

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

© Коллектив авторов, 2021

Л.В. КРЕЧЕТОВА, Е.В. ИНВИЯЕВА, В.Ф. САДЫКОВ, В.В. ВТОРУШИНА,
Т.Ю. ИВАНЕЦ, Д.Н. СИЛАЧЕВ, А.В. ПЫРЕГОВ, Н.В. ДОЛГУШИНА, Г.Т. СУХИХ

СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ COVID-19

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

Цель. Оценка состояния иммунной системы и сравнение иммунологических показателей у пациентов с разной тяжестью течения COVID-19.

Материалы и методы. В проспективное исследование были включены 62 больных COVID-19. В зависимости от тяжести заболевания пациенты были разделены на 3 группы: группа 1 – 29 человек с легкой формой болезни; группа 2 – 17 человек со среднетяжелой формой COVID-19; группа 3 – 16 человек с тяжелой формой болезни. На 3–7-е сутки от начала заболевания проводили фенотипирование лимфоцитов периферической крови методом проточной цитометрии и определение концентрации цитокинов мультиплексным методом с использованием стандартной 48-плексной тест-системы Bio-Plex Pro™ Human Cytokine Screening (Bio-Rad, США) на проточном лазерном иммуноанализаторе Bio-Plex 200.

Результаты. Было выявлено, что пациенты с тяжелой формой COVID-19 имели более высокий уровень лейкоцитов, нейтрофилов и С-реактивного белка (СРБ), а также низкий уровень относительного и абсолютного содержания лимфоцитов. Из показателей иммунограммы выявлено низкое содержание абсолютного количества CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, Т-лимфоцитов, экспрессирующих активационный маркер HLA-DR (CD3⁺HLA-DR⁺), NK-клеток, а также фагоцитарной активности нейтрофилов; к тому же отмечено изменение 39 из 48 исследованных растворимых факторов в третьей группе.

Заключение. Высокие уровни лейкоцитов, нейтрофилов, СРБ, нейтрофильно-лейкоцитарного индекса, а также низкий уровень относительного и абсолютного содержания лимфоцитов, выраженные изменения иммунологических показателей, системная воспалительная реакция, связанная с высвобождением медиаторов, называемых цитокинами («цитокиновый шторм»), предрасполагают к тяжелой форме течения COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19, коронавирус, тяжесть заболевания, иммунный статус, цитокины.

Вклад авторов. Кречетова Л.В., Силачев Д.Н., Долгушина Н.В.: концепция и дизайн исследования; Инвияева Е.В., Вторушина В.В., Иванец Т.Ю., Садыков В.Ф.: сбор и обработка материала; Кречетова Л.В., Инвияева Е.В.: статистическая обработка данных; Инвияева В.В., Садыков В.Ф.: написание текста; Кречетова Л.В., Пырегов А.В., Сухих Г.Т.: редактирование.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

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

Согласие пациентов на публикацию. Пациент(ы) подписал(и) информированное согласие на публикацию своих данных.

Обмен исследовательскими данными. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку, после одобрения ведущим исследователем.

Для цитирования: Кречетова Л.В., Инвияева Е.В., Садыков В.Ф., Вторушина В.В., Иванец Т.Ю., Силачев Д.Н., Пырегов А.В., Долгушина Н.В., Сухих Г.Т. Состояние иммунной системы у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19. Акушерство и гинекология. 2021; 8: 75-85 <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.8.75-85>

©A group of authors, 2021

L.V. KRECHETOVA, E.V. INVYAEVA, V.F. SADYKOV, V.V. VTORUSHINA,
T.YU. IVANETS, D.N. SILACHEV, A.V. PYREGOV, N.V. DOLGUSHINA, G.T. SUKHIKH

IMMUNE STATUS OF COVID-19 PATIENTS WITH DIFFERENT DISEASE 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 immune status and compare immunological parameters in COVID-19 patients with different disease severity.

Materials and methods. The prospective study included 62 patients with COVID-19. The patients were stratified into three groups based on the disease severity, including mild (group 1, n=29), moderate (group 2, n=17),

and severe (group 3, n=16) forms of COVID-19. On days 3–7 from the onset of the disease, peripheral blood lymphocytes were phenotyped by flow cytometry. Cytokine concentrations were measured using a multiplex immunoassay-standard 48-plex Bio-Plex Pro™ Human Cytokine Screening test system (Bio-Rad, USA) on a flow-based laser immuno-analyzer Bio-Plex 200.

Results. Patients with severe COVID-19 had higher levels of leukocytes, neutrophils, CRP, and lower relative and absolute lymphocyte counts. There were low counts of CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, and T-lymphocytes expressing the activation marker HLA-DR (CD3⁺HLA-DR⁺), NK-cells, and PAN. In group 3, changes in 39 of the 48 investigated soluble factors were observed.

Conclusion. High levels of leukocytes, neutrophils, CRP, neutrophilic-leukocyte index, low levels of absolute and relative lymphocyte counts, pronounced changes in immunological parameters, a systemic inflammatory reaction associated with the release of mediators called cytokines ("cytokine storm") predispose to a severe course of COVID-19.

Keywords: COVID-19, coronavirus, disease severity, immune status, cytokines.

Authors' contributions. Krechetova L.V., Silachev D.N., Dolgushina N.V.: concept and design of the study; Inviyaeva E.V., Vtorushina V.V., Ivanets T.Yu., Sadykov V.F.: data collection and analysis; Krechetova L.V., Inviyaeva E.V.: statistical analysis; Inviyaeva V.V., Sadykov V.F.: manuscript preparation; Krechetova L.V., Pyregov A.V., Sukhikh G.T.: manuscript editing.

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

Financing. The study was conducted with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research within the framework of scientific project No. 20-04-60270.

Patient Consent for Publication. All patients provided informed consent for the publication of their data.

Authors' Data Sharing Statement. The data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author after approval from the principal investigator.

For citation: Krechetova L.V., Inviyaeva E.V., Sadykov V.F., Vtorushina V.V., Ivanets T.Yu., Silachev D.N., Pyregov A.V., Dolgushina N.V., Sukhikh G.T. Immune status of COVID-19 patients with different disease severity. *Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology*. 2021; 8: 75-85 (in Russian) <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.8.75-85>

В декабре 2019 г. в Ухане (Китай) произошла вспышка заболевания (COVID-19), вызванного новой коронавирусной инфекцией (SARS-CoV-2), которая быстро распространилась по всему миру.

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 обширным поражением легких, приводящим к острому респираторному дистресс-синдрому, полиорганной недостаточности и сепсису [1, 2]. Уровень смертности составляет 0,5–3,5% [3].

Значимую роль в развитии тяжелых форм заболевания играет нарушение регуляции иммунного ответа, поэтому раннее выявление маркеров иммунной дисрегуляции может помочь в понимании патогенеза развития тяжелых форм заболевания и разработке методов терапии и профилактики данных осложнений.

Целью исследования было оценить состояние иммунной системы и сравнить различия в иммунологических показателях у пациентов с разной тяжестью течения COVID-19.

Материалы и методы

В проспективное исследование были включены 62 больных 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 от старта заболевания. Критериями исключения были: ВИЧ-инфекция и другие вро-

жденные 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 пациенты были разделены на 3 группы: группа 1 – 29 человек с легкой формой болезни; группа 2 – 17 человек со среднетяжелой формой COVID-19; группа 3 – 16 человек с тяжелой формой болезни.

Критериями легкой формы COVID-19 было выявление РНК SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (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), частота дыхательных движений (ЧДД) >22/мин, одышка при физических нагрузках, сатурация кислорода (SpO₂) <95%; наличие пневмонии по данным компьютерной томографии (КТ) с минимальным или средним объемом поражения легких (КТ 1–2).

Критериями тяжелой формы заболевания было выявление РНК SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР в мазке из ротоглотки в сочетании с каким-либо из следующих клинических проявлений: ЧДД >30/мин; SpO₂ ≤93%; PaO₂/FiO₂ ≤300 мм рт.ст.; снижение

уровня сознания, ажитация; нестабильная гемодинамика (систолическое АД менее 90 мм рт.ст. или диастолическое АД менее 60 мм рт.ст., диурез менее 20 мл/ч); изменения в легких при КТ (рентгенографии), типичные для вирусного поражения (объем поражения значительный или субтотальный; КТ 3–4); qSOFA >2 баллов [4].

Идентификация вируса проводилась с помощью «Набора реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 и подобных SARS-CoV методом ОТ-ПЦР 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-е сутки от начала заболевания производился забор крови из периферической вены и оценка параметров иммунограммы с оценкой общего числа лимфоцитов, анализом субпопуляционного состава лимфоцитов: CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD19⁺, CD3⁺CD56⁺CD16⁺, CD3⁺CD56⁺CD16⁺, CD19⁺CD5⁺, Трег, с оценкой содержания в периферической крови активированных лимфоцитов (CD3⁺HLA-DR⁺, CD3⁺CD25⁺), а также фагоцитарной активности нейтрофилов (ФАН) с расчетом индекса стимуляции (ИС).

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⁺, CD4⁺, CD8⁺), В-клеток (CD19⁺), В1-клеток (CD19⁺CD5⁺), NK-клеток (CD56⁺CD16⁺). Лимфоцитарный гейт, позволяющий исключить из анализа другие клетки крови, выявлялся с помощью mAb к CD45, меченных перидинин-хлорофилл-протеином (PerCP), (Dako, Дания). Для оценки позитивноокрашенных субпопуляций использовались соответствующие FITC- или PE-меченные изотипические IgG.

Трег-клетки с внутриклеточной экспрессией FOXP3 в цельной крови определялись как субпопуляция с фенотипом CD4⁺CD25^{high}CD127^{low/-}, 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⁺-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 (ExBio, Чехия). Тест основан на оценке окисли-

тельного 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 ИС.

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

Забор крови для определения концентрации цитокинов производился на 3–7-е сутки от начала заболевания. Фактор роста фибробластов (FGF basic), Eotaxin, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), интерферон-гамма (IFN- γ), интерлейкины (IL)-1 β , IL-1 α , IL-1 α , IL-2R α , IL-3, IL-12 (p40), IL-16, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, GRO- α , фактор роста гепатоцитов (HGF), IFN- α 2, фактор ингибирования лейкемии (LIF), моноцитарный хемотаксический протеин (MCP-3), IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17A, IP-10, MCP-1, монокин, индуцированный гамма-интерфероном (MIG), фактор роста нервов (β -NGF), фактор стволовых клеток (SCF), фактор роста стволовых клеток (SCGF- β), фактор стромальных клеток (SDF-1 α), макрофагальный белок воспаления (MIP-1 α), MIP-1 β , тромбоцитарный фактор роста (PDGF-BB), хемокин, регулирующий активацию, экспрессируемый и секретируемый нормальными Т-клетками (RANTES), фактор некроза опухоли (TNF)- α , фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), кожный Т-клетки аттрактивирующий хемокин (СТACK), макрофаг ингибирующий фактор (MIF), лиганд, индуцирующий апоптоз, связанный с фактором некроза опухолей (TRAIL), IL-18, колониестимулирующий фактор макрофагов (M-CSF), TNF- β в плазме периферической крови определяли мультиплексным методом с использованием стандартной 48-плексной тест-системы Bio-Plex Pro Human Cytokine Screening (Bio-Rad, США) на проточном лазерном иммуноанализаторе Bio-Plex 200 (Bio-Rad, США) с последующей обработкой полученных результатов с использованием приложения Bio-Plex Manager 6.0 Properties (Bio-Rad, США).

Согласно инструкции производителя тест-системы компании Bio-Rad, для приготовления образцов ЭДТА-плазмы применяли двукратное центрифугирование образцов периферической крови при 1000 g в течение 15 минут при 4°C и 10 000 g в течение 10 минут при 4°C. Образцы плазмы замораживали и хранили до момента проведения анализа при температуре -80°C.

Статистический анализ

Для статистического анализа использовали пакет статистических программ Microsoft Office Excel 2007 и программы MedCalc v16.8. Проверку гипотезы о нормальном распределении количественных переменных осуществляли, используя критерий Шапиро–Уилка. В случае нормального распреде-

ления данные представлены средней величиной и стандартным отклонением ($M (SD)$), в случае отклонения распределения от нормального данные были представлены как медиана и интерквартильный размах ($Me (Q1; Q3)$). Для оценки значимости различий между двумя группами нормально распределенных количественных переменных использовали t -критерий Стьюдента для независимых выборок с неравными дисперсиями. В случае отклонения распределения количественных переменных от нормального с указанной целью использовали U -критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,017$, с учетом поправки Бонферрони для парных сравнений при наличии трех обследуемых групп. Другие случаи использования представления данных и используемых статистических критериев указаны в тексте.

Исследование было одобрено комиссией по этике ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол №4 от 23.04.2020).

Результаты

Отмечено статистически значимое отличие пола, возраста и индекса массы тела (ИМТ). Преобладали лица мужского пола и более старшего возраста в группе с тяжелой формой COVID-19, также в этой группе был выше ИМТ (табл. 1).

Все пациенты 1-й и 2-й групп с клиническими проявлениями COVID-19 находились на амбулаторном лечении и получали тот или иной вид терапии. Наиболее часто назначались антибиотики широкого спектра действия – 32 из 46 человек (69,5%) и препараты низкомолекулярных гепаринов (НМГ) в профилактических дозировках – 17 из 46 человек (36,9%). Пневмония по данным КТ (КТ-1 или КТ-2) была диагностирована только у пациентов во 2-й группе – у 12 (70,6%) человек.

В 3-ю группу были включены пациенты с тяжелым течением заболевания. Важно отметить, что данная группа пациентов характеризовалась высокой гетерогенностью тяжести течения COVID-19 на всем протяжении пребывания в отделении интенсивной терапии. Эта изменчивость состояния проявлялась как в показателях лабораторных анализов, так и, особенно выражено, в клинической картине. В течение одних суток и даже часов клиническая картина у данных пациентов могла значительно изменяться. Из 16 пациентов данной группы 12 (75%)

были мужского пола. Средний возраст пациентов составил $55,4 \pm 11,1$ года, а ИМТ – $31,9 \pm 7,3$ кг/м². Значительно отличалось время пребывания пациентов в отделении интенсивной терапии, варьировало от 4 до 40 дней; в среднем это значение составило 15,5 дня. Исходом заболевания для всех пациентов с тяжелой формой заболевания стали выздоровление и перевод из отделения интенсивной терапии. Все пациенты данной группы имели высокую ЧДД > 30 /мин, снижение уровня $SpO_2 \leq 93\%$ и требовали назначения оксигенотерапии. Режимы вентиляции у пациентов данной группы за время лечения, в связи с изменением клинического состояния, могли меняться неоднократно. При поступлении в отделение интенсивной терапии и первой оценке лабораторных показателей 2 пациента (12,5%) находились на инвазивной вентиляции легких (ИВЛ), 2 пациента (12,5%) – на неинвазивной вентиляции легких (НИВЛ), 8 пациентов (50%) находились на высокопоточной назальной оксигенации, 4 пациента (25%) – на инсуффляции кислорода через лицевую маску с высоким потоком кислорода (15 л/мин). Респираторный индекс PaO_2/FiO_2 варьировал в диапазоне от 105 до 274 мм рт.ст. и в среднем составил 152,5 мм рт.ст. Во время дальнейшего пребывания в отделении интенсивной терапии ИВЛ потребовалась 6 пациентам (36,5%). Снижение уровня сознания наблюдалось у 3 (18,75%) пациентов при поступлении в отделение и у 8 (50%) пациентов за все время лечения в отделении интенсивной терапии. Признаки нестабильной гемодинамики (систолическое АД менее 90 мм рт.ст.) отмечались у 2 (12,5%) пациентов на момент поступления в отделение интенсивной терапии и требовали назначения вазопрессорной поддержки. Стоит отметить, что у 5 (31,25%) пациентов на момент поступления в отделение отмечалось повышенное артериальное давление (систолическое АД выше 140 мм рт.ст). Снижение темпа диуреза (диурез менее 20 мл/ч) было выявлено у 1 (6,25%) пациента. Заместительная почечная терапия и эфферентные методы лечения на данном этапе не проводились ни одному из пациентов. У всех пациентов данной группы при КТ диагностированы изменения в легких, типичные для вирусного поражения: у 5 пациентов – КТ-2, у 9 пациентов – КТ-3, у 2 пациентов – КТ-4. По шкале тяжести течения COVID-19 NEWS2 полученные данные варьировались в диапазоне от 2 баллов, отражающих низкий риск тяжело-

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

Параметры	Группа 1, n=29	Группа 2, n=17	Группа 3, n=16	p-значение
Мужской пол, n, %	4 (13,8%)	3 (17,6%)	12 (75%)	$p_{1-2} > 0,017$ $p_{2-3} = 0,001$ $p_{1-3} < 0,0001$
Возраст, лет, M (SD)	38,5 (12,2)	46,3 (11,5)	55,4 (11,1)	$p_{1-2} > 0,017$ $p_{2-3} > 0,017$ $p_{1-3} < 0,001$
ИМТ, кг/м ² , M (SD)	24,3 (4,4)	29,0 (6,1)	31,9 (7,3)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{2-3} > 0,017$ $p_{1-3} < 0,001$

Примечание. Статистический анализ проводился с применением χ^2 -теста.

го течения, до 9 баллов, указывающих на высокий риск течения заболевания. В среднем этот показатель составил 6 баллов, отражающих средний риск тяжелого течения COVID-19. По шкале qSOFA средний показатель составил 1,3 балла, что указывало на низкий риск тяжелого течения COVID-19 на данном этапе заболевания. Однако по результатам, полученным в ходе расчета шкалы SOFA, данные варьировались в диапазоне от 3 до 6 баллов и в среднем составили 4 балла (смертность при таком значении при первоначальной оценке составляет 20,2%), что характеризует данную группу пациентов, указывая на возможные риски летального исхода. Оценка риска смертности пациентов с тяжелым течением заболевания проводилась с помощью трех наиболее изученных шкал – APACHE-II, SAPS-II, 4C Mortality Score for COVID-19. Прогноз летальности у пациентов данной группы оценивался с помощью шкалы оценки острых физиологических расстройств и хронических нарушений состояния APACHE-II. Полученные данные варьировались от 4 до 15 баллов, в среднем данный показатель составил 7,5 балла (полученный результат соответствует 8% риску внутригоспитальной смертности). Для измерения степени тяжести заболевания у пациентов данной группы при поступлении в отделение интенсивной терапии была проведена оценка по шкале SAPS-II. Полученные данные варьировались от 19 до 46 баллов, в среднем данный показатель составил 26 баллов (полученный результат соответствует 7,2% риску внутригоспитальной смертности). Определение группы риска внутрибольничной смертности проводилось с помощью шкалы 4C Mortality Score for COVID-19, специально разработанной для госпитализированных пациентов с COVID-19. Полученные данные варьировались от 5 до 15 баллов, в среднем данный показатель составил 9 баллов (полученный результат соответствует группе пациентов высокого риска внутрибольничной смертности и составляет 31,4–34,9%), что говорит о тяжелом течении заболевания и высоким

риске летальности у данной группы пациентов. Был зафиксирован один летальный исход в этой группе после перевода в другое лечебное учреждение. Сопутствующие заболевания, такие как ожирение, сахарный диабет, гипертоническая болезнь, были диагностированы у 4/16 (25%), 2/16 (12,5%) и 3/16 (18,75%) пациентов соответственно.

При оценке параметров клинического и биохимического анализа крови было выявлено, что пациенты с тяжелой формой COVID-19 (группа 3) имели более высокие уровни лейкоцитов, нейтрофилов, нейтрофильно-лейкоцитарного индекса (НФ/ЛФ) и С-реактивного белка (СРБ), а также низкий уровень относительного и абсолютного содержания лимфоцитов (табл. 2).

При анализе параметров иммунограммы было выявлено, что у пациентов с тяжелой формой COVID-19 (группа 3) определялось низкое содержание абсолютного количества CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, Т-лимфоцитов, экспрессирующих активационный маркер HLA-DR (CD3⁺HLA-DR⁺), НК-клеток, а также ФАН, ИС (табл. 3). Следует отметить повышение относительного содержания Трег-клеток (табл. 3).

Для оценки клинической значимости выявленных отличий в содержании изученных субпопуляций лимфоцитов в прогнозе развития тяжелых форм COVID-19 проведен ROC-анализ. Результаты его представлены в таблице 4.

Для показателей СРБ, НФ, ЛФ, абсолютное содержание НК-клеток и Т-лимфоцитов (как общего количества, так и субпопуляций и количества Т-лимфоцитов с экспрессией HLA-DR), индекс НФ/ЛФ, ФАН, ИС параметры диагностической значимости оказались лучшими, и поэтому при поступлении в отделение реанимации и интенсивной терапии эти показатели можно использовать как предикторы неблагоприятного исхода заболевания. Все обнаруженные изменения вышеперечисленных показателей иммунограммы указывают на проявление дисфункции иммунной системы,

Таблица 2. Параметры клинического и биохимического анализа крови в зависимости от тяжести течения COVID-19 (M (SD))

Параметры	Группа 1 (n=29)	Группа 2 (n=17)	Группа 3 (n=16)	p-значение
Лейкоциты, x10 ⁹ /л	5,40 (1,32)	4,23 (0,81)	8,73 (3,54)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,002$ $p_{2-3} < 0,001$
Нейтрофилы, %	52,8 (11,2)	48,4 (11,8)	84,0 (9,57)	$p_{1-2} > 0,017$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
Лимфоциты, x10 ⁹ /л	1,90 (0,65)	1,52 (0,29)	0,74 (0,39)	$p_{1-2} = 0,01$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
Лимфоциты, %	35,6 (9,9)	38,4 (12,2)	10,0 (6,1)	$p_{1-2} > 0,017$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
СРБ, мг/л	1,0 (1,3)	9,1 (21,3)	174,5 (60,7)	$p_{1-2} > 0,017$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
НФ/ЛФ, отн. ед.	1,7 (0,8)	1,5 (0,7)	13,4 (10,4)	$p_{1-2} > 0,017$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$

которая может привести к развитию системного воспалительного ответа [5].

Для подтверждения полученного результата у больных с тяжелой и среднетяжелой формами заболевания оценивали содержание про-, противовоспалительных цитокинов, хемокинов и ростовых факторов. Данные представлены в таблице 5, на рисунке.

Цитокиновый профиль плазмы периферической крови в группе больных с тяжелой формой COVID-19 характеризовался изменением 39 из 48 исследованных растворимых факторов, за исключением STACK, GRO- α , SDF-1 α , GM-CSF, IL-13, MIF, RANTES, TNF- β , IL-9. Обращает на себя внимание высокий уровень провоспалительных цитокинов IL-6, IL-12p40, IL-16 и иммунорегуляторного IL-10,

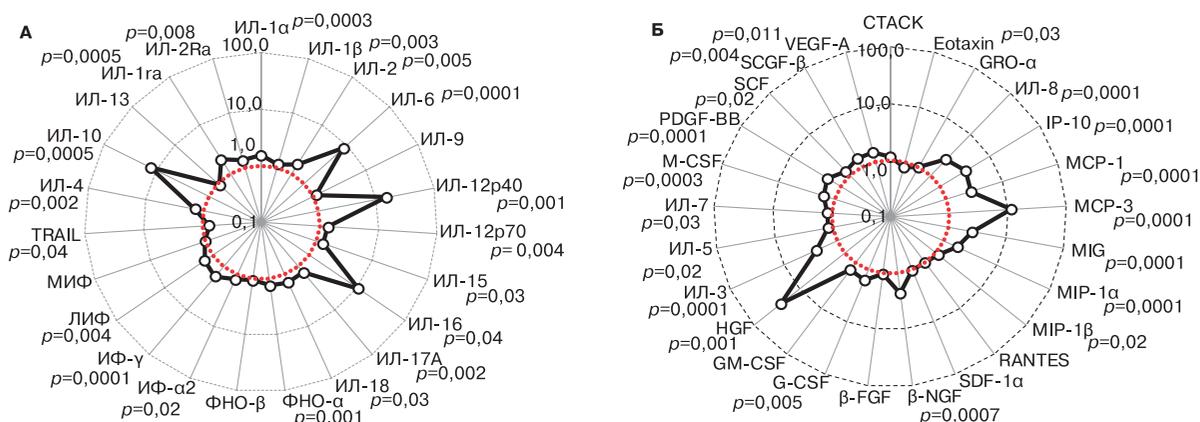
Таблица 3. Параметры иммунограммы в зависимости от тяжести течения COVID-19 (M (SD))

Параметры	Группа 1 (n=29)	Группа 2 (n=17)	Группа 3 (n=16)	p-значение
CD3 ⁺ , абс.	1,44 (0,57)	1,14 (0,23)	0,49 (0,26)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$
CD3 ⁺ , %	74,6 (8,0)	75,4 (7,1)	64,9 (10,4)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}=0,003$; $p_{2-3}=0,002$
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , абс.	0,84 (0,33)	0,73 (0,21)	0,31 (0,18)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	43,7 (9,9)	47,6 (8,4)	40,4 (11,3)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , абс.	0,54 (0,28)	0,37 (0,06)	0,17 (0,11)	$p_{1-2}=0,005$; $p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	27,5 (7,3)	25,4 (5,5)	22,8 (7,5)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
CD19 ⁺ , абс.	0,15 (0,07)	0,12 (0,03)	0,11 (0,11)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
CD19 ⁺ , %	8,6 (3,0)	8,2 (1,9)	14,4 (6,4)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}=0,003$; $p_{2-3}=0,002$
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ , абс.	0,20 (0,09)	0,18 (0,12)	0,12 (0,08)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}>0,017$
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ , %	11,6 (5,5)	11,5 (6,9)	18,2 (0,1)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ , абс.	0,05 (0,03)	0,05 (0,05)	0,05 (0,07)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ , %	2,7 (2,2)	3,2 (2,8)	5,3 (2,8)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
CD19 ⁺ CD5 ⁺ , абс.	0,015 (0,01)	0,010 (0,004)	0,01 (0,03)	$p_{1-2}=0,007$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
CD19 ⁺ CD5 ⁺ , %	0,8 (0,5)	0,7 (0,2)	1,4 (4,0)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.	0,08 (0,04)	0,06 (0,03)	0,04 (0,02)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}=0,006$
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	3,8 (1,6)	4,3 (2,1)	5,3 (2,8)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
CD3 ⁺ CD25 ⁺ , абс.	0,060 (0,08)	0,043 (0,02)	0,03 (0,02)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
CD3 ⁺ CD25 ⁺ , %	2,8 (2,9)	2,8 (2,3)	3,6 (2,4)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
CD25 ⁺ , абс.	0,065 (0,08)	0,048 (0,02)	0,03 (0,02)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
CD25 ⁺ , %	3,3 (3,2)	3,2 (1,5)	4,0 (2,4)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
Трег, абс.	0,13 (0,07)	0,10 (0,04)	0,06 (0,04)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}>0,017$ $p_{2-3}>0,017$
Трег, %	6,6 (2,5)	6,9 (2,5)	9,0 (5,0)	$p_{1-2}>0,017$; $p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}=0,004$
ФАН	96,3 (3,5)	91,2 (4,8)	85,7 (8,6)	$p_{1-2}=0,007$; $p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}>0,017$
ИС	47,5 (11,2)	42,4 (13,1)	18,7 (4,4)	$p_{1-2}<0,001$; $p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}<0,001$

Таблица 4. Параметры диагностической значимости лабораторных показателей для прогноза тяжелого течения COVID-19

Показатель	Специфичность, %	Чувствительность, %	Пороговое значение 95% доверительного интервала	Прогностическая ценность отрицательного результата, %	Прогностическая ценность положительного результата, %	AUC, p-value
CD3 ⁺ , абс.	93,1	87,5	≤0,78	93,1	87,5	0,962, p<0,0001
CD3 ⁺ , %	62,1	87,5	≤74,8	90,0	56,0	0,781, p=0,0001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , абс.	86,2	93,7	≤0,56	96,1	79,0	0,936, p<0,0001
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , абс.	89,7	87,5	≤0,25	92,9	82,4	0,941, p<0,0001
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , абс.	86,2	75,0	≤0,04	86,2	75,0	0,835, p<0,0001
Треп, %	58,6	75,0	>6,8	80,9	50,0	0,640, p=0,11
CD3 ⁺ CD56,16 ⁺ , абс.	100	100	≤0,29	100	100	1,00, p<0,0001
НФ, %	100	87,5	>70,4	93,5	100	0,984, p<0,0001
ЛФ, %	100	100	≤1,86	100	100	1,00, p<0,0001
НФ/ЛФ	93,1	100	>2,9	100	88,9	0,992, p<0,0001
ФАН	82,8	86,7	≤94	92,3	72,3	0,887, p<0,0001
ИС	100	100	≤28	100	100	1,00, p<0,0001
СРБ, мг/л	100	100	>5,7	100	100	1,00, p<0,0001

Рисунок. Растворимые факторы в сыворотке пациентов с тяжелой и среднетяжелой формой течения COVID-19
 Данные представлены как соотношения медиан содержания исследованных белков в сыворотке пациентов с тяжелым течением COVID-19 к медиане содержания в сыворотке пациентов со среднетяжелым течением инфекции.
 А – про- и противовоспалительные цитокины. Б – хемокины и факторы роста. Шкала логарифмическая. Красным пунктиром обозначен уровень равенства значений.



хемокинов MCP-1, MCP-3, MIG, MIP-1α, MIP-β, IP-10, IL-8 и практически всех исследованных факторов роста (G-CSF, M-CSF, HGF, PDGF, SCF, VEGF-A, β-NGF), что и отражает развитие у пациентов с тяжелой формой заболевания феномена, названного «цитокиновым штормом», связанного с разрушением различных популяций клеток в организме и обуславливающего разнообразие и тяжесть клинических симптомов, приводящих к неблагоприятным исходам.

Таким образом, более высокие уровни лейкоцитов, нейтрофилов, СРБ, НФ/ЛФ, а также низкий уровень относительного и абсолютного содержания

лимфоцитов, выраженные изменения иммунологических показателей, системная воспалительная реакция, связанная с высвобождением медиаторов («цитокиновый шторм»), предрасполагают к тяжелой форме течения COVID-19.

Обсуждение

Цитокины и хемокины играют важную роль в патогенезе вирусных инфекций. Нейтрофилы также играют важную роль во врожденном иммунитете, который является первой линией защиты от вирусных инфекций, поэтому дисбаланс или гиперреак-

Таблица 5. Содержание растворимых иммунорегуляторных молекул в периферической крови пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19 (Ме (Q1; Q3))

Группа белков	Наименование белка	Концентрация белка (пг/мл) в группах с течением COVID-19		p-значение
		среднетяжелым	тяжелым	
Цитокины	IL-1 α	16,9 (14,5;20,3)	25,9 (20,5;34,5)	0,0003
	IL-1 β	5,9 (3,2;10,1)	6,9 (4,0;14,3)	0,003
	IL-1ra	255 (209;322)	510 (339;1140)	0,0005
	IL-2ra	69,4 (56,4;78,8)	95,6 (78,0;144,1)	0,008
	IL-2	4,2 (3,6;5,2)	6,5 (4,8;9,8)	0,005
	IL-4	1,1 (1,0;1,5)	1,6 (1,4;2,1)	0,002
	IL-6	3,8 (2,8;6,8)	31,4 (14,7;41,2)	0,0001
	IL-9	69,9 (60,2;80,4)	79,1 (71,2;106,5)	0,1
	IL-10	0,3 (0,1;2,6)	4,0 (3,1;7,3)	0,0005
	IL-12p40	3,2 (2,9;3,4)	47,8 (9,4;105,3)	0,001
	IL-12p70	3,9 (3,4;4,4)	5,4 (4,2;7,8)	0,004
	IL-13	6,2 (2,4;8,2)	5,7 (4,1;12,0)	0,82
	IL-15	2,6 (2,4;3,0)	3,4 (2,6;73,8)	0,03
	IL-16	1,1 (1,0;8,3)	11,6 (3,3;34,0)	0,04
	IL-17A	8,3 (7,3;9,3)	11,3 (9,2;13,9)	0,002
	IL-18	45,9 (36,5;64,2)	66,0 (52,5;86,1)	0,03
	IFN- α 2	10,2 (9,0;11,7)	13,0 (10,2;15,2)	0,02
	IFN- γ	13,0 (11,8;14,9)	22,1 (18,6;29,7)	0,0001
	TNF α	26,1 (23,8;30,5)	35,0 (29,8;39,0)	0,001
	TNF β	63,3 (60,5;68,2)	69,0 (63,6;77,8)	0,08
LIF	41,1 (35,2;50,6)	61,5 (52,7;74,7)	0,004	
MIF	828 (684;1198)	846 (574;1348)	0,9	
TRAIL	38,2 (31,8;55,6)	29,4 (25,4;37,7)	0,035	
Хемокины	CTACK	271 (197;356)	305 (204;477)	0,6
	Eotaxin	25,3 (21,4;38,5)	19,9 (14,3;26,1)	0,03
	GRO- α	165 (137;197)	167 (141;236)	0,06
	IL-8	4,1 (3,1;4,7)	9,8 (7,6;11,4)	0,0001
	IP-10	507 (281;783)	1661 (1068;2166)	0,0001
	MCP-1	9,3 (6,9;13,2)	26,3 (17,4;36,8)	0,0001
	MCP-3	0,5 (0,3;0,8)	5,5 (3,1;8,1)	0,0001
	MIG	123 (86;148)	314 (235;619)	0,0001
	MIP-1 α	1,0 (0,9;1,2)	1,8 (1,5;2,5)	0,0001
	MIP-1 β	37,8 (36,2;40,5)	43,5 (40,1;49,6)	0,016
	RANTES	3394 (2836;4050)	3356 (2735;4637)	0,9
	SDF-1 α	314 (282;381)	327 (250;450)	0,65

Продолжение таблицы 5

Группа белков	Наименование белка	Концентрация белка (пг/мл) в группах с течением COVID-19		p-значение
		среднетяжелым	тяжелым	
Факторы роста	β-NGF	0,5 (0,3;0,6)	1,3 (0,7;1,6)	0,0007
	β-FGF	41,8 (38,2;44,7)	43,3 (41,8;52,0)	0,015
	G-CSF	45,3 (39,1;62,1)	72,3 (53,0;92,0)	0,005
	GM-CSF	2,6 (1,9;4,1)	3,6 (2,2;5,9)	0,3
	HGF	190 (154;330)	493 (378;738)	0,001
	IL-3	0,4 (0,3;0,6)	0,9 (0,7;1,3)	0,0001
	IL-5	0,17 (0,15;0,19)	0,20 (0,19;3,60)	0,02
	IL-7	16,7 (13,4;18,3)	19,5 (17,2;29,6)	0,03
	M-CSF	22,7 (17,5;26,4)	34,7 (28,0;46,1)	0,0003
	PDGF-BB	718 (441;1466)	1303 (851;1943)	0,0001
	SCF	29,6 (26,3;34,8)	37,5 (29,9;46,2)	0,02
	SCGF-β	40217 (36463;54166)	58841 (51257;68867)	0,004
	VEGF-A	107 (84;145)	159 (118;212)	0,01

Примечание. Значимость различий измеренных показателей оценивали методом Манна–Уитни. Различия значимы при $p < 0,05$.

ция иммунной системы может привести к иммунопатологии [6–8]. Хотя нет прямых исследований участия провоспалительных цитокинов и хемокинов в развитии патологии легких во время инфекций, вызванных другими штаммами коронавируса с формированием SARS- и MERS-синдромов (2002 и 2012 гг.), есть данные о высокой роли гипервоспалительных реакций в патогенезе острого респираторного синдрома у пациентов с тяжелым течением заболеваний. Высокие сывороточные уровни провоспалительных цитокинов (IFN-γ, IL-1, IL-6, IL-12 и TGFβ) и хемокинов (CCL2, CXCL10, CXCL9 и IL-8) были обнаружены у пациентов с SARS с тяжелым течением заболевания по сравнению с уровнем у пациентов с неосложненным течением ОРВИ [9–12], и, напротив, эти пациенты имели очень низкие уровни противовоспалительного цитокина IL-10 [9]. В дополнение к провоспалительным цитокинам и хемокинам, у лиц с летальным исходом атипичной пневмонии наблюдались повышенные уровни IFN (IFN-α и IFN-γ) и IFN-стимулированных генов (ISG; CXCL10 и CCL-2), по сравнению со здоровыми людьми из контрольной группы или людьми с заболеванием легкой/средней степени тяжести [13–16]. Эти результаты впервые позволили предположить возможную роль IFN и ISG в иммунопатогенезе SARS у людей. Следовательно, нарушение регуляции и/или увеличение цитокиновых и хемокиновых ответов со стороны SARS-CoV-инфицированных дендритных клеток и макрофагов может играть важную роль в патогенезе SARS. Изменение ФАН характеризуется продукцией нейтрофилами активных форм кислорода, то есть окислительным взрывом и ее интенсивностью, выражающейся в ИС, что может являть-

ся индикатором снижения устойчивости организма к инфекционно-воспалительным агентам. ФАН 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 [17]. 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. Кроме того, внеклеточные ловушки нейтрофилов, внеклеточные сети, высвобождаемые нейтрофилами, могут способствовать высвобождению цитокинов и вносить вклад в формирование «цитокинового шторма» при данном заболевании [18].

Наше исследование подтвердило, что снижение ФАН, ИС, а также нейтрофилия и развитие лимфопении характерны для пациентов с тяжелой формой заболевания, что может указывать на высокую интенсивность воспалительного процесса и высокую степень поражения иммунной системы вирусной инфекцией у пациентов с тяжелым течением заболевания. Поэтому такие показатели иммунограммы, как абсолютное содержание Т-лимфоцитов, субпопуляции Т-клеток,

НК-клеток, ФАН, ИС и НФ/ЛФ могут являться надежными прогностическими параметрами развития тяжелых форм COVID-19 [19, 20].

При анализе субпопуляционного состава лимфоцитов обращает на себя внимание снижение показателей Т-клеточного звена иммунитета при увеличенном содержании Т-рег-клеток с естественной регуляторной активностью. Последнее позволяет предположить формирование дисбаланса иммунной системы, что, наряду с развитием гипервоспалительных реакций, проявляющихся увеличением СРБ, снижением содержания НК-клеток и одновременно «цитокиновым штормом», при котором наблюдается необычно высокая продукция цитокинов, запускающая иммунопатологические реакции, отражает дисрегуляцию иммунного ответа у больных с SARS-CoV-2 [5, 21]. В работе Murakami M., Kamimura D., Hirano T. [22] предложен потенциальный механизм цитокинового шторма, связанный с активацией через сигнальные пути NF- κ B и STAT3 продукции различных провоспалительных цитокинов и хемокинов, следствием которой являются их плеiotропные эффекты на клетки приобретенного и врожденного иммунитета: в совокупности ослабление Т-клеточного звена иммунитета в ответе на SARS-CoV-2 и неконтролируемые нарушения воспалительных ответов врожденной иммунной системы на SARS-CoV-2 приводят к «цитокиновому шторму», что согласуется с результатами, полученными в данной работе.

Заключение

Обобщая изложение результатов исследования состояния иммунной системы у пациентов с различной тяжестью течения COVID-19, следует заключить, что выявленные клинико-лабораторные отличия между различными клиническими формами COVID-19, в том числе параметры иммунограммы, включая цитокины, могут быть предикторами развития тяжелых форм инфекции и использоваться в клинической практике для прогноза развития заболевания. Неконтролируемая системная воспалительная реакция, выражающаяся в развитии «цитокинового шторма», лежит в основе неблагоприятных исходов заболевания, поэтому перспективы лечения могут быть связаны с использованием иммуномодулирующей терапии и антагонистов цитокинов.

Литература/References

- Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.Q., He J.X. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(18): 1708-20. <https://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>.
- 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).
- Wolfel R., Corman V.M., Guggemos W., Seilmaier M., Zange S., Muller M.A., Niemeyer D. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020; 581(7809): 465-70. <https://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>.
- Министерство здравоохранения Российской Федерации. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 11 (07.05.2021). [Temporary guidelines "Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19) Version 11" (approved by the Ministry of Health of the Russian Federation on May 7, 2021 1. (in Russian)]. <https://base.garant.ru/400738625/>.
- 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>.
- Channappanavar R., Fehr A.R., Vijay R., Mack M., Zhao J., Meyerholz D.K., Perlman S. Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice. *Cell Host Microbe.* 2016; 19(2): 181-93. <https://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2016.01.007>.
- Davidson S., Maini M.K., Wack A. Disease-promoting effects of type I interferons in viral, bacterial, and coinfections. *J. Interferon Cytokine Res.* 2015; 35(4): 252-64. <https://dx.doi.org/10.1089/jir.2014.0227>.
- Shaw A.C., Goldstein D.R., Montgomery R.R. Age-dependent dysregulation of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2013; 13(12): 875-87. <https://dx.doi.org/10.1038/nri3547>.
- Chien J.Y., Hsueh P.R., Cheng W.C., Yu C.J., Yang P.C. Temporal changes in cytokine/chemokine profiles and pulmonary involvement in severe acute respiratory syndrome. *Respirology.* 2006; 11(6): 715-22. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1843.2006.00942.x>.
- Wang C.H., Liu C.Y., Wan Y.L., Chou C.L., Huang K.H., Lin H.C., Kuo H.P. Persistence of lung inflammation and lung cytokines with high-resolution CT abnormalities during recovery from SARS. *Respir. Res.* 2005; 6(1): 42. <https://dx.doi.org/10.1186/1465-9921-6-42>.
- Wong C.K., Lam C.W.K., Wu A.K.L., Ip W.K., Lee N.L.S., Chan I.H.S., Sung J.J.Y. Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. *Clin. Exp. Immunol.* 2004; 136(1): 95-103. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2004.02415.x>.
- Zhang Y., Li J., Zhan Y., Wu L., Yu X., Zhang W. et al. Analysis of serum cytokines in patients with severe acute respiratory syndrome. *Infect. Immun.* 2004; 72(8): 4410-5. <https://dx.doi.org/10.1128/IAI.72.8.4410-4415.2004>.
- Cameron M.J., Bermejo-Martin J.F., Danes A., Muller M.P., Kelvin D.J. Human immunopathogenesis of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Virus Res.* 2008; 133(1): 13-9. <https://dx.doi.org/10.1128/IAI.72.8.4410-4415.2004>.
- Cameron M.J., Ran L., Xu L., Danesh A., Bermejo-Martin J.F., Cameron C.M. et al. Interferon-mediated immunopathological events are associated with atypical innate and adaptive immune responses in patients with severe acute respiratory syndrome. *J. Virol.* 2007; 81(16): 8692-706. <https://dx.doi.org/10.1128/JVI.00527-07>.
- Huang K., Su I.J., Theron M., Wu Y.C., Lai S.K., Liu C.C., Lei H.Y. An interferon- γ -related cytokine storm in SARS patients. *J. Med. Virol.* 2005; 75(2): 185-94. <https://dx.doi.org/10.1002/jmv.20255>.
- Theron M., Huang K.J., Chen Y.W., Liu C.C., Lei H.Y. A probable role for IFN- γ in the development of a lung immunopathology in SARS. *Cytokine.* 2005; 32(1): 30-8. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2005.07.007>.
- 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>.
- Hussman J.P. Cellular and molecular pathways of COVID-19 and potential points of therapeutic intervention. *Front. Pharmacol.* 2020; 11: 1169. <https://dx.doi.org/10.3389/fphar.2020.01169>.
- Долгушина Н.В., Кречетова Л.В., Иванец Т.Ю., Вторушина В.В., Инвиева Е.В., Климов В.А., Сухих Г.Т. Влияние иммунного статуса на тяжесть течения COVID-19. *Акушерство и гинекология.* 2020; 9: 129-37. [Dolgushina N.V., Krechetova L.V., Ivanets T.Yu., Vtorushina V.V., Inviyeva E.V., Klimov V.A., Sukhikh G.T. The impact of the immune status on COVID-19 severity. *Obstetrics and Gynecology.* 2020; 9: 129-37. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.9.129-137>.

20. Liu J., Liu Y., Xiang P., Pu L., Xiong H., Li C. et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *J. Transl. Med.* 2020; 18(1): 206. <https://dx.doi.org/10.1186/s12967-020-02374-0>.
21. Wang F., Nie J., Wang H., Zhao Q., Xiong Y., Deng L. et al. Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 pneumonia. *J. Infect. Dis.* 2020; 221(11): 1762-9. <https://dx.doi.org/10.1093/infdis/jiaa150>.
22. Murakami M., Kamimura D., Hirano T. Pleiotropy and specificity: insights from the interleukin 6 family of cytokines. *Immunity.* 2019; 50(4): 812-31. <https://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.027>.

Поступила 16.06.2021

Принята в печать 05.07.2021

Received 16.06.2021

Accepted 05.07.2021

Сведения об авторах:

Кречетова Любовь Валентиновна, д.м.н., заведующая лабораторией клинической иммунологии, ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +7(495)438-11-83. e-mail: l_krechetova@oparina4.ru. ORCID: 0000-0001-5023-3476. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Ивняева Евгения Владимировна, к.б.н., с.н.с. лаборатории клинической иммунологии, ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +7(495)438-11-83. E-mail: e_inviyaeva@oparina4.ru. ORCID: 0000-0001-9878-3637. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Садьков Валентин Фидальевич, врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации, ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. E-mail: v_sadykov@oparina4.ru. ORCID: 0000-0002-3511-5292. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Вторушина Валентина Валентиновна, к.м.н., врач лаборатории клинической иммунологии, ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +7(495)438-11-83. E-mail: v_vtorushina@oparina4.ru. ORCID: 0000-0002-8406-3206. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Иванец Татьяна Юрьевна, д.м.н., заведующий клинико-диагностической лабораторией, ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +7(910)404-26-69. E-mail: t_ivanets@oparina4.ru. ORCID: 0000-0002-7990-0276. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Силачев Денис Николаевич, д.б.н., заведующий лабораторией клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. E-mail: d_silachev@oparina4.ru. ORCID: 0000-0003-0581-9755. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Пырегов Алексей Викторович, д.м.н., профессор, директор института анестезиологии-реаниматологии и трансфузиологии, ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Долгушина Наталья Витальевна, д.м.н., профессор, заместитель директора – руководитель департамента организации научной деятельности, ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +7(495)438-49-77. E-mail: n_dolgushina@oparina4.ru. ORCID: 0000-0001-1116-138X. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Сухих Геннадий Тихонович, академик РАН, д.м.н., директор ФГБУ «НМИЦ АГП им. 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:

Lubov V. Krechetova, Dr. Med. Sci., Head of the Laboratory of Clinical Immunology, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. Tel.: +7(495)438-11-83. E-mail: l_krechetova@oparina4.ru. ORCID: 0000-0001-5023-3476. 117997, Russia, Moscow, Oparina str., 4.

Eugenia V. Inviyaeva, Ph.D. (bio.sci.), Senior Researcher at the Laboratory of Clinical Immunology, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. Tel: +7(495)438-11-83. E-mail: e_inviyaeva@oparina4.ru. ORCID: 0000-0001-9878-3637. 117997, Russia, Moscow, Oparina str., 4.

Valentin F. Sadykov, Anesthesiologist-Intensivist at the Department of Anesthesiology and Critical Care, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. E-mail: v_sadykov@oparina4.ru. ORCID: 0000-0002-3511-5292. 117997, Russia, Moscow, Oparina str., 4.

Valentina V. Vtorushina, Ph.D., Immunologist at the Laboratory of Clinical Immunology, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. Tel.: +7(495)438-11-83. E-mail: v_vtorushina@oparina4.ru. ORCID: 0000-0002-8406-3206. 117997, Russia, Moscow, Oparina str., 4.

Tatiana Yu. Ivanets, Dr. Med. Sci., Head of the Clinical Diagnostic Laboratory, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Healthcare of the Russian Federation. Tel.: +7(495)438-25-66. E-mail: t_ivanets@oparina4.ru. ORCID: 0000-0002-7990-0276. 4 Oparin str., 117997, Moscow, Russia.

Denis N. Silachev, Dr. Bio. Sci., Head of the Cell Technologies Laboratory, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. E-mail: d_silachev@oparina4.ru. ORCID: 0000-0003-0581-9755. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

Aleksey V. Pyregov, Dr. Med. Sci., Professor, Director of the Institute of Anesthesiology, Intensive Care and Transfusiology, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. E-mail: a_pyregov@oparina4.ru. ORCID: 0000-0001-8382-9671. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

Nataliya V. Dolgushina, Dr. Med. Sci., Professor, Deputy Director – Head of the Department of Research Research and Development, V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. Tel: +7(495)438-49-77. E-mail: n_dolgushina@oparina4.ru. ORCID: 0000-0003-1116-138X. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

Gennady T. Sukhikh, Dr. Med. Sci., Professor, Academician of the RAS, Director of the V.I. Kulakov NMRC for OG&P, Ministry of Health of Russia. Tel.: +7(495)438-18-00. E-mail: g_sukhikh@oparina4.ru. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.