоцитов, более высокое относительное содержание моноцитов и изменения в иммунограмме в виде более низкого числа CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup> и фагоцитарной активности нейтрофилов, развили более тяжелые формы COVID-19, которые характеризовались выраженной клинической симптоматикой и формированием противовирусного иммунитета в 100% наблюдений.

**Заключение.** Выявленные клинико-лабораторные отличия между различными клиническими формами COVID-19, в том числе параметры иммунограммы, могут быть предикторами развития тяжелых форм инфекции и использоваться в клинической практике для прогноза развития заболевания.

**Ключевые слова:** COVID-19, SARS-CoV-2, коронавирус, новая коронавирусная инфекция, тяжесть заболевания, иммунитет, иммунный статус.

**Вклад авторов:** Долгушина Н.В., Сухих Г.Т.: концепция и дизайн исследования; Долгушина Н.В.: статистическая обработка результатов, написание текста; Кречетова Л.В.: концепция исследования, написание текста; Иванец Т.Ю., Вторушина В.В., Инвияева Е.В.: сбор и обработка материала, выполнение исследований; Климов В.А.: рецензирование текста статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №20-04-60270.

**Благодарности.** Авторы выражают огромную признательность и благодарность: руководителю по клинической работе научно-поликлинического отделения, д.м.н. Байрамовой Г.Р. – за помощь в организации забора крови; заведующему лаборатории молекулярно-генетических методов исследования института репродуктивной генетики, к.м.н. Донникову А.Е. – за проведение молекулярно-генетических исследований по выявлению SARS-CoV-2; заведующему лаборатории по сбору и хранению биоматериалов, к.м.н. Муллабаевой С.М. – за сбор биоматериала; аспиранту Абрамовой М.Е. – за сбор биоматериала; научному сотруднику отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия института репродуктивной генетики, к.м.н. Сыркашевой А.Г. и ординатору Довгань А. – за формирование базы данных.

Для цитирования: Долгушина Н.В., Кречетова Л.В., Иванец Т.Ю.,  
Вторушина В.В., Инвияева Е.В., Климов В.А., Сухих Г.Т.  
Влияние иммунного статуса на тяжесть течения COVID-19.  
Акушерство и гинекология. 2020; 9: 129-137  
<https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.9.129-137>

©A group of authors, 2020

N.V. DOLGUSHINA, L.V. KRECHETOVA, T.YU. IVANETS, V.V. VTORUSHINA,  
E.V. INVIYAEVA, G.T. SUKHIKH

## THE IMPACT OF THE IMMUNE STATUS ON COVID-19 SEVERITY

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology,  
Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

**Aim.** To investigate the impact of patient immune status on the severity of COVID-19.

**Materials and methods.** The prospective study included 63 employees of the V.I. Kulakov NMRC for OG&P of Minzdrav of Russia with confirmed COVID-19. The patients were stratified into three groups based on the disease severity, including asymptomatic (group 1, n=17), mild (group 2, n=29), and moderate (group 3, n=17) form of COVID-19. On days 3–7 from the onset of the disease, peripheral venous blood samples were collected from the study subjects and tested for serum levels of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies and immune profile by ELISA. After day 20+, testing for serum levels of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies was repeated using ELISA.

**Results.** Patients who had a higher BMI, blood group A(II), lower leukocyte and lymphocyte counts, higher relative monocyte count, changes in the immune profile in the form of a lower number of CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>, and phagocytic activity of neutrophils, developed more severe forms of COVID-19. They had severe clinical manifestations of the disease, and 100% of them developed antiviral immunity.

**Conclusion.** This study identified several clinical, laboratory, and immune profile features that may be considered as predictive factors of severe COVID-19 and can be used in clinical practice to predict the clinical course of the disease.

**Keywords:** COVID-19, SARS-CoV-2, coronavirus, novel coronavirus infection, disease severity, immunity, immune status.

**Authors' contributions.** Dolgushina N.V., Sukhikh G.T.: conception and design of the study; Dolgushina N.V.: statistical analysis, manuscript preparation; L.V. Krechetova: conception and design of the study, manuscript preparation; Ivanets T.Yu., Vtorushina V.V., Inviyaeva E.V.: data collection and analysis, conducting research; Klimov V.A.: manuscript editing.

**Conflicts of interest.** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Financing.** The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research within the framework of scientific project No. 20-04-60270.

**Acknowledgement.** The authors express their sincere gratitude to the Clinical Care Supervisor at Research and Polyclinic Department, Dr. Med. Sci. Bayramova G.R. for her help in organizing blood sampling; Head of the Laboratory of Methods of Molecular Genetic Research of the Institute of Reproductive Genetics, Ph.D. Donnikov A.E. for molecular genetic studies to identify SARS-CoV-2; Head of the Laboratory for the Collection and Storage of Biomaterials, Ph.D. Mullabayeva S.M. for the collection of biomaterial; Ph.D. Student M.E. Abramova for the collection of biomaterial; Researcher at the Department of Assisted Technologies in Infertility Treatment, Institute of Reproductive Genetics, Ph.D. Syrkasheva A.G., and Clinical Resident Dovgan' A. for creating the database.

*For citation: Dolgushina N.V., Krechetova L.V., Ivanets T.Yu., Vtorushina V.V., Inviyaeva E.V., Klimov V.A., Sukhikh G.T. The impact of the immune status on COVID-19 severity. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2020; 9: 129-137 (in Russian) <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.9.129-137>*

В конце 2019 г. в КНР произошла вспышка заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией. 11.02.2020 г. Всемирная организация здравоохранения присвоила ему официальное название COVID-19 (Coronavirus disease 2019), а международный комитет по таксономии вирусов присвоил официальное название возбудителю инфекции – SARS-CoV-2. До сих пор сведения об эпидемиологии, клинических особенностях, профилактике и лечении этого заболевания весьма ограничены и противоречивы.

К настоящему времени накопилось достаточно данных, свидетельствующих о том, что заболевание, вызванное SARS-CoV-2, протекает в различных формах – от бессимптомного течения до тяжелых форм, сопровождающихся развитием двусторонней пневмонии, полиорганной недостаточностью и сепсисом [1]. При этом активно изучаются причины и предикторы, влияющие на развитие различных форм COVID-19 [2–4].

Значимую роль в развитии тяжелых форм заболевания играет иммунный ответ на вирусную инфекцию [5, 6]. Есть предварительные данные о прямой связи между тяжестью перенесенной инфекции и напряженностью развивающегося гуморального иммунитета, а также с развитием «цитокинового шторма» и системной воспалительной реакции [6].

В связи с этим изучение предикторов, причин, и сопутствующих факторов, влияющих на тяжесть развития инфекции, играет важную роль для понимания патогенеза развития тяжелых форм заболевания и разработки методов терапии и профилактики данных осложнений.

Целью исследования было оценить влияние иммунного статуса больных на тяжесть течения COVID-19.

## Материалы и методы

В проспективное исследование были включены 63 сотрудника ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова»

МЗ РФ, заболевшие COVID-19. Критериями включения явились подтверждение диагноза COVID-19, возраст 18+ лет, подписанное информированное добровольное согласие на включение в исследование и возможность проведения забора крови через 3–7 дней и 20+ дней от старта заболевания (появление клинических симптомов или положительный тест на SARS-CoV-2). Критериями исключения были ВИЧ-инфекция и другие врожденные и приобретенные иммунодефициты, любые хронические инфекционные, онкологические, аутоиммунные и ревматические заболевания, период беременности и лактации для женщин, прием иммуномодулирующих препаратов в течение не менее 3 месяцев до старта болезни и во время болезни.

В зависимости от тяжести заболевания сотрудники были стратифицированы на 3 группы: группа 1 – 17 человек с бессимптомной формой болезни, группа 2 – 29 человек с легкой формой болезни, группа 3 – 17 человек со среднетяжелой формой COVID-19.

Критериями бессимптомной формы болезни было выявление РНК SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР в мазке из ротоглотки при отсутствии каких-либо клинических проявлений заболевания. Критериями легкой формы COVID-19 было выявление РНК SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР в мазке из ротоглотки в сочетании со следующими клиническими проявлениями: температура не выше субфебрильной (<38°C) и отсутствие критериев тяжелого и среднетяжелого течения инфекции. Критериями среднетяжелой формы заболевания было выявление РНК SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР в мазке из ротоглотки в сочетании с каким-либо из следующих клинических проявлений: температура выше субфебрильной (≥38°C), одышка при физических нагрузках, наличие пневмонии по данным КТ с минимальным или средним объемом поражения легких (КТ 1–2) [7].

Идентификация вируса проводилась с помощью «Набора реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 и подобных SARS-CoV методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (SARS-CoV-2/SARS-CoV)» (ООО НПО «ДНК-Технология», Россия). В качестве мишеней были выбраны три участка генома: специфичные для коронавируса SARS-CoV-2 участки гена N и гена E, а также консервативный участок гена E, общий для группы коронавирусов подобных SARS-CoV (включая SARS-CoV и SARS-CoV-2). Амплификацию проводили на приборе «ДТ-964» (ООО НПО «ДНК-Технология», Россия). Обработка результатов осуществлялась автоматически с помощью программного обеспечения к прибору.

На 3–7 сутки от начала заболевания производился забор крови из периферической вены и оценка уровня антител IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке крови и параметров иммунограммы с оценкой общего числа лимфоцитов, с анализом субпопуляционного состава лимфоцитов: CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>, Treg, с расчетом соотношения Т-лимфоцитов с цитотоксической и хелперной функцией (CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>), с оценкой содержания в периферической крови активированных лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>), а также фагоцитарной активности нейтрофилов (ФАН) с расчетом индекса стимуляции (ИС). Через 20+ дней от начала заболевания проводился повторный анализ крови для оценки уровня антител IgG к SARS-CoV-2.

Определение антител к SARS-CoV-2 класса IgG в сыворотке крови осуществлялось наборами реагентов для твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) в сыворотке (плазме) крови «SARS-CoV-2-IgG-ИФА» производства ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ. Учет результатов осуществляли на планшетном ридере Infinite F50 (фирмы Tecan, Австрия). Согласно инструкции компании-производителя, тест предназначен для качественного и полуколичественного определения антител, для интерпретации результата используется индекс позитивности (ИП), который рассчитывается по формуле: ИП = ОП образца/Cut-off, где ОП образца – величина оптической плотности образца. При ИП > 1,1 – образец положительный, при ИП < 0,9 – образец отрицательный. При значении ИП, лежащем в промежутке от 0,9 до 1,1, результат сомнительный (неопределенный). Образцы с сомнительным результатом были повторно протестированы через 1–2 дня из другой порции крови.

Фенотипирование лимфоцитов периферической крови осуществлялось методом проточной цитометрии с помощью моноклональных антител (mAb), меченных FITC или PE, против антигенов CD3(FITC), CD4(PE), CD5(PE), CD8(PE), CD16(PE), CD19(FITC), CD56(PE), CD25(FITC), HLA-DR(FITC) (Becton Dickinson и eBioscience, США). Оценивалось содержание основных субпопуляций иммунокомпетентных Т клеток (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>), В-клеток (CD19<sup>+</sup>), В1-клеток (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>),

НК-клеток (CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>). Лимфоцитарный гейт, позволяющий исключить из анализа другие клетки крови, выявлялся с помощью mAb к CD45, меченных перидинин хлорофилл протеином (PerCP), (Dako, Дания). Для оценки позитивно окрашенных субпопуляций использовались соответствующие FITC или PE-меченные изотипические IgG.

Трег клетки с внутриклеточной экспрессией FOXP3 в цельной крови определялись как субпопуляция с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low/-</sup>, с использованием сочетания mAb к антигенам CD4, меченных PerCP (eBioscience, США), CD25, меченных FITC (Becton Dickinson, США) и CD127, меченных PE (eBioscience, США). Оценивалась доля Трег среди CD4<sup>+</sup>-клеток. Моноклональные антитела добавлялись непосредственно к цельной крови, затем лизировались с помощью раствора FACS Lysing Solution (Becton Dickinson, США).

ФАН оценивали с помощью метода FagoFlow (фирмы ExBio, Чехия). Тест основан на оценке окислительного взрыва в гранулоцитах после стимуляции E.Coli. Отношение средней интенсивности флуоресценции (СИФ) активированных гранулоцитов стимулированных образцов и отрицательных контролей отражает интенсивность окислительного взрыва гранулоцитов после стимуляции E. coli и обозначается как индекс стимуляции (ИС).

Фенотипирование лимфоцитов, и оценка ФАН выполнялись на проточном цитофлуориметре Gallios (Beckman Coulter, США) с использованием программы Kaluza.

#### Статистический анализ

Для статистического анализа использовался пакет статистических программ Statistica 10 (США). Соответствие расчетных выборок показателей нормальному распределению оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка: все непрерывные данные в подгруппах имели нормальное распределение и представлены в виде среднее арифметическое ± стандартное отклонение (M±SD). Статистический анализ проводился с применением  $\chi^2$ -теста для сравнения категориальных переменных, теста ANOVA для сравнения средних величин в 3 группах и t-test для сравнения средних величин в 2 группах. Для оценки связи выявленных предикторов с различными формами течения COVID-19 использовался многофакторный анализ (логистическая регрессия) с процедурой последовательного включения предикторов в модель (Forward selection). Различия между статистическими величинами считали статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

Исследование было одобрено комиссией по этике ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

#### Результаты

Пол и средний возраст сотрудников статистически значимо не различались в группах сравнения ( $p > 0,05$ ), хотя отмечался тренд в сторону большей частоты лиц мужского пола и лиц более старшего возраста в группах с клинически значимыми формами COVID-

19. Индекс массы тела (ИМТ) был выше в группе сотрудников с более тяжелыми формами заболевания ( $p=0,0028$ ). Среди заболевших преобладали лица со А(II) группой крови – 36 человек (57,1%). Также лиц с А(II) группой крови было больше в группах с клиническими проявлениями инфекции, а лиц с 0(I) группой крови было статистически значимо больше в группе с бессимптомной формой инфекции ( $p=0,0370$ ). Распространенность различных заболеваний у сотрудников в целом была низкая и не отличалась значимо в группах сравнения (табл. 1).

Длительность клинических проявлений заболевания, в среднем, составила ( $11,5 \pm 7,4$ ) дней (от 3 до 30 дней). При этом длительность клинических проявлений в группе 2 составила ( $9,8 \pm 6,7$ ) дней, а в группе 3 – ( $14,5 \pm 7,9$ ) дней ( $p=0,0397$ ). Среди клинических проявлений преобладали (в порядке убывания): снижение обоняния – у 36 (78,3%), лихорадка – у 34 (73,9%), головная боль – у 31 (67,4%), общая слабость – у 30 (65,2%), миалгия – у 21 (45,6%) и кашель – у 19 (41,3%) из 46 человек с клиническими проявлениями заболевания. Пневмония по данным компьютерной томографии (КТ-1 или КТ-2) была диагностирована у 12 сотрудников. Все сотрудники с клиническими проявлениями COVID-19 находились на амбулаторном лечении и получали тот или иной вид терапии. Наиболее часто назначались антибиотики широкого спектра действия – 32-м из 46 человек (69,5%) и препараты низкомолекулярных

гепаринов (НМГ) в профилактических дозировках – 17 из 46 человек (36,9%).

Через 3–7 дней от начала заболевания сероконверсия (появление антител) наблюдалось лишь у 14 человек (22,2%), тогда как через 20+ дней от начала заболевания антитела были выявлены уже у 48 человек (76,2%). При этом у сотрудников со среднетяжелой формой заболевания антитела были выявлены в 100% наблюдений в отличие от групп 1 и 2 (70,6% и 65,5%), а их уровень был значимо выше ( $p=0,0192$ ) (табл. 2, рис. 1).

При оценке параметров клинического и биохимического анализа крови на 3–5-й день заболевания было выявлено, что сотрудники со среднетяжелой формой COVID-19 (группа 3) имели более низкий уровень лейкоцитов и лимфоцитов, и более высокий относительный уровень моноцитов и С-реактивного белка (СРБ) ( $p<0,05$ ). Параметры биохимического анализа крови значимо не отличались между группами (табл. 3, рис. 2).

При анализе параметров иммунограммы на 3–5-й день заболевания было выявлено, что у сотрудников со среднетяжелой формой COVID-19 (группа 3) определялось более низкое абсолютное число  $CD3^+$ ,  $CD3^+CD8^+$ ,  $CD19^+$ ,  $CD19^+CD5^+$ , ФАН и ИС (табл. 4, рис. 3).

Вероятность развития более тяжелой формы COVID-19 в зависимости от исследованных клинико-лабораторных данных была рассчитана с

Таблица 1. Клинико-anamнестические данные сотрудников, включенных в исследование

Параметры	Группа 1 (n=17)	Группа 2 (n=29)	Группа 3 (n=17)	p значения
Мужской пол, абс. (%)	0	5 (17,2)	3 (17,6)	0,1837 0,0657 (гр. 1 vs гр.2 и 3)
Возраст, лет	41,8±13,8	38,5±12,2	46,3±11,5	0,1304 ^0,0687 (гр. 3 vs гр. 1 и 2)
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> (M±SD)	23,5±3,5	24,3±4,4	29,0±6,1	0,0028
Курение, абс. (%)	3 (17,6)	3 (10,3)	1 (5,9)	0,5425 0,3156 (гр. 1 vs гр.2 и 3)
Группа крови А(II), абс. (%)	8 (47)	16 (55,2)	12 (70,6)	0,3730 0,1898 (гр. 3 vs гр. 1 и 2)
Группа крови 0(I), абс. (%)	5 (29,4)	3 (10,3)	1 (5,9)	0,1041 0,0370 (гр. 1 vs гр.2 и 3)
Артериальная гипертензия, абс. (%)	3 (17,6)	1 (3,4)	3 (17,6)	0,2024
Нарушенная толерантность к глюкозе, абс. (%)	0	0	1 (5,9)	0,2529
Заболевания легких (бронхиальная астма, хронический бронхит), абс. (%)	2 (11,8)	2 (6,9)	4 (23,5)	0,2601 0,1165 (гр. 3 vs гр. 1 и 2)
ЛОП-заболевания (хронический тонзиллит, гайморит, ларингит), абс. (%)	4 (23,5)	6 (20,7)	5 (29,4)	0,7983

Примечание. В случае представления данных в абсолютных значениях различия оценивались с помощью  $\chi^2$ -теста; для оценки различий ИМТ и возраста использовали тесты ANOVA и  $t$ -test.

Таблица 2. Уровень IgG к SARS-CoV-2 у больных с различной степенью тяжести COVID-19

Параметры	Группа 1 (n=17)	Группа 2 (n=29)	Группа 3 (n=17)	p-значения
Наличие IgG к SARS-CoV-2 через 3–7 дней, абс. (%)	5 (29,4)	7 (24,1)	2 (11,8)	0,4391
Уровень IgG к SARS-CoV-2 через 3–7 дней, ИП (M±SD)	0,85±1,13	1,02±1,74	0,61±0,79	0,6212
Наличие IgG к SARS-CoV-2 через 20+ дней, абс. (%)	12 (70,6)	19 (65,5)	17 (100)	0,0243
Уровень IgG к SARS-CoV-2 через 20+ дней, ИП (M±SD)	3,29±3,91	3,24±2,68	5,82±2,90	0,0192

Примечание. В случае представления данных в абсолютных значениях различия оценивались с помощью  $\chi^2$ -теста; для оценки различий ИП использовали тест ANOVA.

**Таблица 3. Параметры клинического и биохимического анализа крови у больных с различной степенью тяжести COVID-19\***

Параметры	Группа 1 (n=17)	Группа 2 (n=29)	Группа 3 (n=17)	p-уровень
Лейкоциты, × 10 <sup>9</sup> /л	5,16±0,95	5,40±1,32	4,23±0,81	0,0041
Эритроциты, ×10 <sup>12</sup> /л	7,78±0,28	4,77±0,42	4,79±0,57	0,9895
Гемоглобин, г/л	142,1±12,1	143,0±12,2	137,9±18,9	0,5189
Тромбоциты, × 10 <sup>9</sup> /л	268,8±69,8	282,0±69,2	251,9±48,4	0,3471
Нейтрофилы, %	51,9±9,2	52,8±11,2	48,4±11,8	0,4204
Лимфоциты, × 10 <sup>9</sup> /л	1,88±0,45	1,90±0,65	1,52±0,29	0,0304
Лимфоциты, %	37,0±9,4	35,6±9,9	38,4±12,2	0,6632
Моноциты, %	8,6±2,1	9,3±3,3	11,5±3,8	0,0244
Глюкоза, ммоль/л	4,8±1,0	5,1±1,2	4,9±1,3	0,6106
Общий белок, г/л	68,5±5,5	68,5±4,7	68,6±4,7	0,9941
Креатинин, мкмоль/л	77,3±15,3	78,2±12,2	75,2±11,5	0,7409
АЛТ, ЕД/л	20,1±16,2	23,5±15,1	23,6±9,5	0,6974
АСТ, ЕД/л	19,4±7,4	20,6±7,5	21,3±6,4	0,7316
СРБ, мг/л	1,2±2,6	1,0±1,3	9,1±21,3	0,0470
Ферритин, мг/л	60,5±57,6	85,8±133,9	98,5±82,9	0,5612

АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспаратаминотрансфераза; СРБ – С-реактивный белок.

\*данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, ANOVA.

**Таблица 4. Параметры иммунограммы у больных с различной степенью тяжести COVID-19\***

Параметры	Группа 1 (n=17)	Группа 2 (n=29)	Группа 3 (n=17)	p-уровень
CD3 <sup>+</sup> (абс.)	1,44±0,41	1,44±0,57	1,14±0,23	0,0459
CD3 <sup>+</sup> (%)	76,0±7,0	74,6±8,0	75,4±7,1	0,8202
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (абс.)	0,88±0,24	0,84±0,33	0,73±0,21	0,2654
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (%)	46,9±5,2	43,7±9,9	47,6±8,4	0,2660
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (абс.)	0,53±0,20	0,54±0,28	0,37±0,06	0,0471
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (%)	27,7±7,1	27,5±7,3	25,4±5,5	0,5247
CD19 <sup>+</sup> (абс.)	0,17±0,07	0,15±0,07	0,12±0,03	0,0312
CD19 <sup>+</sup> (%)	9,7±3,1	8,6±3,0	8,2±1,9	0,2626
CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> (абс.)	0,21±0,09	0,20±0,09	0,18±0,12	0,6097
CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> (%)	11,7±5,2	11,6±5,5	11,5±6,9	0,9950
CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> (абс.)	0,06±0,05	0,05±0,03	0,05±0,05	0,4458
CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> (%)	3,4±2,4	2,7±2,2	3,2±2,8	0,6097
CD19 <sup>+</sup> CD5 <sup>+</sup> (абс.)	0,019±0,009	0,015±0,008	0,010±0,004	0,0028
CD19 <sup>+</sup> CD5 <sup>+</sup> (%)	1,1±0,6	0,8±0,5	0,7±0,2	0,0307
CD3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (абс.)	3,3±2,0	2,8±2,9	2,8±2,3	0,4399
CD3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (%)	0,069±0,049	0,060±0,076	0,043±0,023	0,8258
CD25 <sup>+</sup> (абс.)	0,075±0,052	0,065±0,084	0,048±0,023	0,4815
CD25 <sup>+</sup> (%)	3,8±2,3	3,3±3,2	3,2±1,5	0,7414
Трег (абс.)	0,139±0,073	0,127±0,066	0,102±0,035	0,2167
Трег (%)	7,2±2,9	6,6±2,5	6,9±2,5	0,7511
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> /CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	1,81±0,61	1,77±0,69	1,97±0,64	0,5996
ФАН	97,1±2,5	96,3±3,5	91,2±4,8	0,0002
ИС	43,5±11,8	47,5±11,2	42,4±13,1	0,0005

ФАН – фагоцитарная активность нейтрофилов, ИС – индекс стимуляции нейтрофилов.

\*данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, ANOVA.

использованием многофакторного анализа. В модель прогноза были включены факторы, показавшие статистическую значимость при построении многофакторной модели: ИМТ, абсолютное число лейкоцитов, абсолютное число лимфоцитов и ФАН:

$$P(\text{COVID}) = \frac{\text{Exp}(26,5+0,24 \cdot \text{ИМТ} - 0,47 \cdot \text{Лейк} - 0,03 \cdot \text{Лимф} - 0,29 \cdot \text{ФАН})}{1 + \text{Exp}(26,5+0,24 \cdot \text{ИМТ} - 0,47 \cdot \text{Лейк} - 0,03 \cdot \text{Лимф} - 0,29 \cdot \text{ФАН})}$$

где  $P(\text{COVID})$  – вероятность развития более тяжелой формы COVID-19; Exp – экспонента; ИМТ – индекс массы тела; Лейк – абсолютное

число лейкоцитов в сыворотке крови ( $\times 10^9/\text{л}$ ); Лимф – абсолютное число лимфоцитов в сыворотке крови ( $\times 10^9/\text{л}$ ); ФАН – фагоцитарная активность нейтрофилов.

Таким образом более высокий ИМТ, более низкое абсолютное содержание лейкоцитов и лимфоцитов, а также низкий уровень ФАН предрасполагают к развитию более тяжелой формы COVID-19.

## Обсуждение

Было выявлено, что на развитие более тяжелых форм инфекции SARS-CoV-2 оказывали влияние более высокий ИМТ ( $p=0,0028$ ) и группа крови ( $p=0,0370$ ). Сотрудники со А(II) группой крови чаще развивали более тяжелую форму заболевания, тогда как сотрудники с 0(I) группой крови чаще имели бессимптомное течение болезни. Наши данные согласуются с данными Zhao J. et al. и другими исследователями, которые проанализировав большую когорту больных COVID-19 (2173 человека) также выявили повышенную заболеваемость у лиц со АВ фенотипом крови и низкую заболеваемость у людей с 0(I) группой крови [3, 8]. Объяснением этому может быть влияние АВ0 антигенов на иммунную систему и распространение патогенов под влиянием защитных антител и системы комплимента [9]. Было высказано предложение о том, что некоторые вирусы способны связываться с АВ0-антигенами и, таким образом, распространяться в организме человека [10], в том числе SARS [11]. Guillon P. et al., используя математическую клеточную модель, высказали предположение, что у людей с 0(I) группой крови защитную противовирусную функцию оказывают антигрупповые антитела [12].

Рис. 1. Уровень антител IgG (ИП – индекс позитивности) к SARS-CoV-2 через 20+ дней от начала заболевания у больных с различной степенью тяжести COVID-19

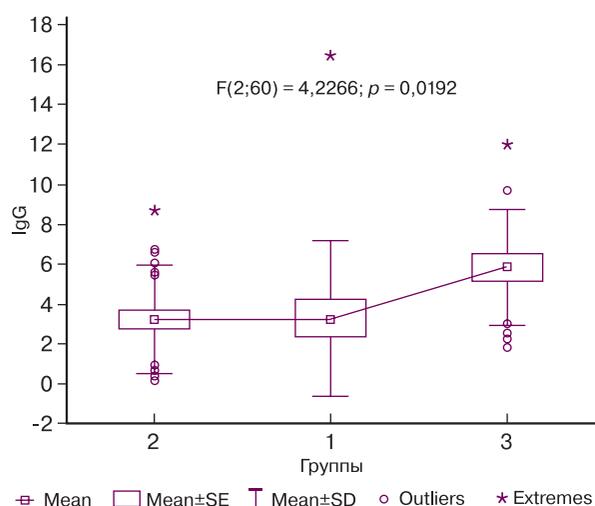


Рис. 2. Число лимфоцитов ( $\times 10^9/\text{л}$ ), моноцитов (%) и уровень СРБ (мг/л) у больных с различной степенью тяжести COVID-19

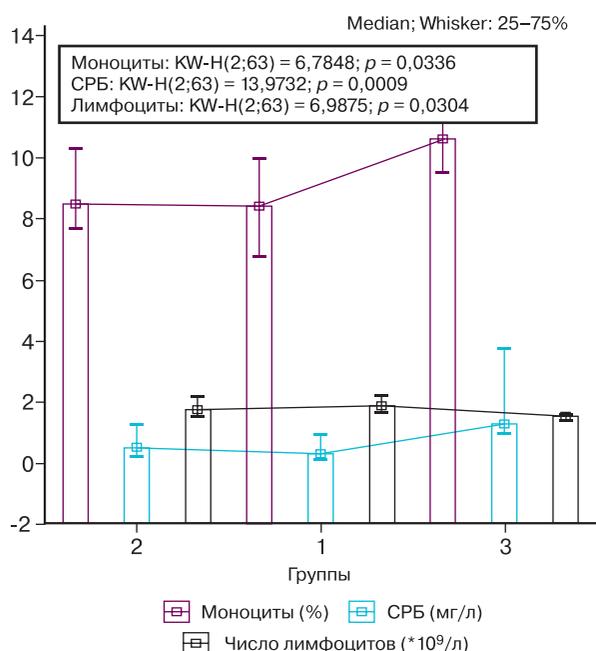
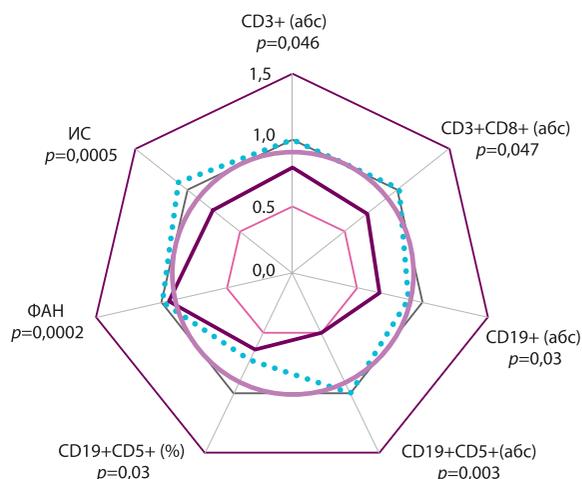


Рис. 3. Параметры иммунограммы у больных с различной степенью тяжести COVID-19

Примечание: По осям представлены отношения средних значений значимо отличающихся параметров иммунограммы сотрудников со среднетяжелым течением COVID-19 к средним значениям параметров иммунограммы у сотрудников с бессимптомным течением заболевания: серая линия – линия равенства значений с параметрами иммунограммы сотрудников с бессимптомным течением COVID-19; пунктирная линия характеризует уровень параметров у сотрудников с легким течением заболевания, сплошная линия – у сотрудников со среднетяжелым течением COVID-19



Что касается ИМТ, то уже были получены доказательства того, что избыточная масса тела и ожирение в 2,3 раза увеличивают шансы развития тяжелых форм инфекции, о чем свидетельствуют данные мета-анализа [13]. Это связано с частым сочетанием ожирения и соматических, эндокринных и других заболеваний, метаболических расстройств и иммунных нарушений. Мы не получили статистически значимой разницы в числе лиц мужского пола и более старшего возраста в группе с более тяжелой формой заболевания, хотя такой тренд имел место быть. Мужской пол и старший возраст наравне с ожирением являются доказанными факторами риска развития тяжелых форм инфекции [1, 2]. Отсутствие значимой разницы по полу и возрасту в нашем исследовании связано с небольшим числом мужчин и относительно молодым возрастом включенных в исследование сотрудников. Это же касается и заболеваемости сотрудников, которая не различалась значимо между группами в виду низкой распространенности каких-либо заболеваний в исследуемой когорте.

При анализе наличия и уровня специфических противовирусных антител было выявлено, что через более чем 20 дней от начала заболевания антитела IgG были выявлены у большинства сотрудников, причем развитие и напряженность противовирусного иммунитета была связана с тяжестью заболевания. Сероконверсия наблюдалась в 100% случаев при среднетяжелой форме инфекции и лишь у 2/3 сотрудников с легкой и бессимптомной формой инфекции ( $p=0,0243$ ). Полученные данные соответствуют литературным данным, согласно которым у большинства пациентов наблюдается сероконверсия в течение первых 3-х недель заболевания, причем сероконверсия IgM и IgG происходит одновременно и достигает пика на 2–3-й неделе заболевания [14]. Также было показано, что у пациентов с более легкими формами заболевания уровень антител был ниже по сравнению с пациентами с более тяжелыми формами болезни [15]. Следует ответить, что мы не нашли данных литературы о выраженности противовирусного иммунитета у лиц с бессимптомными формами инфекции. Многочисленные литературные источники свидетельствуют о наличии такового лишь у больных с клиническими проявлениями COVID-19. Таким образом, наше исследование является одним из первых, в котором продемонстрировано наличие сероконверсии при бессимптомной форме инфекции SARS-CoV-2, и показано, что напряженность специфического противовирусного иммунитета при отсутствии симптомов не отличается от такового при легкой форме заболевания.

Также наше исследование показало, что люди, у которых развивается более тяжелая форма инфекции, при дебюте болезни имеют более низкий абсолютный уровень лейкоцитов и лимфоцитов, и более высокий относительный уровень моноцитов и СРБ ( $p<0,05$ ). Наши данные не согласуются с данными некоторых исследователей, которые показали, что при более тяжелых формах инфекции отмечался более высокий уровень лейкоцитов и более низкий уровень моноцитов [16, 17]. При этом, по данным других исследований, развитие COVID-19 ассоциировано с более

низким уровнем лейкоцитов и лимфоцитов по сравнению с SARS-CoV-2негативными пациентами [18]. Такое различие в данных, вероятно, связано с различными дизайнами исследований. Логично, что при манифестации развернутых форм заболевания меняется картина крови в сторону воспалительных изменений (лейкоцитоз, нейтрофилия, относительная лимфопения, палочкоядерный сдвиг лейкоцитарной формулы), что показано в поперечных исследованиях. При анализе крови до манифестации клинической картины заболевания (продольные исследования) характерен более низкий уровень иммунных клеток, что предрасполагает к развитию более тяжелых форм заболевания. При этом выявленный в нашем исследовании более высокий относительный уровень моноцитов и СРБ в группе с более тяжелой формой инфекции может отражать защитный ответ организма на вирусную инвазию вследствие уже развивающегося заболевания (3–7-й день от начала болезни).

Параметры иммунограммы, оцененные на 3–5-й день заболевания, подтвердили, что для лиц с развитием в последующем более тяжелой формы болезни характерно более низкое содержание иммунных клеток ( $CD3^+$ ,  $CD3^+CD8^+$ ,  $CD19^+$ ,  $CD19^+CD5^+$ ). Аналогичные данные были получены в исследовании Xu B. et al., согласно которому у людей с тяжелыми формами заболевания отмечалось значимое снижение всех фракций Т- и В-лимфоцитов [20]. В исследованиях Chihuan Q. et al., Jin-Wen S. et al. также подтверждается наличие лимфопении у пациентов с тяжелыми формами COVID-19, обусловленной дефицитом всех основных субпопуляций иммунных клеток, и обсуждается развитие у таких больных дисрегуляции иммунного ответа, которую связывают с нерегулируемой активацией  $CD3^+CD8^+$ -клеток [21, 22]. В представленной нами работе показана тенденция у больных со среднетяжелой формой к COVID-19 к развитию подобных процессов в иммунной системе.

Интересной находкой мы считаем значимое снижение фагоцитарной активности нейтрофилов у лиц, которые впоследствии развили тяжелую форму COVID-19, причем снижена не только продукция нейтрофилами активных форм кислорода (окислительный взрыв), но и интенсивность их продукции, отраженная в индексе стимуляции (ИС). Фагоцитарная активность нейтрофилов отражает способность указанных микрофагов крови (одних из основных клеток, способных к фагоцитозу) к поглощению любых патогенных агентов (бактерий, вирусов, пораженных клеток). Снижение данного показателя может наблюдаться при хронических инфекционных заболеваниях, иммунодефицитах, новообразованиях, применении иммунодепрессантов (исключено в нашем исследовании), а также при врожденных дефектах фагоцитарной системы, мальабсорбции, недостаточности питания и др. В базе данных <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov> на сегодняшний день имеются единичные публикации, в которых анализируется связь ФАН и COVID-19 [23]. Очевидно, что снижение активности врожденного иммунитета в виде нарушения фагоцитоза нейтрофилами патогенов может негативно влиять на развитие любого инфекционного и

воспалительного процесса, в том числе вызванного SARS-CoV-2.

На заключительном этапе, нами была предложена модель прогноза, в которую были включены факторы, показавшие статистическую значимость при построении многофакторной модели, а именно ИМТ, абсолютное число лейкоцитов, абсолютное число лимфоцитов и ФАН. Данная модель может быть использована для прогноза развития более тяжелой формы COVID-19.

### Заключение

Выявленные клинико-лабораторные отличия между различными клиническими формами COVID-19, в том числе параметры иммунограммы, могут быть предикторами развития тяжелых форм инфекции и использоваться в клинической практике для прогноза развития заболевания.

### Литература/References

1. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020; 395(10223): 507-13. [https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7).
2. Age, sex, existing conditions of COVID-19. Cases and deaths. Current statistics. Available at: <https://www.worldometers.info/coronavirus/coronavirus-age-sex-demographics/>
3. Zhao J., Yang Y., Huang H., Li D., Gu D., Lu X. et al. Relationship between the ABO blood group and the COVID-19 susceptibility. *Clin. Infect. Dis.* 2020; c1aa1150. <https://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa1150>.
4. Patanavanich R., Glantz S.A. Smoking is associated with COVID-19 progression: a meta-analysis. *Nicotine Tob. Res.* 2020; 22(9): 1653-6. <https://dx.doi.org/10.1093/ntr/ntaa082>.
5. Li G., Fan Y., Lai Y., Han T., Li Z., Zhou P. et al. Coronavirus infections and immune responses. *J. Med. Virol.* 2020; 92(4): 424-32. <https://dx.doi.org/10.1002/jmv.25685>.
6. Channappanavar R., Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin. Immunopathol.* 2017; 39(5): 529-39. <https://dx.doi.org/10.1007/s00281-017-0629-x>.
7. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 7 (утв. Министерством здравоохранения РФ 3 июня 2020 г.). [Temporary guidelines "Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)". Version 7 (approved by the Ministry of health of the Russian Federation on June 3, 2020) (in Russian)]. <https://base.garant.ru/74212510/>.
8. Wu Y., Feng Z., Li P., Yu Q. Relationship between ABO blood group distribution and clinical characteristics in patients with COVID-19. *Clin. Chim. Acta.* 2020; 509: 220-3. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.026>.
9. Cooling L. Blood groups in infection and host susceptibility. *Clin. Microbiol. Rev.* 2015; 28(3): 801-70. <https://dx.doi.org/10.1128/CMR.00109-14>.
10. Lee B., Dickson D.M., DeCamp A.C., Ross Colgate E., Diehl S.A., Uddin M.I. et al. Histo-blood group antigen phenotype determines susceptibility to genotype-specific rotavirus infections and impacts measures of rotavirus vaccine efficacy. *J. Infect. Dis.* 2018; 217(9): 1399-407. <https://dx.doi.org/10.1093/infdis/jiy054>.
11. Cheng Y., Cheng G., Chui C.H., Lau F.Y., Chan P.K.S., Ng M.H. et al. ABO blood group and susceptibility to severe acute respiratory syndrome. *JAMA.* 2005; 293(12): 1450-1. <https://dx.doi.org/10.1001/jama.293.12.1450-c>.
12. Guillon P., Clément M., Sébille V., Rivain J.-G., Chou C.-F., Ruvoën-Clouet N. et al. Inhibition of the interaction between the SARS-CoV spike protein and its cellular receptor by anti-histo-blood group antibodies. *Glycobiology.* 2008; 18(12): 1085-93. <https://dx.doi.org/10.1093/glycob/cwn093>.
13. Yang J., Hu J., Zhu C. Obesity aggravates COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J. Med. Virol.* 2020; 10.1002/jmv.26237. <https://dx.doi.org/10.1002/jmv.26237>.
14. Long Q.X., Liu B.Z., Deng H.J., Wu G.C., Deng K., Chen Y.K. et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat. Med.* 2020; 26(6): 845-8. <https://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1>.
15. Deeks J.J., Dinnes J., Takwoingi Y., Davenport C., Spijker R., Taylor-Phillips S. et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2020; (6): CD013652. <https://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD013652>.
16. Zhang H., Cao X., Kong M., Mao X., Huang L., He P. et al. Clinical and hematological characteristics of 88 patients with COVID-19. *Int. J. Lab. Hematol.* 2020; 10.1111/ijlh.13291. <https://dx.doi.org/10.1111/ijlh.13291>.
17. Elshazli R.M., Toraih E.A., Elgaml A., El-Mowafy M., El-Mesery M., Amin M.N. et al. Diagnostic and prognostic value of hematological and immunological markers in COVID-19 infection: a meta-analysis of 6320 patients. *PLoS One.* 2020; 15(8): e0238160. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0238160>.
18. Ferrari D., Motta A., Strollo M., Banfi G., Locatelli M. Routine blood tests as a potential diagnostic tool for COVID-19. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2020; 58(7): 1095-9. <https://dx.doi.org/10.1515/cclm-2020-0398>.
19. Cheng Z., Lu Y., Cao Q., Qin L., Pan Z., Yan F. et al. Clinical features and chest CT manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a single-center study in Shanghai, China. *AJR Am. J. Roentgenol.* 2020; 215(1): 121-6. <https://dx.doi.org/10.2214/AJR.20.22959>.
20. Xu B., Fan C.-Y., Wang A.-L., Zou Y.-L., Yu Y.-H., He C. et al. Suppressed T cell-mediated immunity in patients with COVID-19: a clinical retrospective study in Wuhan, China. *J. Infect.* 2020; 81(1): e51-e60. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.012>.
21. Qin C., Zhou L., Hu Z., Zhang S., Yang S., Tao Y. et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin. Infect. Dis.* 2020; 71(15): 762-8. <https://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa248>.
22. Song J.W., Zhang C., Fan X., Meng F.P., Xu Z., Xia P. et al. Immunological and inflammatory profiles in mild and severe cases of COVID-19. *Nat. Commun.* 2020; 11(1): 1-10. <https://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-17240-2>.
23. Merad M., Martin J.C. Author Correction: Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nat. Rev. Immunol.* 2020; 20(7): 448. <https://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-0353-y>.

Поступила 28.08.2020

Принята в печать 02.09.2020

Received 28.08.2020

Accepted 02.09.2020

#### Сведения об авторах:

Долгушина Наталья Витальевна, д.м.н., профессор, заместитель директора – руководитель департамента организации научной деятельности, ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +7(495)438-49-77. E-mail: n\_dolguшина@oparina4.ru. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Кречетова Любовь Валентиновна, д.м.н., заведующая лабораторией клинической иммунологии, ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +7(495)438-11-83. E-mail: l\_krechetova@oparina4.ru. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Иванец Татьяна Юрьевна, д.м.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией, ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +7(910)404-26-69. E-mail: t\_ivanets@oparina4.ru. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Вторушина Валентина Валентиновна, к.м.н., врач КЛД, врач высшей категории лаборатории клинической иммунологии.

ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +7(916)980-78-95. E-mail: vtorushina@inbox.ru.  
117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

*Инвляева Евгения Владимировна*, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии,  
ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +7(495)438-11-83. E-mail e\_inviyaeva@oparina4.ru.  
117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

*Климов Владимир Анатольевич*, к.м.н., руководитель службы организации медицинской помощи и информационного сервиса,  
ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

*Сухих Геннадий Тихонович*, академик РАН, д.м.н., профессор, директор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +7(495)438-18-00. E-mail: g\_sukhikh@oparina4.ru.  
117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

#### Authors' information:

*Nataliya V. Dolgushina*, Dr. Med. Sci., Deputy Director – Head of the Department of Research Administration, V.I. Kulakov NMRC for OG&P of Minzdrav of Russia.  
Tel.: +7(495)438-49-77. E-mail: n\_dolgushina@oparina4.ru. 4 Oparin str., 117997, Moscow, Russia.

*Liubov V. Krechetova*, Dr. Med. Sci., Head of the Laboratory of Clinical Immunology, V.I. Kulakov NMRC for OG&P of Minzdrav of Russia. Tel.: +7(495)438-11-83.  
E-mail: l\_krechetova@oparina4.ru. 4 Oparin str., 117997, Moscow, Russia.

*Tatiana Yu. Ivanets*, Dr. Med. Sci., Head of the Clinical Diagnostic Laboratory, V.I. Kulakov NMRC for OG & P of Minzdrav of Russia. Tel.: +7(910)404-26-69.  
E-mail: t\_ivanets@oparina4.ru. 4 Oparin str., 117997, Moscow, Russia.

*Valentina V. Vtorushina*, M.D., Ph.D., Allergist-Immunologist at the Laboratory of Clinical Immunology, V.I. Kulakov NMRC for OG&P of Minzdrav of Russia.  
Tel: +7(916)980-78-95. E-mail: vtorushina@inbox.ru. 4 Oparin str., 117997, Moscow, Russia.

*Eugenia V. Inviyaeva*, Ph.D. (bio.sci.), Senior Researcher at the Laboratory of Clinical Immunology, V.I. Kulakov NMRC for OG&P of Minzdrav of Russia.  
Tel: +7(495)438-11-83. E-mail e\_inviyaeva@oparina4.ru. 4 Oparin str., 117997, Moscow, Russia.

*Vladimir A. Klimov*, M.D., Ph.D., Head of the Department of Medical Care Organization, V.I. Kulakov NMRC for OG&P of Minzdrav of Russia.  
4 Oparin str., 117997, Moscow, Russia.

*Gennady T. Sukhikh*, Dr. Med. Sci., Professor, Academician of the RAS, Director of the V.I. Kulakov NMRC for OG&P of Minzdrav of Russia. Tel: +7(495)438-18-00.  
E-mail: g\_sukhikh@oparina4.ru. 4 Oparin str., 117997, Moscow, Russia.