

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Казанский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

*На правах рукописи*

**ЕВДОКИМОВА АРИНА ЭДУАРДОВНА**

**ПРИЧИНЫ И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЛИМФОПЕНИИ ПРИ  
КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19**

3.1.22. Инфекционные болезни

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научные руководители:  
доктор медицинских наук,  
доцент Х.С. Хаертынов;  
доктор медицинских наук,  
доцент И.С. Рагинов

Казань – 2026

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                                                        |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ВВЕДЕНИЕ .....                                                                                                         | 4   |
| ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....                                                                                         | 13  |
| 1.1 Клинико-лабораторные проявления тяжелых форм коронавирусной инфекции COVID-19 .....                                | 13  |
| 1.2 Иммунный ответ при COVID-19 .....                                                                                  | 16  |
| 1.3 Лимфопения при COVID-19. Причины развития .....                                                                    | 24  |
| 1.4 Предикторы летальности при COVID-19 .....                                                                          | 33  |
| 1.5 Лимфопения как предиктор тяжести COVID-19 и летальности .....                                                      | 40  |
| ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ .....                                                                                        | 43  |
| 2.1 Дизайн исследования. Общая характеристика пациентов с COVID-19 ...                                                 | 43  |
| 2.1.1 Характеристика пациентов для проведения специфических лабораторных методов исследования .....                    | 47  |
| 2.2 Методы исследования и обработки результатов .....                                                                  | 48  |
| 2.2.1 Лабораторные и инструментальные методы исследования .....                                                        | 49  |
| 2.2.2 Морфологические исследования .....                                                                               | 50  |
| 2.2.3 Методы статистической обработки данных .....                                                                     | 51  |
| ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....                                                                      | 53  |
| 3.1 Анализ клинико-лабораторных проявлений COVID-19 .....                                                              | 53  |
| 3.2 Частота лимфопении у пациентов, госпитализированных с COVID-19 .....                                               | 57  |
| 3.3 Цитокиновый профиль пациентов с COVID-19 .....                                                                     | 65  |
| 3.4 Влияние воспаления на выраженность лимфопении .....                                                                | 69  |
| 3.5 Изучение выраженности апоптоза лимфоцитов крови у пациентов с COVID-19 .....                                       | 71  |
| 3.6 Определение выраженности лимфоцитарной инфильтрации тканей легких и селезенки пациентов, умерших от COVID-19 ..... | 77  |
| 3.7 Частота развития бактериальных, грибковых и герпесвирусных инфекций у пациентов с COVID-19 .....                   | 93  |
| 3.8 Предикторы летальности при коронавирусной инфекции COVID-19 .....                                                  | 101 |

|                                              |     |
|----------------------------------------------|-----|
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....                             | 110 |
| ВЫВОДЫ .....                                 | 120 |
| ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....               | 122 |
| ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ..... | 122 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....                      | 124 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....                       | 127 |
| СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА .....       | 158 |

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Пандемия коронавирусной инфекции (англ. coronavirus disease 2019, COVID-19) сопровождалась высокой частотой развития тяжелого течения заболевания и значительной летальностью [57]. За годы пандемии COVID-19 в мире заболело более 6,5 млрд человек и более 7 млн погибло [276]. Тяжелое течение COVID-19 ассоциировалось с развитием диффузного альвеолярного поражения легких (ДАП), которое проявлялось развитием острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) [82]. ОРДС и тромбозы легочных сосудов были основными причинами летальных исходов у пациентов с COVID-19 [277]. Показатели смертности от COVID-19 значительно варьировали в разных странах: в Германии и во Франции он составил 0,4%, в США – 1,1%, в Российской Федерации – 1,8%, в Мексике – 4,5%, в Перу – 4,9% [140].

Уже в начале пандемии COVID-19 было установлено, что ключевыми факторами риска развития тяжелого течения заболевания и неблагоприятного исхода были: возраст пациентов старше 60 лет, наличие коморбидных состояний – сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета, ожирения, хронических заболеваний легких и почек, иммунодефицитных состояний [244]. Однако, ключевую роль в формировании тяжести COVID-19 играла чрезмерная активация клеток врожденного иммунитета, характеризовавшаяся повышением в крови различных провоспалительных цитокинов и других маркеров воспаления – нейтрофилов, С-реактивного белка (СРБ), ферритина [35, 97]. Частым гематологическим отклонением у пациентов с COVID-19 было снижение в крови числа лимфоцитов [7, 113]. Лимфопения развивалась, в среднем, у 63% пациентов с COVID-19 [84], в т.ч. в 72-82,1% случаев при тяжелом течении заболевания [186]. COVID-19 является одной из немногих вирусных инфекций, сопровождающихся лимфопенией. Среди вирусных инфекций,

характеризующихся развитием лимфопении, наиболее известной и распространенной является инфекция, вызванная вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекция). Как известно, ключевая причина лимфопении при ВИЧ-инфекции – репликация вируса в CD4-лимфоцитах, результатом которой является постепенное (длящееся годами) снижение числа лимфоцитов в периферической крови [9]. Итогом является формирование вторичного иммунодефицита, характеризующегося развёртыванием клиники различных оппортунистических инфекций [9]. При COVID-19, в отличие от ВИЧ-инфекции, не происходит репликации коронавируса в лимфоцитах, а снижение их количества в крови отмечается уже в начальном периоде поражения легких. При этом, не совсем ясно, происходит ли формирование иммунодефицита у пациентов с COVID-19 и лимфопенией. Поэтому, представляет интерес установление причины (возможно, она не одна), приводящей к снижению числа лимфоцитов в периферической крови у пациентов с COVID-19. Как известно, лимфопения при инфекционных заболеваниях ассоциируется с неэффективностью адаптивного иммунитета, ключевыми функциями которого является формирование противоинфекционного иммунитета, иммунологической памяти и элиминация возбудителя [163, 75]. Продолжительная и выраженная лимфопения у пациентов с COVID-19 может стать причиной развития вторичных инфекций (бактериальных, вирусных, грибковых) [38, 14, 118, 257], а также повлиять на исход заболевания. Какова глубина и продолжительность лимфопении у пациентов с COVID-19 и отражает ли снижение числа лимфоцитов в крови формирование иммунодефицита? Или это транзиторное состояние, не имеющее клинического значения? Ответы на эти вопросы крайне актуальны для практического здравоохранения и представляют значительный научный интерес. Поэтому, представляется актуальным проведение исследований, направленных на установление основных причин и клинического значения лимфопении у пациентов с COVID-19. С этой целью и было организовано данное исследование.

### **Степень разработанности темы исследования**

Различными авторами проведены исследования по изучению частоты и тяжести лимфопении при коронавирусной инфекции COVID-19 [109, 186, 188]. Отмечается ассоциация между тяжестью заболевания и лимфопенией. Однако, нет работ по оценке влияния на выраженность лимфопении объема поражения легких при COVID-19.

Исследований причин снижения числа лимфоцитов в периферической крови при COVID-19 предпринято достаточно много. Были предположены несколько механизмов, способных привести к лимфопении у пациентов с COVID-19 – гибель лимфоцитов, вызванная репликацией SARS-CoV-2, процессами апоптоза и пироптоза, перераспределение лимфоцитов вследствие их миграции в легочную ткань и угнетение лимфопоэза [191]. Возможно лимфопения – результат комплекса, развивающихся при COVID-19 патологических процессов? Ясности в ответе на этот вопрос нет, так как работы, касающиеся определения механизмов лимфопении, в основном, ограничивались проведением либо клинико-лабораторных, либо патоморфологических исследований. При этом, исследования по оценке содержания в легочной ткани и органах иммунной системы лимфоцитов носят, в основном, описательный характер. Комплексных исследований, объединивших проведение клинико-лабораторных и патоморфологических исследований, направленных на изучение причин лимфопении, в литературе нет. Еще одной вероятной причиной снижения числа лимфоцитов в крови может быть малоизученный потенциальный механизм - потребление их в процессе тромбообразования. Публикаций, целенаправленно рассматривающих эту гипотезу, в специальной литературе не обнаружено.

Один из результатов развивающейся лимфопении у пациентов с COVID-19 – увеличение риска развития вторичных инфекций. У пациентов с COVID-19 увеличивается риск развития мукормикоза [14, 38], инфекции, обусловленной вирусом Эпштейна-Барр [118], бактериальных инфекций системы кровотока

[257]. В исследовании Ripa M. и коллег было показано, что риск развития вторичных бактериальных инфекций возрастает у пациентов с COVID-19, находящихся на искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и при снижении числа лимфоцитов в периферической крови менее  $0,7 \times 10^9/\text{л}$  [257]. Однако в опубликованных работах отсутствует стратификация частоты вторичных инфекций по степени выраженности лимфопении; не проведена оценка независимого прогностического вклада лимфопении в развитие бактериальных, грибковых и вирусных осложнений.

Различными авторами показано, что лимфопения является значимым предиктором неблагоприятного исхода у пациентов с COVID-19 [158, 276]. В основном эти выводы сделаны на результатах монофакторного анализа. Целесообразно проведение многофакторного анализа, который учитывал бы прогностическую роль коморбидных факторов, тяжести COVID-19, выраженность воспалительной реакции и степень выраженности лимфопении.

Изучение причин снижения числа лимфоцитов в крови у пациентов с COVID-19 позволит расширить и углубить наши представления о патофизиологии данного явления, установить роль лимфопении в развитии вторичных инфекций и прогнозе заболевания.

## **Цель**

Определить причины формирования лимфопении и обосновать её прогностическое значение при тяжёлых формах COVID-19

## **Задачи**

1. Установить частоту, выраженность и продолжительность лимфопении, а также её связь с развитием вторичных инфекций, для оценки прогностического значения лимфопении при COVID-19.

2. Изучить выраженность воспалительной реакции при COVID-19 и оценить её вклад в развитие лимфопении.
3. Оценить выраженность апоптоза лимфоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19 в зависимости от степени выраженности лимфопении.
4. Оценить возможную связь активности тромбообразования с числом лимфоцитов периферической крови.
5. Определить содержание субпопуляций лимфоцитов в тканях легких и селезенки у пациентов, умерших от COVID-19.
6. Разработать прогностическую модель неблагоприятного исхода COVID-19 на основе комплекса клинико-лабораторных показателей и оценить её диагностическую значимость.

### **Научная новизна**

Впервые определена частота и выраженность лимфопении у пациентов с COVID-19 с различным объемом поражения легких в динамике заболевания. При госпитализации самая высокая частота лимфопении регистрировалась в группе пациентов, чей объем поражения легких при проведении компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки соответствовал КТ-3 (84%), самая низкая – в группе пациентов с КТ-1 (30%). В исходе заболевания частота лимфопении в группе пациентов со степенью поражения легких, соответствующей КТ-4, составила 100% и в 20 раз превышала показатель группы пациентов с КТ-1 (5%).

Впервые выявлено, что потребление лимфоцитов в процессе тромбообразования является одним из ключевых механизмов лимфопении при COVID-19. Медиана Д-димера у пациентов с тяжелым течением составила 5552 нг/мл, медиана числа лимфоцитов –  $0,6 \times 10^9/\text{л}$ .

Установлено, что причинами формирования лимфопении при тяжелых формах COVID-19 являются: активация апоптоза лимфоцитов венозной крови,

перераспределение лимфоцитов из селезенки в легочную ткань, потребление в процессе тромбообразования.

Впервые обнаружено, что лимфопения сопровождается увеличением частоты развития бактериальных (в том числе оппортунистических) инфекций у пациентов с COVID-19. При количестве лимфоцитов в периферической крови менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  вероятность развития бактериальной инфекции увеличивалась в 2,7 раза. Чувствительность и специфичность теста составили 81,1% и 61,1%, соответственно.

Впервые была разработана прогностическая модель для определения вероятности неблагоприятного исхода COVID-19. Было установлено, что у пациентов с уровнем лимфоцитов в крови менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  вероятность летального исхода возрастает в 3,1 раза. Чувствительность и специфичность полученной прогностической модели составили 84,9% и 82,7%, соответственно.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные данные свидетельствуют о том, что основными причинами лимфопении при COVID-19 являются активация апоптоза лимфоцитов и перераспределение их пула (уменьшение в селезенке с накоплением в лёгочной ткани) и потребление лимфоцитов в процессе тромбообразования.

Показано, что выраженность лимфопении и воспалительной реакции напрямую сопряжена с объёмом поражения лёгочной ткани. Это позволяет рассматривать лимфопению не только как лабораторный феномен, но и как отражение глубины патологического процесса в лёгких, связывающее системный воспалительный ответ, иммунное истощение и локальное повреждение лёгочной ткани. Полученные данные развивают представление о лимфопении как о маркере, интегрирующем тяжесть воспаления и объём поражения, что углубляет понимание патогенетических взаимосвязей между системным воспалением, иммуносупрессией и органным повреждением при COVID-19.

Показано, что у пациентов с COVID-19 и лимфопенией увеличивается риск развития вторичных инфекций (бактериальных, грибковых и герпесвирусных). Группу риска представляют пациенты с уровнем лимфоцитов в крови менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$ .

Выявлено, что при оценке прогноза COVID-19 необходимо учитывать коморбидную патологию (ожирение, хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ)), тяжесть COVID-19, уровень в крови ферритина, лимфоцитов.

### **Методология и методы исследования**

Диссертационное исследование проводили с использованием общенаучных и отраслевых подходов в соответствии с поставленными целью и задачами. При выполнении работы применяли клинические, лабораторные методы исследования, иммуноферментный, молекулярно-генетический, цитофлуориметрический и иммуногистохимический анализы.

### **Внедрение результатов работы**

Основные результаты, полученные в ходе проведения исследования, и практические рекомендации применяются в работе ГАУЗ «Республиканская клиническая инфекционная больница имени профессора А.Ф. Агафонова» (ГАУЗ «РКИБ») МЗ РТ, ГАУЗ «Республиканская клиническая больница» (ГАУЗ «РКБ») Минздрава Республики Татарстан, ГАУЗ «Городская клиническая больница №7 имени М.Н. Садыкова» г. Казани, включены в образовательный процесс кафедр общей патологии, детских инфекций и инфекционных болезней ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Лимфопения — проявление COVID-19, выраженность и продолжительность которого определяют тяжесть и исход заболевания.

2. Развитие тяжёлых форм COVID-19 связано со снижением числа лимфоцитов, обусловленным активацией апоптоза, перераспределением лимфоцитов из селезёнки в ткань лёгкого и потреблением их в процессе иммунотромбообразования. Уменьшение площади белой пульпы селезёнки при тяжёлых формах является морфологической основой формирования иммуносупрессии.

3. Тяжелая лимфопения у пациентов с COVID-19 ассоциируется с развитием бактериальных суперинфекций и является неблагоприятным прогностическим фактором.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Исследование выполнено на современном уровне, благодаря правильно спланированному дизайну, достаточной выборке пациентов, четко сформулированной цели и поставленным задачам.

Материалы исследования были доложены на XI конференции с международным участием "Социально значимые и особо опасные инфекционные заболевания" (Сочи, 2024 г.), IV и V ежегодной конференции по инфекционным болезням «Покровские чтения» (Москва, 2024, 2025 гг.), Межрегиональной научно-практической конференции «Современные инфекции на поликлиническом и госпитальном этапе» (Казань, 2025 г.), XII международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы» (Казань, 2025 г.), Межрегиональной научно-практической конференции «Современные инфекции на поликлиническом и госпитальном этапе» (Казань, 2026 г.), XIII международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы» (Казань, 2026 г.).

### **Личный вклад автора**

В процессе выполнения диссертационного исследования автор непосредственно принимал участие на всех этапах работы: осуществление

научно-информационного поиска, проведение осмотра и клинического обследования пациентов, ведение и систематизация первичной документации, выполнение лабораторных исследований, комплексная оценка клинических и лабораторных данных, проведение статистического анализа результатов.

Автор самостоятельно осуществил: систематизацию и научное обобщение полученных результатов, формулировку научной концепции, разработку основных положений исследования, формулировку выводов и практических рекомендаций, подготовку материалов для публикации научных работ. Доля личного участия в работах, опубликованных в соавторстве, составляет 89%.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, из них 7 – в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по специальностям 3.1.22. Инфекционные болезни и 3.3.3. Патологическая физиология, в том числе 3 – в научных изданиях, входящих в базы данных SCOPUS, RSCI. По результатам проведенного исследования получено свидетельство государственной регистрации базы данных №2025624228 «Клинико-лабораторные характеристики пациентов с COVID-19» от 03.10.2025.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 162 страницах, состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследования, главы, посвященной результатам собственных исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, описания перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Работа иллюстрирована 35 таблицами, 35 рисунками. Список литературы включает 295 источников, из которых 37 – отечественных, 258 – зарубежных.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Клинико-лабораторные проявления тяжелых форм коронавирусной инфекции COVID-19

В конце 2019 г. мир столкнулся с ранее неизвестным вирусом – SARS-CoV-2 (от англ. severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), возбудителем коронавирусной инфекции COVID-19 [181]. Появившись в г. Ухань (Китай), SARS-CoV-2 в течение 3-4-х месяцев распространился по всему миру и превратился в глобальную угрозу [57]. COVID-19 стал пятой пандемией после испанского гриппа 1918 г. (H1N1), азиатского 1957 г. (H2N2), гонконгского 1968 г. (H3N2) и свиного гриппа 2009 г. (H1N1) [181].

За годы пандемии COVID-19 в мире заболело более 6,5 млрд человек и более 7 млн погибло [276]. Летальность от COVID-19 была сравнима с таковой в периоды гриппозных пандемий. Количество умерших от испанского гриппа 1918 г. (H1N1) оценивается в 50 млн [216], от азиатского гриппа 1957 г. (H2N2) – 1,5 млн, от гонконгского гриппа 1968 г. (H3N2) и пандемического гриппа 2009 г. (H1N1) – 1 млн и 300 тыс, соответственно [140, 171, 216]. Показатели смертности от COVID-19 значительно варьировали в разных странах: в Германии и во Франции он составил 0,4%, в Испании и Швеции – 0,9%, в США – 1,1%, в Российской Федерации – 1,8%, в Индонезии – 2,4%, в Мексике – 4,5%, в Перу – 4,9% [276].

У большинства инфицированных SARS-CoV-2 инфекция протекала в бессимптомной и легкой формах, среднетяжелое и тяжелое течение регистрировались в 15% и 5% случаев, соответственно [127]. Пациенты с тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19 оказались в фокусе внимания врачей из-за высокого риска неблагоприятного исхода. Тяжелые формы заболевания характеризовались вовлечением в патологический процесс легочной ткани, что проявлялось развитием ДАП, выявляемого по результатам

постмортальных исследований [223, 112, 233, 18, 19]. При проведении компьютерной томографии органов грудной клетки изменения в легких у пациентов с COVID-19 характеризовались формированием «матовых стекол» [111, 142, 198], что позволило трактовать их как пневмонию. Однако, использование различных схем противовирусной и антибактериальной терапии не сопровождалось заметным клиническим улучшением. Исследования механизмов поражения легких у пациентов с COVID-19 позволили установить ключевую роль воспаления и тромбообразования в мелких сосудах легочной ткани [142, 198]. Современные представления об иммунном ответе при различных вариантах течения COVID-19 будут представлены ниже в соответствующей главе. Клинически ковидная пневмония проявлялась признаками дыхательной недостаточности в виде нехватки воздуха, одышки, снижения насыщения гемоглобина кислородом ( $SpO_2$ ) и необходимостью проведения респираторной поддержки. Наиболее тяжелые формы поражения легких при COVID-19 сопровождались развитием ОРДС [32]. Другим клинически значимым признаком COVID-19 было развитие коагулопатии, проявлявшейся гиперкоагуляцией и тромбообразованием [22, 32]. Изменения в коагулограмме при COVID-19 характеризовались удлинением протромбинового времени, повышением уровней фибриногена, фактора фон Виллебранда (ФФБ) и Д-димера [46, 82, 37, 35]. Нарушения в свертывающей системе крови у пациентов с SARS-CoV-2-инфекцией получили обозначение COVID-19-ассоциированной коагулопатии [37]. Ключевая роль в развитии дисбаланса в свертывающей системе крови и формировании тромбов при COVID-19 принадлежит гипервоспалительной реакции, характеризовавшейся повышением в крови различных маркеров воспаления – нейтрофилов, СРБ, ферритина, провоспалительных цитокинов [290, 208]. Индуцированное воспалительной реакцией тромбообразование стало основанием появления терминов «тромбовоспаление» и «иммунотромбоз» [125, 127]. ОРДС и тромбозы легочных сосудов были основными причинами летальных исходов при COVID-19 [277]. Таким образом, для тяжелых форм инфекции, вызванной SARS-CoV-2, была характерна триада клинико-лабораторных

синдромов – гипервоспалительная реакция, ОРДС и COVID-19-ассоциированная коагулопатия. Это нашло отражение при проведении терапии инфекции, вызванной SARS-CoV-2. Отличительной особенностью лечения тяжелых форм COVID-19 от других инфекционных заболеваний являлась необходимость проведения, кроме этиотропной, комплексной патогенетической терапии, включавшей респираторную поддержку, назначения противовоспалительных и антикоагулянтных препаратов.

Для раннего выявления тяжелых форм заболевания кроме оценки клинико-инструментальных проявлений дыхательной недостаточности (увеличение частоты дыхания, снижение  $SpO_2$ ), объема поражения легочной ткани по результатам компьютерной томографии органов грудной клетки использовались различные лабораторные показатели, прежде всего, маркеры воспаления и тромбообразования, а также показатели органной дисфункции [85, 88, 174, 137, 79]. Различными исследователями было показано, что тяжелые формы COVID-19 сопровождаются повышением в крови количества нейтрофилов, индекса нейтрофилы/лимфоциты (Н/Л), уровня СРБ, ферритина и различных провоспалительных цитокинов – фактора некроза опухоли-альфа (ФНО-альфа), интерлейкинов-1, 6, 8, 18, 33 (ИЛ), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) [131, 49, 204, 281]. Частым гематологическим признаком тяжелых форм инфекции, обусловленной SARS-CoV-2, являлось развитие лимфопении [7, 113]. Повышение в крови одних маркеров воспаления (нейтрофилов, СРБ, провоспалительных цитокинов) и снижение других (лимфоцитов) при тяжелых формах COVID-19 свидетельствует о дисрегуляции иммунного ответа [67]. Было показано, что эти лабораторные показатели могут быть использованы как для оценки тяжести, так и прогноза COVID-19 [90, 277, 280, 292]. Другими клинически значимыми маркерами тяжелого течения SARS-CoV-2-инфекции были высокий уровень в крови Д-димера [82] и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) [82, 86].

Кроме маркеров воспаления и тромбообразования факторами, с которыми ассоциировалось развитие тяжелого течения COVID-19, были: возраст пациента

старше 65 лет, наличие коморбидной патологии – ишемической болезни сердца (ИБС), цереброваскулярных заболеваний, сахарного диабета, ожирения, хронических заболеваний легких и почек, злокачественных новообразований [269, 244].

Хорошо известно, что формирование тяжелого и крайне тяжелого течения COVID-19 определяется 4 основными факторами: вирулентностью SARS-CoV-2, дисрегуляцией иммунного ответа, нарушением баланса в свертывающей системе крови и коморбидной патологией. Однако, наиболее значимым из них является иммунная дисрегуляция, развитие которой лежит в основе формирования органной дисфункции и тромбообразования. Наиболее сложным в управлении этими факторами является дисрегуляция иммунного ответа – повышение одних клеток иммунной системы (нейтрофилов, СРБ и др.) и снижение других (лимфоцитов). Как уже было отмечено, лимфопения – одно из наиболее распространенных иммунологических нарушений у пациентов с COVID-19, регистрирующееся в 72-82,1% случаев при тяжелом течении заболевания [186]. Каковы причины снижения числа лимфоцитов в крови при COVID-19 и имеет ли это клиническое значение? Что делать в случае выявления лимфопении? Вот основные вопросы, на которые необходимо было получить ответы.

## **1.2 Иммунный ответ при COVID-19**

Возбудитель COVID-19 – SARS-CoV-2, как известно, обладает тропностью к клеткам, несущим на своей поверхности рецептор ангиотензин-превращающего фермента 2 типа (АПФ2) [203, 180]. Взаимодействие SARS-CoV-2 с рецептором АПФ2 и проникновение его в клетку происходит при участии шиповидного белка S (англ. – spike-protein) вируса [203, 42, 251]. В S-протеине выделяют два домена: S1 и S2 [3, 252, 179]. Домен S1 опосредует связывание с АПФ2 [42], а S2 – последующее слияние вирусной оболочки с клеточной мембраной [252, 179]. Ключевой компонент S-белка, который отвечает за связывание SARS-CoV-2 с АПФ2 – рецепторсвязывающий домен (РСД) [3, 252, 266, 267]. Однако, для

проникновения в клетку вирусу нужен не только АПФ2, но еще и сериновая протеаза 2-го типа TMPRSS2 (англ. – transmembrane protease serine 2) [247]. TMPRSS2 расщепляет S-белок и рецептор АПФ2, способствуя слиянию вируса с клеточной мембраной и интернализации вируса в клетку-мишень [247]. В респираторном тракте наиболее высокая экспрессия АПФ2 отмечается на поверхности клеток назального эпителия и бронхов [203]. В легких экспрессия рецептора наблюдается преимущественно на поверхности альвеолоцитов 2-го типа [203]. Рецепторы АПФ представлены и в других органах и системах – клетках пищеварительного тракта, сердце, почках, печени (холангиоцитах), головном мозге, яичках [61, 129, 180, 264]. Поэтому мишенями для SARS-CoV-2 могут быть как легкие, так и другие органы – сердце, почки, пищеварительный тракт, нервная система [146, 203]. Развитие тяжелых форм COVID-19 ассоциируется с поражением легочной ткани в виде диффузного альвеолярного повреждения, результатом которого является нарушение газообмена с необходимостью проведения респираторной поддержки [112]. В период пандемии у 80% пациентов COVID-19 характеризовался развитием легких и бессимптомных форм заболевания [294]. Среднетяжелые формы COVID-19 регистрировались у 15% пациентов, тяжелые формы – в 5% случаев [128]. Что является причиной развития тяжелых и крайне-тяжелых форм заболевания? Вирус SARS-CoV-2 или реакция иммунной системы на инфекционную агрессию? За период пандемии было зафиксировано несколько волн подъема заболеваемости COVID-19, которые были обусловлены различными вариантами SARS-CoV-2, отличавшихся контагиозностью и вирулентностью [173, 255]. Причина этого – мутации гена, кодирующего синтез S-протеина SARS-CoV-2 [251]. По образному выражению Kupferschmidt K., новые варианты SARS-CoV-2 меняли лицо пандемии COVID-19 [173]. В период доминирования дельта-варианта коронавируса это проявилось, в частности, укорочением инкубационного периода заболевания, длительным выделением вируса из ротоглотки, увеличением доли тяжелых форм заболевания [173]. Среди различных штаммов SARS-CoV-2 максимально вирулентными и наиболее часто индуцировавшими развитие

тяжелых форм заболевания за весь период пандемии COVID-19 были следующие варианты коронавируса: альфа (линия B.1.1.7), бета (линия B.1.351), гамма (линия P.1) и дельта (линия B.1.617.2) [2]. Показатель летальности варьировал при различных штаммах вируса: для альфа-варианта он составил 2,62%, для бета-варианта – 4,19%, для гамма-, дельта- и омикрон-вариантов, соответственно: 3,6%, 2,01% и 0,7% [64]. Однако, инфекционный процесс - всегда участие двух сторон - микроорганизма и иммунной системы. Взаимодействие возбудителя и иммунной системы имеет решающее значение в формировании тяжести заболевания.

Тяжелые формы COVID-19 характеризуются последовательной сменой двух стадий – репликативной и воспалительной [273]. Начальная стадия COVID-19 (первые 3-5 дней заболевания) характеризуется репликацией SARS-CoV-2, вирус-индуцированным повреждением тканей, экспрессирующих рецептор АПФ2, и активацией клеток врожденного иммунитета (моноцитов, макрофагов, нейтрофилов, дендритных клеток) [71]. Недостаточность факторов врожденного иммунитета, медленное и позднее их реагирование на SARS-CoV-2 может способствовать усилению репликации вируса в эпителии респираторного тракта, в легких, увеличению вирусной нагрузки в органах-мишенях и индуцировать развитие тяжелых форм заболевания [258]. Раннее назначение противовирусных препаратов, эффективных в отношении SARS-CoV-2, а также моноклональных антител, нейтрализующих S-белок вируса - основное направление терапии в этом периоде [25].

В следующей стадии COVID-19 отмечается развитие гипервоспалительной реакции организма, характеризующейся повышением в крови ключевых маркеров воспаления – СРБ, ферритина, провоспалительных цитокинов (ФНО-альфа, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-33 и др.) [67, 71, 79, 282]. Стадии тяжелого течения COVID-19 представлены на рисунке 1.

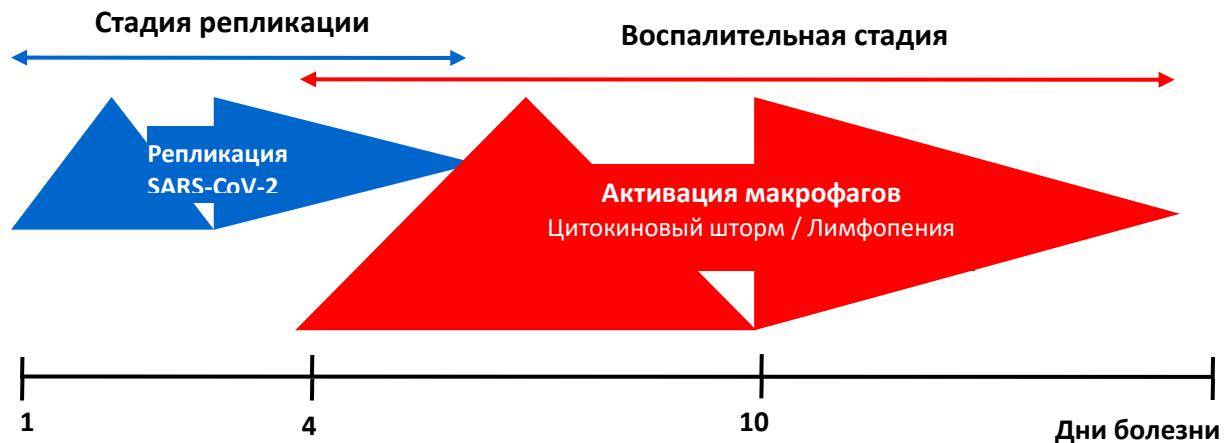


Рисунок 1 - Стадии тяжелого течения коронавирусной инфекции COVID-19

Следует отметить, что иммунный ответ при тяжелых формах заболевания характеризуется дисбалансом цитокинового профиля – сдвигом в сторону провоспалительных интерлейкинов. При бессимптомных и легких формах заболевания сохраняется баланс между про- и противовоспалительными цитокинами [149, 219]. Именно в стадию гипервоспаления развивается картина ОРДС, основного клинического синдрома, определяющего тяжесть состояния при COVID-19 [246, 206]. Современные критерии ОРДС были сформулированы в 2012 г. и включают: острое его развитие (в течение недели), признаки дыхательной недостаточности, которая не ассоциируется с сердечной патологией, диффузные двусторонние затенения в легких по данным рентгенографии или компьютерной томографии органов грудной клетки, необходимость в проведении респираторной поддержки [48]. ОРДС являлась основной причиной госпитализации пациентов с COVID-19 в отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Летальность от ОРДС у пациентов с COVID-19 варьировала от 23 до 56% [209].

Основная причина значительного повышения в крови медиаторов воспаления при COVID-19 – избыточная активация клеток врожденного иммунитета (в первую очередь, макрофагов) [160, 203]. Иммунный ответ при инфекционном заболевании, как известно, направлен на элиминацию возбудителя и локализацию инфекционного процесса с минимизацией повреждения органа

[250]. Чрезмерная иммунная реакция может индуцировать развитие «цитокинового шторма» – ключевой причины прогрессирования заболевания и неблагоприятного исхода [131, 50, 199]. Феномен «цитокинового шторма» лежит в основе дисфункции различных органов, в т.ч. легких с развитием ОРДС [131]. Следует отметить, что избыточный синтез цитокинов с развитием органной дисфункции ранее уже был описан при пандемическом гриппе А (2009 г.) [283, 100], лихорадке денге [265], хантавирусной инфекции [147], сепсисе [78, 63]. Очевидно, что чрезмерная активация клеток врожденного иммунитета с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов представляет собой универсальный механизм, лежащий в основе развития тяжелых форм как вирусных, так и бактериальных инфекций. Пик достижения концентрации провоспалительных цитокинов в крови при тяжелых формах COVID-19 приходится, в среднем на 8-11 день от начала заболевания [158, 183].

Рядом авторских коллективов на основании своего опыта были предложены критерии диагностики цитокинового шторма при COVID-19 [115, 83, 102, 12]. Например, критерии Kaiser Permanente Southern California (KPSC) включают: 1) уровень сывороточного ферритина  $> 2000$  нг/мл и повышение концентрации в крови любого другого маркера воспаления, или 2) повышение в крови  $\geq 4$  маркеров воспаления, включая СРБ  $> 70$  мг/л; ферритин  $> 700$  нг/мл, Д-димер  $> 1000$  нг/мл, триглицериды  $> 265$  мг/дл, аспартатаминотрансфераза (АСТ)  $> 59$  ЕД/л, ЛДГ  $> 300$  ЕД/л, абсолютное количество лимфоцитов в крови менее 800 клеток/мкл и повышение количества нейтрофилов  $> 8000$  клеток/мкл [104]. Группой американских исследователей были предложены клинико-лабораторные критерии диагностики гипервоспалительного синдрома у пациентов с COVID-19 (таблица 1) [83].

Таблица 1 - Критерии гипервоспалительного синдрома при COVID-19

| Критерий             | Расшифровка                                     |
|----------------------|-------------------------------------------------|
| Лихорадка            | Температура тела $> 38^{\circ}\text{C}$         |
| Активация макрофагов | Повышение содержания ферритина $\geq 700$ мкг/л |

Продолжение таблицы 1

| Критерий                   | Расшифровка                                                                                                                            |
|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Гематологические изменения | Индекс Нейтрофилы/Лимфоциты $\geq 10$ , или 2 признака: содержание гемоглобина $\leq 9,2$ г/дл и тромбоцитов $\leq 110 \times 10^9$ /л |
| Коагулопатия               | Содержание D-димера $\geq 1,5$ мкг/мл                                                                                                  |
| Повреждение печени         | ЛДГ $\geq 400$ ЕД/л или АСТ $\geq 100$ ЕД/л                                                                                            |
| Цитокинемия                | Содержание ИЛ-6 $\geq 15$ пкг/мл, или триглицеридов $\geq 150$ мг/дл, или С-реактивного белка $\geq 15$ мг/дл                          |

Bhaskar S. с коллегами для оценки риска развития цитокинового шторма у пациентов с COVID-19 разработали диагностическую панель «The COVID-19 Pandemic Health System REsilience PROGRAM consortium» (REPROGRAM), которая включает: повышение содержания одного из маркеров воспаления (ферритин  $> 1000$  нг/мл, СРБ  $> 25$  мг/л и повышение уровня ИЛ-6); высокие значения по шкале SOFA (Sequential Organ Failure Assessment, изначально Sepsis-related Organ Failure Assesment), наличие дыхательной недостаточности, двусторонней пневмонии и прогрессирующее увеличение потребности в неинвазивной респираторной поддержке; Д-димер  $> 1000$  нг/мл, ЛДГ  $> 300$  ЕД/л, число лимфоцитов в крови  $< 800$  клеток/мкл и уровень АСТ  $> 40$  ЕД/л [102].

Как уже было отмечено выше клиническим проявлением цитокинового шторма при COVID-19 является развитие органной дисфункции, в частности, ОРДС [131]. В результате формирования мультисистемного воспалительного синдрома (МСВС) возможно формирование и полиорганной недостаточности [145, 12]. Развитие МСВС при COVID-19 чаще всего регистрировалось среди детей [221]. Однако, и среди взрослых пациентов отмечались случаи развития МСВС – Multisystem Inflammatory Syndrome in Adults (MIS-A) [145, 65, 60, 139, 15].

Повышение концентрации провоспалительных цитокинов у пациентов с COVID-19 отмечается не только в крови, но и в ткани легких. В исследовании

Frisoni P. и коллег была установлена высокая степень экспрессии ФНО-альфа, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-15 в лёгких у пациентов, умерших от тяжёлой пневмонии, вызванной SARS-CoV-2 [101]. ИЛ-6 занимает центральное место среди медиаторов воспаления как причина развития ОРДС, он индуцирует повышение проницаемости сосудов, интерстициальный отёк и повреждение легочной ткани [271]. Другие биологические эффекты ИЛ-6 при тяжелых формах COVID-19 – синтез белков острой фазы воспаления (СРБ, ферритин, фибриноген), стимуляция образования молекул адгезии ICAM-1 (англ. – intercellular adhesion molecule-1) и VCAM-1 (англ. – vascular cell adhesion molecule-1) [33]. Проведение противовоспалительной терапии антицитокиновыми препаратами, направленной на нейтрализацию ИЛ-6 и его рецептора (ИЛ-6р) стало одним из основных направлений терапии тяжелых форм COVID-19. Антицитокиновые препараты вошли в Национальные рекомендации по лечению COVID-19 в России, Китая, Греции, Израиле, Ирландии, Испании, Италии, Турции, Швейцарии, Японии и других странах [12, 25]. Использование тоцилизумаба (рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к человеческому рецептору ИЛ-6 из подкласса иммуноглобулинов IgG1) в сочетании с системными глюкокортикостероидами (ГКС) улучшало прогноз COVID-19 [12]. Было показано, что блокирование ИЛ-6 препаратом тоцилизумаб повышало выживаемость пациентов с тяжелыми формами заболевания [114, 286].

В обеспечении эффективного иммунного ответа на инфекционную агрессию важную роль играют клетки адаптивного иммунитета – Т- и В-лимфоциты. Реакция клеток врожденного иммунитета в начале заболевания в дальнейшем сменяется активацией адаптивного иммунитета (рисунок 2). Адаптивный иммунитет, как известно, представлен CD4 $^{+}$ -, CD8 $^{+}$ -Т-клетками и В-клетками [159, 258]. Основная функция адаптивного иммунитета – формирование специфического иммунитета, элиминация возбудителя и формирование иммунологической памяти [163, 75]. Как известно, CD4 $^{+}$ -клетки обладают способностью дифференцироваться в клетки-хелперы и эффекторные клетки, CD8 $^{+}$  Т-клетки – уничтожать инфицированные вирусом клетки, а В-клетки -

продуцировать антитела [258]. CD4<sup>+</sup>-лимфоциты выполняют роль «дирижера» в «иммунном оркестре» организма, поскольку, стимулируют как CD8<sup>+</sup> Т-клеточный ответ, так и гуморальный иммунитет [258, 162, 160]. Кроме того, CD4<sup>+</sup>-лимфоциты дифференцируются в Th1 (Т-хелперы 1-го типа) и Tfh-клетки (Т-фолликулярные хелперы) [258]. Th1-клетки продуцируют интерферон-гамма (ИФН-гамма) и обладают противовирусной активностью [258], Th-клетки стимулируют синтез В-клетками вирус-нейтрализующих антител [98]. Быстрая генерация SARS-CoV-2 специфичных CD4<sup>+</sup> Т-клеток ассоциируется с легким течением COVID-19 и быстрой элиминацией вируса [116], а длительное их отсутствие – с тяжелым течением и высоким риском летального исхода [53, 254]. Однако, ключевую роль в элиминации вируса выполняют CD8<sup>+</sup> Т-лимфоциты, благодаря способности уничтожать инфицированные вирусом клетки [53, 258]. Генерация достаточного количества эффекторных Т-лимфоцитов для обеспечения контроля репликации SARS-CoV-2 процесс длительный – необходимо 6-10 дней после их активации [258]. Раннее формирование цитотоксического CD8<sup>+</sup> Т-клеточного ответа, обычно происходящее в течение 7 дней от начала заболевания и достигающее пика к 14 дню, коррелирует с элиминацией вируса [167] и легким течением заболевания [182]. Сероконверсия у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, происходит в течение 5-15 дней после заражения, достигая 90% к 10 дню [52, 53, 215, 239].

Тяжелые формы COVID-19 характеризуются задержкой в формировании Т-клеточного ответа. В периферической крови у пациентов отмечается снижение абсолютного числа лимфоцитов [79], развивающееся в результате дисбаланса между процессами активации и депрессии Т-клеточного ответа: отмечается снижение в периферической крови до 80% Т-клеток одновременно с интенсивной пролиферацией около 20% пула CD8<sup>+</sup> Т-клеток [39, 92].

В условиях отсутствия или задержки Т-клеточного иммунного ответа происходит усиление активности клеток врожденного иммунитета, что проявляется увеличением в крови числа нейтрофилов, провоспалительных цитокинов и снижением количества лимфоцитов [258]. Задержка формирования

адаптивного иммунитета, сохраняющаяся высокая вирусная нагрузка и «цитокиновый шторм» – ключевые причины формирования тяжелых форм COVID-19 (рисунок 2) [163].

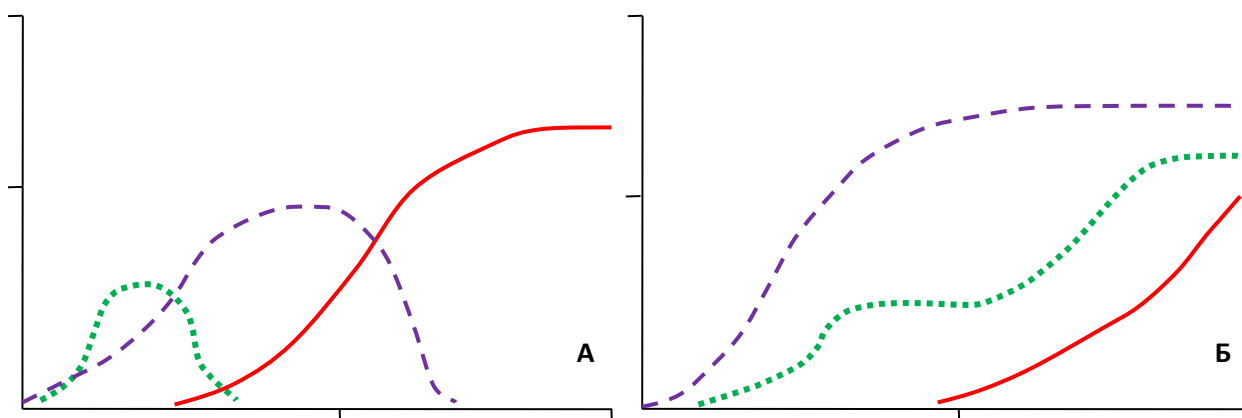


Рисунок 2 - Иммунный ответ при коронавирусной инфекции COVID-19

Примечание - А - среднетяжелое течение COVID-19;

Б - тяжелое течение COVID-19;

--- репликация SARS-CoV-2;  
 ..... врожденный иммунитет;  
 ..... адаптивный иммунитет;

Из-за меньшего содержания наивных Т-клеток, более медленного формирования Т-клеточного ответа и синтеза вирус-специфических антител, образование которых контролируется Т-клетками, развитие тяжелых форм COVID-19 чаще отмечалось у людей пожилого возраста [163].

### 1.3 Лимфопения при COVID-19. Причины развития

Тяжелые и осложненные формы инфекционных заболеваний часто сопровождаются снижением в периферической крови абсолютного числа лимфоцитов. Лимфопения регистрируется при тяжелых формах гриппа [261, 259], коронавирусной инфекции, обусловленной SARS-CoV [235], внебольничной пневмонии [195] и сепсисе [220]. Уменьшение в крови абсолютного количества лимфоцитов часто ассоциируется с неэффективностью иммунного ответа, развитием иммуносупрессии и риском летального исхода. Поэтому, оценка

уровня лимфоцитов в крови у пациентов с инфекционной патологией имеет огромное клиническое значение.

Снижение количества лимфоцитов в периферической крови – одно из наиболее часто регистрируемых гематологических проявлений у пациентов с COVID-19 [7, 113]. Лимфопения диагностируется при снижении уровня лимфоцитов в крови менее 1000 клеток/мкл [190, 194, 279]. Абсолютное количество лимфоцитов в крови менее 500 клеток/мкл рассматривается как тяжелая лимфопения [260]. При вирусных инфекциях, в большинстве случаев, отмечается относительный лимфоцитоз [191]. Лишь несколько вирусов непосредственно индуцируют развитие лимфопении – вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) [262], вирус Эбола [117], SARS-CoV [120] и SARS-CoV-2 [187]. Какова частота и продолжительность лимфопении при COVID-19, каково клиническое значение лимфопении? Снижение числа лимфоцитов в периферической крови отмечается, в среднем, у 63% пациентов с COVID-19 [187], в т.ч. в 44,6% случаях легкого варианта течения и в 72-82,1% при тяжелых формах [186]. Самые низкие значения лимфоцитов в крови у больных с COVID-19 регистрируются на 7-е сутки заболевания [2]. В исследовании, проведенном Scalia G. с коллегами, было показано, что лимфопения при COVID-19, как правило, имеет транзиторный характер: уже через неделю после госпитализации значения циркулирующих в крови лимфоцитов у пациентов как с легкими, так и тяжелыми формами заболевания повышались до нормы [185]. Исключение составили только пациенты, у которых наступил летальный исход. Было установлено, что выраженность лимфопении прямо коррелировала с тяжестью и прогрессированием заболевания [196]. В исследовании, проведенном корейскими коллегами, было показано, что пациенты с COVID-19 при уровне лимфоцитов в периферической крови менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$ , в 2,7 раза чаще нуждались в проведении искусственной вентиляции легких по сравнению с пациентами без лимфопении [189].

Лимфопения при COVID-19 потенциально может быть обусловлена рядом причин: вирус-индуцированной гибелью лимфоцитов, избыточным синтезом

провоспалительных цитокинов, ингибированием лимфопоэза, миграцией лимфоцитов в органы дыхания, иммуносупрессией (рисунок 3) [180].

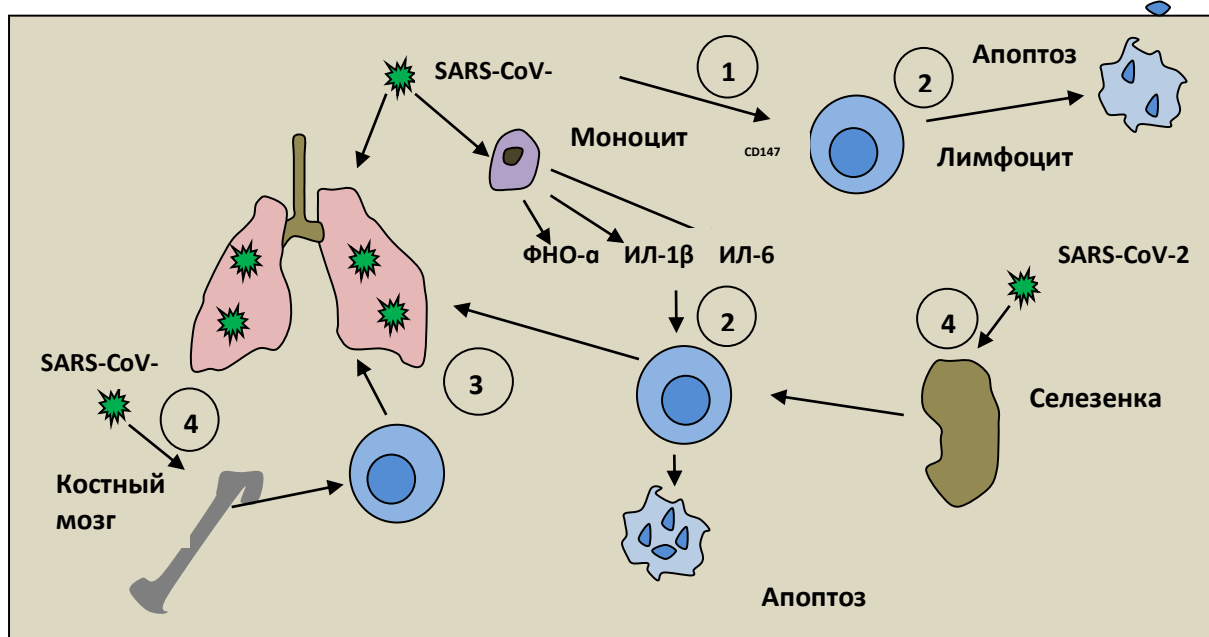


Рисунок 3 – Возможные причины лимфопении при COVID-19

Примечание - 1) SARS-CoV-2-индуцированная гибель лимфоцитов; 2) апоптоз лимфоцитов, обусловленный цитокиновым штормом; 3) миграция лимфоцитов в легкие; 4) ингибирование лимфопоэза

*SARS-CoV-2-индуцированная лимфопения.* Предположение о вирус-индуцированной лимфопении при COVID-19 представляется наиболее вероятным и логичным, учитывая способность SARS-CoV-2 инфицировать самые разные клетки организма [203]. Проникновение SARS-CoV-2 в клетки-мишени, как известно, происходит в результате взаимодействия S-протеина вируса с АПФ2 [203].

В исследовании Ren X. и соавт. было показано, что рибонуклеиновая кислота (РНК) SARS-CoV-2 обнаруживается в клетках иммунной системы — нейтрофилах, макрофагах и лимфоцитах (Т-, В- и NK-клетки) [95]. При этом, экспрессия АПФ2 на лимфоцитах очень низкая [47]. Следовательно, рецепторы АПФ2 не могут играть значимой роли для SARS-CoV-2 в инфицировании лимфоцитов и должен существовать альтернативный механизм проникновения вируса в клетки. Ещё в начале пандемии COVID-19 был установлен АПФ2-

независимый путь инфицирования лимфоцитов, реализующийся через гликопротеин CD147, экспрессированный на различных клетках, в том числе на Т-лимфоцитах [68]. В исследовании Shen X.-R. и коллег было показано, что для инфицирования лимфоцитов входной молекулой для SARS-CoV-2 может быть белок LFA-1 (от англ. leukocyte function-associated antigen-1), находящийся на поверхности, в том числе лимфоцитов [47]. Однако, несмотря на способность SARS-CoV-2 проникать в лимфоциты, доказательств репликации в них вируса нет. Кроме того, разными исследовательскими группами было показано, что у пациентов с бессимптомными и манифестными формами COVID-19 вирусная нагрузка примерно одинаковая [253, 291]. Таким образом, можно заключить, что SARS-CoV-2 и вирусная нагрузка не являются значимыми причинами лимфопении при COVID-19.

*Воспаление и лимфопения.* Как уже было отмечено выше, при тяжелых формах COVID-19 отмечается значительное повышение в крови концентрации провоспалительных цитокинов (ФНО-альфа, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-33 и др.) с формированием «цитокинового шторма», результатом которой является развитие ОРДС и полиорганной недостаточности [94, 109, 131]. При этом, у пациентов с бессимптомными формами COVID-19 повышения в крови уровня цитокинов не происходит. Какое влияние цитокины могут оказать на лимфоциты? Известно, что провоспалительные цитокины ФНО-альфа и ИЛ-6 в высоких концентрациях могут индуцировать апоптоз лимфоцитов, вызывая снижение их количества в крови [14]. активации Гибели лимфоцитов также может способствовать повышенное содержание в крови ИЛ-2 [118]. Таким образом, гипервоспалительная реакция при тяжелых формах COVID-19 подавляет адаптивный иммунный ответ. Схожий процесс цитокин-индуцированной лимфопении ранее был описан при сепсисе [193, 192].

#### *Апоптоз и пироптоз.*

Одной из вероятных причин лимфопении при COVID-19 может быть апоптоз – генетически программируемая гибель клеток, наблюдаемая при различных инфекционных заболеваниях (сепсис, ВИЧ-инфекция) [123]. В отличие

от некроза, при котором гибель клеток сопровождается лизисом, при апоптозе отмечается конденсация хроматина с последующей фрагментацией ядра [103, 123]. Морфологическими признаками апоптоза являются – «дегидратационное сжатие» клеток, утрата ими межклеточных контактов, разрушение цитоскелета, фрагментация ядра и деградация дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) [144]. Лабораторные маркеры апоптоза клеток – экспрессия белков CD95 (Fas-рецептор) и CD120 (рецептор к фактору некроза опухоли) на плазматических мембранах, снижение мембранного потенциала митохондрий, транслокация фосфатидилсерина с внутренней поверхности мембраны клеток на наружную, повышение активности каспаз [123].

Рядом исследователей было показано, что тяжелые формы COVID-19 сопровождается апоптозом лимфоцитов [54, 55]. Однако, отсутствие репликации SARS-CoV-2 в лимфоците ставит под сомнение механизм апоптоза, обусловленный прямым действием вируса. Апоптоз при COVID-19 может быть индуцирован не только, и не столько самим вирусом, сколько развивающейся системной воспалительной реакцией организма [250]. Системная воспалительная реакция или, точнее, синдром системного воспалительного ответа (ССВО), с его типичными клиническими проявлениями в виде лихорадки, тахикардии, тахипноэ с гипервентиляцией и повышением в крови СРБ в полной мере регистрируется при COVID-19 и, по мнению ряда авторов, может рассматриваться как один из механизмов лимфопении [250]. Ещё в 2002 г. в эксперименте *in vitro* было показано, что ФНО-альфа может индуцировать апоптоз Т-лимфоцитов человека [143], а ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 могут способствовать активации проапоптотического Fas-рецептора [132]. Giamarellos-Bourboulis E.J. с коллегами установлена обратная корреляционная связь концентрации ИЛ-6 с абсолютным числом лимфоцитов в крови у пациентов COVID-19 [91]. Эти факты позволяют рассматривать «цитокиновый шторм» в качестве одной из ключевых причин апоптоза лимфоцитов, приводящей в конечном итоге к лимфопении. В исследовании André S. и коллег было установлено, что выраженность апоптоза Т-лимфоцитов при COVID-19 коррелировала с тяжестью заболевания [268]. Как известно,

активация апоптоза клеток может происходить как по внешнему пути – через экспрессию Fas-рецепторов плазматической мембраны, так и по внутреннему – в результате снижения мембранного потенциала митохондрий [123, 184]. Значимая роль в процессе апоптоза клеток принадлежит каспазам [28]. При этом внешний путь активации апоптоза опосредован каспазой-8, а внутренний – каспазой-9 (рисунок 4) [28, 184]. В завершающей стадии ключевую роль играет каспаза-3, в активации которой участвуют и каспаза-8, и каспаза-9 [66].

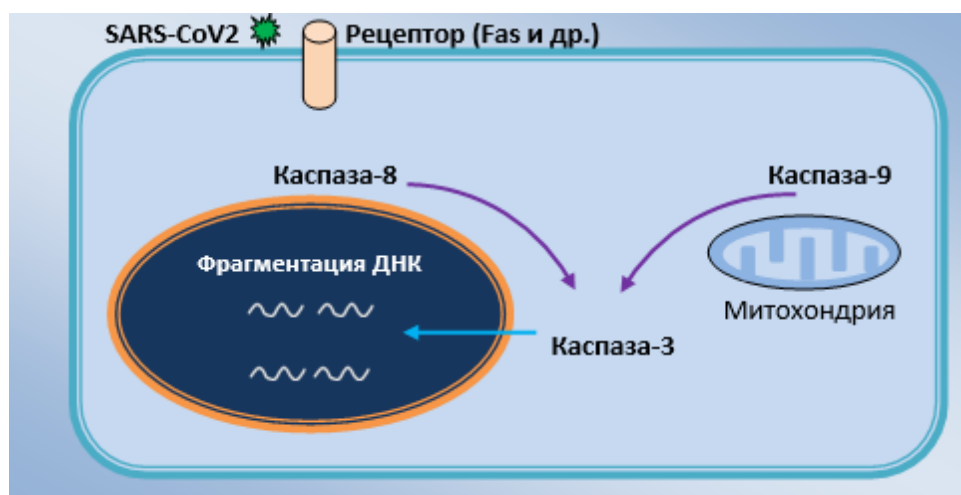


Рисунок 4 – Пути активации апоптоза клетки

Апоптозу при COVID-19 подвержены не только лимфоциты, но и эндотелиальные, а также эпителиальные клетки [69, 124, 234]. В исследовании Rep Y. и соавт. было показано, что апоптоз клеток при COVID-19 происходит по внешнему пути – в результате активации каспазы-8 белком ORF3a (от англ. open reading frames) SARS-CoV-2 [278]. Рядом исследователей было установлено повышение экспрессии гена каспазы-3 у пациентов с COVID-19 [168, 270]. В работе Yildiz Gulhan P. и коллег было показано, что уровни белка каспазы-3 в сыворотке крови и экспрессия гена каспазы-3 в клетках крови имели статистически значимые различия у пациентов с разной тяжестью течения COVID-19 [270]. Поэтому, определение каспазы-3 в крови может быть использовано как для оценки степени повреждения клеток, вызванного SARS-CoV-2, так и для прогнозирования тяжести течения заболевания [270]. Клиническое значение апоптоза лимфоцитов при COVID-19, с одной стороны, ассоциируется с элиминацией вируса, с другой – апоптоз-индуцированная

лимфопения может стать причиной формирования иммуносупрессии и прогрессирования заболевания [55]. Развитие иммуносупрессии при COVID-19 подтверждается результатами патоморфологических исследований, демонстрирующих истощение лимфоидной ткани [248].

В тканях умерших от COVID-19 пациентов выявляют не только биохимические признаки апоптоза клеток, но и пироптоза – формы клеточной гибели, сочетающей признаки апоптоза и воспаления [236]. Пироптоз – воспалительная форма запрограммированной гибели клеток, характеризующаяся газдермин-опосредованным образованием мембранных пор, отеком клеток, разрывом клеточной мембраны и высвобождением цитозольного содержимого во внеклеточное пространство [293]. Ключевыми биомаркерами пироптоза являются высокие уровни в крови газдермина D, ИЛ-1, ИЛ-8 и ЛДГ [293]. Пироптозу при COVID-19 подвергаются различные типы клеток, включая лейкоциты (моноциты, Т-клетки, ассоциированные со слизистой оболочкой), адипоциты, эпителиальные и эндотелиальные клетки [238]. SARS-CoV-2 индуцирует пироптоз в клетках посредством активации инфламماسомы NLRP3 (от англ. nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor) [238, 293]. Из иммунных клеток пироптозу, в основном, подвержены моноциты [133, 293]. В результате массивного пироптоза моноцитов развивается неконтролируемое воспаление [133, 293]. Несмотря на частое развитие лимфопении при тяжелых формах COVID-19, ни одна из субпопуляций лимфоцитов не продемонстрировала повышенного пироптоза [133]. Очевидно, что апоптоз лимфоцитов, а не пироптоз является основной причиной лимфопении у пациентов с COVID-19. Клиническое значение пироптоза моноцитов при COVID-19 состоит в том, что он препятствует образованию новых вирусных частиц и облегчает высвобождение провоспалительного содержимого, что способствует привлечению клеток иммунной системы [133]. С другой стороны, чрезмерный пироптоз моноцитов может индуцировать неконтролируемые иммунные реакции, сопровождающиеся повышенной секрецией провоспалительных цитокинов ФНО-альфа, ИЛ-1 и ИЛ-6 [133], усиливая «цитокиновый шторм» [237] и приводя к развитию ОРДС и

полиорганному поражению [293]. В исследовании Junqueira С. и коллег было показано, что уровни ключевых биомаркеров пироптоза газдермина D, ИЛ-1, ИЛ-8 и ЛДГ в плазме крови коррелировали с тяжестью COVID-19 [293].

*Гибель лимфоцитов, обусловленная аутофагией.* Одной из форм клеточной гибели является аутофагия [4, 77, 245]. Аутофагия характеризуется деградацией органелл и цитоплазматического материала клетки, развивается при участии внутриклеточных мембранных структур и активации аутофагосом [4]. Процесс аутофагии активируется клетками врожденного иммунитета для противодействия вирусной инфекции [77]. В исследовании Barbatì С. и коллег было выявлено увеличение образования аутофаголизосом в CD4 и CD8-лимфоцитах у пациентов с COVID-19 [4]. При этом, была установлена положительная корреляционная связь между маркерами аутофагии и апоптоза [4].

*Миграция лимфоцитов.* Лимфоцитарная инфильтрация ткани легких и почек. Другой значимой причиной лимфопении при COVID-19 является миграция лимфоцитов из крови в органы-мишени. Постмортальные исследования легких пациентов, умерших от COVID-19 демонстрируют признаки диффузного альвеолярного поражения и макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации [96, 19, 20]. В исследовании Poloni Т.Е. и коллег было показано, что лимфоцитарные инфильтраты, в основном, выявляются в двух органах – легких и почках [96]. Причем, в легких они были представлены, преимущественно, Т-лимфоцитами, в почках – Т- и В-лимфоцитами [96]. Миграция лейкоцитов в легкие обеспечивается хемокинами и цитокинами ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-18 [207, 272]. Хемокины, как известно, играют ключевую роль в привлечении лейкоцитов в очаг воспаления. Хорошо известный хемокин CXCL8 (ИЛ-8) обеспечивает хемотаксис нейтрофилов в очаг воспаления при бактериальных инфекциях [207]. В миграции лимфоцитов в легкие при COVID-19 могут быть задействованы несколько хемокинов: CCL2-5, CXCL9-11 [272].

Хемокины могут продуцироваться различными типами клеток – моноцитами, макрофагами, эндотелиальными и эпителиальными клетками, фибробластами и др. [207]. Кроме того, в зону воспаления привлекать лимфоциты

могут C3a и C5a компоненты системы комплемента [207]. Роль ИЛ-1 и ИЛ-18 в привлечении лимфоцитов в легкие ассоциируется, вероятно, с процессом пироптоза макрофагов в легких, сопровождаемого выбросом этих цитокинов в результате гибели клеток [272].

*Лимфопения, обусловленная развитием гемофагоцитарного синдрома.* Одним из проявлений тяжелых форм COVID-19 является синдром активации макрофагов, результатом которой является развитие вторичного гемофагоцитарного синдрома (ГФС) [36]. Как известно, критериями ГФС являются: лихорадка, цитопения (угнетение не менее двух ростков кроветворения), спленомегалия, гипертриглицеридемия, гипофибриногенемия, гемофагоцитоз в костном мозге, селезенке и лимфоузлах, повышение в крови ферритина выше 500 нг/мл, низкая активность НК-клеток, повышение растворимого рецептора ИЛ-2 (sCD25) выше 2400 ЕД/л [151]. Результаты патоморфологических исследований демонстрируют признаки ГФС в лёгких (в экссудативную и пролиферативную фазы ДАП) и в лимфоидной ткани: в просветах альвеол выявляются макрофаги, содержащие в своей цитоплазме фрагменты лимфоцитов и эритроцитов [19, 20]. Однако, частота ГФС при COVID-19 невысока. В литературном обзоре, проведенном Retamozo S. с коллегами, сообщается о развитии ГФС менее, чем у 5% пациентов с COVID-19 [145].

*Нарушение лимфопоэза.* С учетом развивающейся при тяжелом течении COVID-19 лимфопении и снижения числа лимфоцитов в периферических органах иммунной системы (лимфоузлах и селезенке) особый интерес представляет оценка функционального состояния ее центральных органов. Одним из маркеров созревания функционально активных Т- и В-клеток является определение содержания в периферической крови кольцевых молекул ДНК – Т-клеточных эксцизионных колец (TREC – T-cell receptor excision circles) и В-клеточных («каппа») эксцизионных колец (KREC – Kappa-deleting recombination excision circles) [289]. Рядом исследователей сообщается о снижении в крови у пациентов различных возрастных групп с тяжелой формой COVID-19 уровня молекул TREC/KREC [288, 249]. В исследовании Хаджиевой М.Б. и коллег было показано

снижение показателей TREC/KREC у пациентов в возрасте от 18 до 45 лет с COVID-19, осложненной ОРДС [289]. В исследовании Савченко А.А. и соавторов установлено, что у пациентов с неблагоприятным исходом в острой стадии заболевания отмечалось нулевое содержание в крови ДНК TREC [288]. Результаты этих исследований демонстрируют, что низкие значения молекул TREC/KREC в крови у пациентов с COVID-19 являются предикторами тяжести заболевания и неблагоприятного прогноза. Сниженные уровни молекул TREC/KREC в крови у пациентов с COVID-19 могут быть обусловлены нарушениями лимфопоэза вследствие SARS-CoV-2-индуцированного поражения предшественников лимфоцитов в костном мозге или тимусе до инициации процессов антиген-независимой дифференцировки и формирования молекул TREC/KREC [288, 289]. В исследовании, опубликованном итальянскими авторами, было показано, что SARS-CoV-2 может инфицировать клетки тимуса и приводить к нарушению ее функции [249]. Было установлено, что у пациентов с COVID-19 наблюдается значительное снижение образования Т-клеток тимуса, а тяжесть заболевания коррелирует со снижением функции тимуса [249].

Нарушение функции тимуса у пациентов с COVID-19 потенциально может иметь клинически значимые последствия. Снижение функции тимуса и, как следствие, уменьшение экспорта Т-клеток может усугубить лимфопению у пациентов с COVID-19 в острой фазе и увеличить время, необходимое для восстановления количества и функций, циркулирующих Т-клеток после выздоровления [249]. Замедленное восстановление функции тимуса может способствовать развитию вторичных инфекций, которые могут усугубить тяжесть заболевания, повысить риск прогрессирования болезни.

## **1.2 Предикторы летальности при COVID-19**

Прогноз при инфекции, вызванной SARS-CoV-2, определяется с одной стороны, тяжестью заболевания, с другой – развитием жизнеугрожающих состояний, возникающих в результате дисфункции различных органов [240, 277].

В мета-анализе, проведенном *Shi C.* с коллегами, объединившим 27 исследований, было установлено, что наиболее значимыми факторами риска летального исхода у пациентов с COVID-19 были: шок, при котором относительный риск смерти (ОР) составил 12,6 (95% доверительный интервал (ДИ)): 1,25-127,1), острое повреждение почек (ОР – 9,64; 95% ДИ: 6,01-15,4), острая сердечная патология (ОР – 8,22; 95% ДИ: 4,95-13,7), ОРДС (ОР – 6,82; 95% ДИ: 2,56-18,2), сердечная аритмия (ОР – 4,86; 95% ДИ: 1,24-19), острая сердечная недостаточность (ОР – 4,18; 95% ДИ: 2,37-7,36), острая печеночная недостаточность (ОР – 3,78; 95% ДИ: 1,18-12,1) и сепсис (ОР – 2,59; 95% ДИ: 2,11-3,17) [228]. Однако, основными причинами неблагоприятного исхода при COVID-19 были ОРДС и тромбообразование [11, 217, 223, 277]. ОРДС среди госпитализированных пациентов диагностировался в 20-67% случаев [80, 81], у пациентов, находившихся на ИВЛ – в 100% [72]. Общая распространенность ОРДС, вызванного SARS-CoV-2, в мире оценивается в 32,2% [141]. По данным мета-анализа, проведенного *Hasan S.S.* с коллегами, суммарная смертность от ОРДС у пациентов с COVID-19 в 2020 г. составила 39% (95% ДИ: 23-56%); в Китае – 69% (95% ДИ: 67-72%), в Польше – 73% (95% ДИ: 58-86%), в Германии – 13% (95% ДИ: 2-29%) [234]. Тромботические осложнения регистрировались у 25-85% пациентов с COVID-19, госпитализированных в ОРИТ [234, 230, 130]. Частота обнаружения микротромбов у умерших пациентов составляла 91,3% [21].

Ключевыми патологическими процессами, приводившими к развитию органной дисфункции при COVID-19, были гипервоспаление и гиперкоагуляция [277]. Поэтому, биомаркеры воспаления, тромбообразования и органной дисфункции могут представлять прогностическую ценность у пациентов с COVID-19 [24].

Еще в начале пандемии COVID-19 было установлено, что высокие значения в крови СРБ, ферритина, ИЛ-6 и Д-димера коррелировали как с тяжестью заболевания, так и плохим прогнозом [292]. Однако, прогностическая ценность различных маркеров воспаления и тромбообразования неодинакова.

*Роль маркеров воспаления в оценке прогноза COVID-19.* Важнейшими лабораторными показателями воспалительного процесса, повышение концентрации которых в крови отмечается при тяжелых формах COVID-19, являются СРБ и ферритин. Из них наиболее доступным для определения и часто используемым в клинической практике является СРБ. Ценность этого маркера воспаления как предиктора COVID-19 носит противоречивый характер. В мета-анализе, проведенном *Chi L.* с коллегами, объединившее 18 исследований, было показано, что уровень СРБ в крови среди умерших от COVID-19 пациентов был в 1,32 раза выше, чем у выживших [225]. *Stringer D.* с соавторами установлено, что показатель СРБ в крови выше 40 мг/л у пациентов с SARS-CoV-2-инфекцией ассоциируется с риском летального исхода [280]. Схожие результаты были получены *Villoteau A.* с коллегами, которыми выявлено, что уровень СРБ выше 35 мг/л у пожилых пациентов с COVID-19 ассоциировался с 14-дневной летальностью [122]. По мнению других исследователей, высокие значения в крови СРБ в большей степени коррелируют с тяжестью COVID-19, но не с исходом заболевания [90].

Роль другого маркера воспаления, ферритина, в оценке прогноза COVID-19 также является неоднозначной. В обзоре, включавшем 8 исследований и 1234 пациента, было показано, что у погибших от COVID-19 пациентов уровень ферритина в крови при поступлении составил около 1400 нг/мл, что было в среднем в 3–4 раза выше по сравнению с выжившими [153]. *Paranga T.G.* с коллегами отмечается, что повышение в крови концентрации ферритина у пациентов с COVID-19 указывает на высокий риск неблагоприятного исхода [90]. *Alroomi M.* с коллегами было показано, что уровень ферритина в крови выше 1000 нг/мл ассоциируется с высоким риском летальности [136]. В тоже время, по мнению итальянских исследователей, высокий уровень ферритина коррелирует с объемом поражения легких и тяжестью COVID-19, но не с прогнозом [135].

Одним из показателей, часто используемым для оценки тяжести COVID-19, является повышение в крови индекса Н/Л, представляющего отношение числа нейтрофилов к лимфоцитам [178]. Какова прогностическая ценность этого

показателя? Различными группами исследователей было установлено, что индекс Н/Л среди умерших от COVID-19 пациентов был выше, чем среди выживших [178, 231, 232, 165]. Yan X. с коллегами было показано, что индекс Н/Л выше 11,75 коррелировал с госпитальной смертностью (отношение шансов (ОШ) – 44,3; 95% ДИ: 4,62-425) [210]. В исследовании Prozan L. и коллег индекс Н/Л выше 6,82 ассоциировался с риском летального исхода (ОШ – 2,9,  $p = 0,001$ ) [232]. В мета-анализе, проведенном Li X. с коллегами, включавшем 10 исследований и 2967 пациентов, было показано, что индекс Н/Л обладает высокой прогностической ценностью: чувствительность (Se) и специфичность (Sp) показателя составила 83%, площадь под кривой (AUC) – 0,9 [221].

*Маркеры органной дисфункции в оценке прогноза COVID-19 (роль лактатдегидрогеназы).* ЛДГ, как известно, фермент, катализирующий превращение пирувата в лактат, обнаруживается в клетках различных органов и систем, [59]. Известны 5 изоформ ЛДГ: ЛДГ1 присутствует в кардиомиоцитах, ЛДГ2 – в клетках ретикулоэндотелиальной системы, ЛДГ3 – в пневмоцитах, ЛДГ4 – в клетках почек и поджелудочной железы, ЛДГ5 – в гепатоцитах и клетках поперечно-полосатой мускулатуры [175, 169]. Повышенный уровень ЛДГ в крови указывает на повреждение клеток и тканей, что позволяет рассматривать этот фермент в качестве маркера клеточной и органной дисфункции [176]. В ряде исследований было показано, что высокий уровень ЛДГ является предиктором летальности COVID-19 [86, 82]. В сводном анализе, проведенном Henry B.M. с коллегами, было установлено, что повышенный уровень ЛДГ ассоциируется с 16-кратным увеличением риска смертности у пациентов с COVID-19 [175]. Мао М. с соавторами отмечают, что у ковидных пациентов повышение в крови ЛДГ сопровождается лимфопенией [176]. В исследовании Li G. и коллег была изучена роль гематологического индекса лактатдегидрогеназа/лимфоциты (ЛДГ/Л) в прогнозе COVID-19 [177]. Было показано, что индекс ЛДГ/Л  $>345$  является независимым предиктором прогноза при COVID-19 (OR (odds ratio)=9,1; 95% ДИ: 2.674–31.487,  $p<0,001$ ) [284].

*Роль маркеров тромбообразования в прогнозе COVID-19.* Уже в начале пандемии был установлен факт значимого удлинения протромбинового времени, повышения уровней фибриногена, ФФБ и Д-димера у пациентов с тяжелыми формами COVID-19 [284]. При этом, высокий уровень Д-димера ассоциировался с риском неблагоприятного исхода COVID-19 [46, 82, 263]. Различными исследователями было показано, что риск летального исхода у госпитализированных пациентов увеличивался при уровне Д-димера в крови выше 2 мкг/мл [105, 106]. По мнению Li Y. и коллег повышенный уровень Д-димера является независимым предиктором неблагоприятного исхода при COVID-19 [87]. В мета-анализе, проведенном Varikasuvu S.R. с коллегами отмечается, что Д-димер представляет ценность для оценки прогрессирования и исхода COVID-19, AUC для которых составила 0,93 и 0,79, соответственно [104]. Однако, повреждение эндотелия сосудов у пациентов с COVID-19 может быть обусловлено не только SARS-CoV-2, но и коморбидной патологией – атеросклерозом, гипертонической болезнью, сахарным диабетом и ожирением [295, 10, 126, 287]. Кроме того, гипергликемия и ожирение способствуют высвобождению провоспалительных цитокинов – ФНО-альфа, ИЛ-1 и ИЛ-6 [154, 201, 150, 212], что может усилить SARS-CoV-2-индуцированный цитокиновый шторм, являющегося одним из ключевых механизмов развития эндотелиальной дисфункции у пациентов с COVID-19 [242].

*Роль коморбидной патологии в прогнозе COVID-19.* Еще в начале пандемии, вызванной SARS-CoV-2, было замечено, что наибольшая летальность от COVID-19 отмечалась среди пациентов, имевших хронические бронхолегочные, сердечно-сосудистые заболевания и онкологическую патологию [56, 76, 218, 93]. В мета-анализе, проведенном Dessie Z.G. с коллегами, было показано, что ключевыми факторами риска смертности при COVID-19 были: пожилой возраст, мужской пол, хронические сопутствующие заболевания – гипертоническая болезнь, сахарный диабет, ожирение, ХОБЛ, онкологические заболевания [108]. В Израиле на долю лиц в возрасте 65 лет и старше приходится 17% от общей численности населения, при этом у 74% случаев COVID-19 у них протекал в

тяжелой форме и 91% из них умерло [166]. В другом мета-анализе, по результатам анализа 106 потенциальных факторов риска неблагоприятного прогноза было установлено, что ключевыми предикторами летальности у пациентов с COVID-19 являлись: пожилой возраст, мужской пол, курение, хронические заболевания почек (ХБП), органов дыхания, сердечно-сосудистой системы и цереброваскулярная патология [277]. У пациентов с ХБП, хроническими заболеваниями легких и сердца, гипертонической болезнью риск летального исхода был в 2-8 раз выше по сравнению с общей популяцией [277]. В мета-анализе, проведенным Booth A. с коллегами установлено, что основными факторами, влиявшими на неблагоприятный исход COVID-19, были возраст пациента более 75 лет (ОШ – 2,65; 95% ДИ: 1,81-3,9), мужской пол (ОШ – 2,05; 95% ДИ: 1,39-3,04), ожирение (ОШ – 2,57; 95% ДИ: 1,31-5,05) и активное онкологическое заболевание (ОШ – 1,46; 95% ДИ: 1,04-2,04) [222]. Мета-анализ, проведенный Ganaza-Domingues K.L.T. с коллегами, показал, что сердечно-сосудистые, цереброваскулярные заболевания и почечная патология увеличивали смертность у пациентов с COVID-19 на 114%, 143% и 139%, соответственно [119]. У пациентов с сахарным диабетом, артериальной гипертензией, онкологическими заболеваниями риск летального исхода от COVID-19 возрастал на 95%, 88% и 84%, соответственно [119]. У пациентов с хронической бронхолегочной патологией вероятность неблагоприятного исхода увеличивалась на 98%, при наличии онкологического заболевания – на 84% [119]. Рядом исследователей было показано, что риск смертности при COVID-19 возрастает при увеличении количества коморбидных состояний [213, 74, 27, 89]. В мета-анализе, проведенном Tuty Kuswardhani R.A. с коллегами, было установлено, что индекс коморбидности Чарлсона выше 1 балла ассоциировался с риском летального исхода, который возрастал на 16% с каждым баллом [27]. Imam Z.C. с соавторами показано увеличение смертности у пациентов с индексом коморбидности Чарлсона более 3 баллов в 2,71 раза [213].

Таким образом, в оценке прогноза при COVID-19 ценность могут представлять различные клинико-лабораторные показатели. Однако, показывает

практика, что наибольшую прогностическую ценность представляет оценка не одного показателя, а нескольких – клинических и лабораторных. Рядом авторов на основе многофакторного анализа были предприняты попытки создания шкал для определения прогноза COVID-19. Altschul D.J. с коллегами была разработана шкала оценки тяжести COVID-19, включавшая возраст, сатурацию, среднее артериальное давление, международное нормализованное отношение (МНО), уровень в крови креатинина и СРБ [41]. Было показано, что при количестве баллов менее 3 вероятность смерти составила 11,8%, от 4 до 6 баллов – 39%, от 7 до 10 баллов – 78% [41]. Группой китайских и итальянских исследователей еще в начале пандемии COVID-19 была разработана интегрированная система оценки прогноза (OURMAPCN), включавшая 8 факторов: SpO<sub>2</sub>, уровень в крови креатинина, СРБ, прокальцитонина, абсолютное количество в крови нейтрофилов, частоту дыхания, возраст 60 лет и старше, госпитализацию до достижения первого национального максимального числа новых случаев заболевания в сутки [44]. Исследование было проведено в трех когортных группах: среди пациентов из г. Ухань, других городов Китая и г. Милан (Италия). AUC в группе пациентов из г. Ухань составила 0,89, во второй группе – 0,9, у пациентов из г. Милан (Италия) – 0,81 [44]. В исследовании Gopalan N. и коллег для оценки прогноза COVID-19 было предложено использовать комбинацию 5 показателей – возраст старше 50 лет, частота пульса выше 100 в минуту, уровень мочевины в крови выше 50 мг/дл, индекс нейтрофилы-лимфоциты в крови  $> 3$  и наличие сахарного диабета [227]. Чувствительность разработанной на основе этих показателей шкалы при количестве баллов  $\geq 25$  составила 90%, специфичность 64%, а площадь под кривой – 0,85, что свидетельствует о высокой прогностической ценности этой шкалы [227]. Российскими коллегами для прогнозирования госпитальной летальности у пациентов с COVID-19 были проанализированы пять шкал: NEWS (от англ. – National Early Warning Score), NEWS-2 (от англ. – National Early Warning Score-2), REMS (от англ. – Rapid Emergency Medicine Score), qSOFA (от англ. – quick Sequential Organ Failure Assessment) и SIRS (от англ. – Systemic Inflammatory Response Syndrome) [17]. Анализ включал 60

наблюдательных исследований с участием 619 494 пациентов. Наивысшую прогностическую ценность продемонстрировала шкала REMS ( $AUC = 0,80$ ) [17].

Таким образом, на прогноз при инфекции, вызванной SARS-CoV-2, оказывают влияние различные клинические и лабораторные факторы. Поэтому, для оценки прогноза COVID-19 представляется оптимальным использование комплекса клинико-лабораторных показателей, отражающих выраженность воспалительной реакции, тромбообразования, органной дисфункции, а также учитывать наличие и количество коморбидной патологии.

### **1.3 Лимфопения как предиктор тяжести COVID-19 и летальности**

Известно, что лимфопения является одним из ключевых предикторов неблагоприятного исхода при тяжелых формах инфекционных заболеваний [188, 192]. У пациентов с бактериальным сепсисом количество лимфоцитов в крови менее  $0,76 \times 10^9/\text{л}$  более 3-х дней ассоциируется с более высокой 28-дневной летальностью [211]. В испанском исследовании L-CAP (Lymphopenic-Community Acquired Pneumonia) было показано, что у пациентов, госпитализированных с острой внебольничной пневмонией, ранее не имевших признаков иммуносупрессии, при количестве лимфоцитов в крови менее  $724 \text{ клеток}/\text{м}^3$  риск летального исхода увеличивался в 1,93 раза [197]. Авторами было предложено включить определение числа лимфоцитов в крови в шкалу CURB-65 (от англ. – Confusion, Urea, Respiratory rate, Blood), традиционно используемую для прогнозирования течения внебольничных пневмоний [34]. Было установлено, что прогностическая ценность шкалы CURB-65L (L – лимфоциты) была статистически выше, чем у CURB-65 [197]. Испанскими исследователями было показано, что у госпитализированных с внебольничной пневмонией пациентов, вызванной *Streptococcus pneumoniae*, уровень лимфоцитов в крови менее  $300 \text{ клеток}/\text{мкл}$  является надежным предиктором летального исхода [164]. Лимфопения у этих пациентов превосходила индекс PSI (от англ. – Pneumonia Severity Index) в прогнозировании ранней и 30-дневной смертности [164].

Различными исследователями показано, что лимфопения является значимым предиктором неблагоприятного исхода у пациентов с COVID-19 [107, 189]. В публикации Lee J. и коллег было показано, что количество лимфоцитов в крови менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  регистрировалось исключительно среди умерших пациентов с COVID-19, в то время как отсутствие лимфопении отмечалось у больных с легким и среднетяжелым течением заболевания [157].

Итак, развитие лимфопении у пациентов с COVID-19 ассоциируется с развитием тяжелых форм заболевания и летальностью. Однако, возникает вопрос – как меняется содержание в крови различных субпопуляций лимфоцитов? Различными исследователями отмечается снижение в крови, в основном, клеток Т-клеточного иммунитета. Рядом исследователей установлено значительное снижение CD4+, CD8+ Т-лимфоцитов и В-клеток в периферической крови пациентов с COVID-19 [73, 157]. В работе Свирцевской Е.В. и коллег было выявлено снижение уровня CD3+, CD4+, CD8+-лимфоцитов в крови [30]. При этом снижение CD8+-клеток было более выраженным, что приводило к достоверному увеличению индекса CD4/CD8 [30]. В исследовании турецких авторов было показано, что низкие значения в крови CD3+ и CD4+-лимфоцитов коррелировали с тяжелыми формами COVID-19 [138]. В мета-анализе, проведенном Yan V. с соавторами было показано, что уровни CD3+, CD4+, CD8+ и CD19+ лимфоцитов в крови у пациентов с тяжелым течением COVID-19 были значимо ниже, чем при легком течении заболевания [110]. В публикации французских исследователей приводятся данные о том, что низкий уровень в крови CD8+-лимфоцитов у пациентов с COVID-19 коррелирует с риском летального исхода [137]. В исследовании Diao B. и коллег установлено, что значения Т-лимфоцитов периферической крови менее 800 клеток/мкл, CD4+ и CD8+ лимфоцитов менее 400 и 300 клеток/мкл, соответственно, ассоциировались с неблагоприятным прогнозом [242].

У пациентов с COVID-19 увеличивается риск развития оппортунистических заболеваний – мукормикоза [38, 14] и герпесвирусной инфекции, обусловленной вирусом Эпштейна-Барр [118], а также бактериальных инфекций системы

кровенотока [257]. В исследовании Rira M. и коллег было показано, что снижение лимфоцитов в периферической крови менее  $0,7 \times 10^9/\text{л}$  у пациентов с COVID-19 в сочетании с проведением ИВЛ увеличивает риск развития вторичных бактериальных инфекций [257]. Нельзя не отметить и роль иммуносупрессивной терапии в развитии бактериальных инфекций при COVID-19. Авторы одного из наиболее крупных исследований обнаружили, что раннее (в течение двух дней после госпитализации) назначение тоцилизумаба в 2,66 раза увеличивало вероятность развития вторичной бактериальной инфекции [51]. Мета-анализ, проведенный итальянскими коллегами, показал, что наиболее частыми причинами вторичных инфекций при COVID-19 были вирус Эпштейна-Барр, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Hemophilus influenza* и *Aspergillus spp.* [214].

Таким образом, клиническое значение лимфопении при COVID-19 заключается в увеличении частоты развития бактериальных и оппортунистических инфекций, риска наступления летального исхода, что вероятно, обусловлено как иммунодефицитом, так и проведением иммуносупрессивной терапии антицитокиновыми препаратами и инвазивных методов терапии (ИВЛ).

## ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Диссертационное исследование проведено на кафедре детских инфекций Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Казанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации в период с ноября 2023 по май 2025 гг. на базе ГАУЗ «Республиканская клиническая инфекционная больница имени профессора А.Ф. Агафонова» (ГАУЗ «РКИБ») Республики Татарстан. Лабораторные и патоморфологические исследования выполнялись на кафедре общей патологии ФГБОУ ВО Казанского ГМУ Минздрава России и на базе ГАУЗ «Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан».

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

### **2.1 Дизайн исследования. Общая характеристика пациентов с COVID-19**

Диссертационное исследование проводилось на кафедре детских инфекций ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России. В ходе исследования был проведен анализ медицинской документации пациентов в возрасте от 18 до 94 лет, госпитализированных с диагнозом «Коронавирусная инфекция COVID-19» в период с ноября 2020 года по июнь 2023 года в стационары ГАУЗ «РКБ» МЗ РТ и ГАУЗ «РКИБ им. проф. А.Ф. Агафонова» МЗ РТ. Поиск пациентов осуществлен в локальной информационной системе медицинской организации по кодам МКБ-10: «U07.1 Коронавирусная инфекция COVID-19, вирус идентифицирован (подтвержден лабораторным тестированием), средней и тяжелой степени тяжести».

В период с ноября 2020 года по июнь 2023 года в ГАУЗ «РКБ» МЗ РТ и ГАУЗ «РКИБ им. проф. А.Ф. Агафонова» МЗ РТ было госпитализировано 8852

пациентов с диагнозом Коронавирусная инфекция COVID-19. Методом случайной выборки из этого количества больных было отобрано 409 человек, которые поступили в стационар с лабораторно подтвержденным диагнозом «COVID-19». Расчет выборки проводился по формуле (1).

$$n = \frac{t^2 * P * Q * N}{\Delta^2 * N + t^2 * P * Q} \quad (1)$$

где  $n$  – искомая часть выборки,  $t^2$  – критерий достоверности (чаще всего равен 2),  $\sigma$  – стандартное отклонение признака, который будет изучаться в исследовании;  $\Delta$  – предельно допустимая ошибка (в медицинских исследованиях как правило 5%),  $N$  – объем генеральной совокупности,  $P$  – доля случаев, в которых встречается изучаемый признак,  $Q$  – доля случаев, в которых не встречается изучаемый признак ( $100-P$ ) [298].

$$n = (2^2 \times 63 \times 37 \times 8835) / (5^2 \times 8835) + (2^2 \times 63 \times 37) = 358 \text{ пациентов.}$$

Согласно методике К.А. Отдельновой, объем выборки в исследованиях повышенной точности должен быть 400 единиц [16], поэтому было принято решение увеличить число больных, включенных в диссертационное исследование. Изучение цитокинового профиля проводилось у 15 пациентов из 409.

Критерии включения в исследование были следующие:

- возраст  $\geq 18$  лет;
- положительный результат исследования смывов из носоглотки на РНК SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР);
- среднетяжелое и тяжелое течение COVID-19 (согласно критериям Временных методических рекомендаций по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 18 от 23.10.2023 г.).

Критерии невключения в исследование:

- возраст  $< 18$  лет;

- отрицательный результат исследования смывов из носоглотки на РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР;
- наличие хронических инфекционных заболеваний (ВИЧ-инфекция, хронические вирусные гепатиты В, С, D);
- наличие заболеваний или состояний, влияющих на снижение числа лимфоцитов периферической крови (системные заболевания соединительной ткани, заболевания органов кроветворения, онкологические пациенты, находящиеся на химиотерапии).

Работа включала несколько разделов и соответствующие выбранным целям дизайны исследования, которые приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Характеристика выбранных групп и дизайны исследования

| <b>Раздел исследования.<br/>Время проведения</b>                                                                                                         | <b>Дизайн<br/>исследования</b>                          | <b>Объект<br/>наблюдения</b>                                     | <b>Количество<br/>наблюдений</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| Анализ медицинских карт пациентов с COVID-19, госпитализированных в инфекционный стационар (2023 – 2025 гг.)                                             | Ретроспективное дескриптивное исследование              | Все пациенты старше 18 лет с COVID-19 (генеральная совокупность) | 8852                             |
| Анализ клинико-лабораторных особенностей среднетяжелых и тяжелых форм COVID-19 у пациентов, госпитализированных в инфекционный стационар (2023–2025 гг.) | Ретроспективное дескриптивное исследование              | Пациенты с COVID-19 в возрасте от 18 до 90 лет                   | 409                              |
| Оценка распространенности лимфопении у пациентов с COVID-19 (2023-2025гг.)                                                                               | Обсервационное сравнительное аналитическое исследование | Пациенты с COVID-19                                              | 409                              |

Продолжение таблицы 2

| <b>Раздел исследования.<br/>Время проведения</b>                                                                                                                                         | <b>Дизайн<br/>исследования</b>                                   | <b>Объект<br/>наблюдения</b>        | <b>Количество<br/>наблюдений</b>                                   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Оценка<br>распространенности<br>лимфопении у пациентов<br>с благоприятным и<br>летальным исходом<br>COVID-19 (2023-2025<br>гг.)                                                          | Обсервационное<br>сравнительное<br>аналитическое<br>исследование | Пациенты с<br>COVID-19              | 279<br>(благоприятный<br>исход)<br><br>130<br>(летальный<br>исход) |
| Изучение выраженности<br>апоптоза лимфоцитов<br>крови у пациентов с<br>лимфопенией,<br>развивающейся на фоне<br>COVID-19 (специальные<br>методы лабораторного<br>исследования) (2023 г.) | Одномоментное<br>аналитическое<br>исследование                   | Пациенты с<br>COVID-19              | 75                                                                 |
| Изучение влияния<br>воспалительного<br>процесса на<br>выраженность<br>лимфопении (2024 – 2025<br>гг.)                                                                                    | Поперечное<br>обсервационное<br>аналитическое<br>исследование    | Пациенты с<br>COVID-19              | 409                                                                |
| Изучение цитокинового<br>профиля пациентов с<br>COVID-19 (2023 г.)                                                                                                                       | Одномоментное<br>аналитическое<br>исследование                   | Пациенты с<br>COVID-19              | 15                                                                 |
| Определение<br>выраженности<br>лимфоцитарной<br>инфильтрации тканей<br>легких и селезенки<br>пациентов, умерших от<br>COVID-19<br>(морфометрические<br>методы исследования)<br>(2025 г.) | Одномоментное<br>аналитическое<br>исследование                   | Пациенты,<br>умершие от<br>COVID-19 | 17 (основная<br>группа)<br>11 (группа<br>сравнения)                |

Продолжение таблицы 2

| <b>Раздел исследования.<br/>Время проведения</b>                                                                           | <b>Дизайн<br/>исследования</b>                                                             | <b>Объект<br/>наблюдения</b> | <b>Количество<br/>наблюдений</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| Оценка предикторов летальности у пациентов с COVID-19 (2024–2025 гг.)                                                      | Поперечное<br>обсервационное<br>аналитическое<br>исследование,<br>многофакторный<br>анализ | Пациенты с<br>COVID-19       | 409                              |
| Изучение распространенности вторичных (бактериальных, грибковых, герпесвирусных) инфекций у пациентов с COVID-19 (2025 г.) | Обсервационное<br>сравнительное<br>аналитическое<br>исследование                           | Пациенты с<br>COVID-19       | 409                              |

### **2.1.1 Характеристика пациентов для проведения специфических лабораторных методов исследования**

Для оценки выраженности апоптоза лимфоцитов методом случайной выборки было отобрано 75 пациентов с COVID-19. Критериями включения пациентов для исследования были: положительный результат ПЦР на РНК SARS-CoV-2; клинические и лабораторные признаки, соответствующие критериям среднетяжелого или тяжелого течения COVID-19; клинические признаки острого респираторного заболевания. Группу сравнения составили 20 условно здоровых людей аналогичного возраста.

Для проведения патоморфологических исследований методом случайной выборки было отобрано 17 историй болезни и протоколов смерти пациентов, находившихся на госпитализации в ГАУЗ РКБ МЗ РТ в 2020 - 2022 гг. Критериями включения в исследование были: изменения в легких по типу «матовых стекол» по данным компьютерной томографии органов грудной клетки; положительный результат ПЦР на РНК SARS-CoV-2 в смывах из носоглотки;

причина смерти – пневмонит, обусловленный COVID-19. Критерии не включения: отрицательный результат ПЦР смыва из носоглотки на РНК SARS-CoV-2; наличие других инфекционных заболеваний; летальный исход, наступивший по причинам, не связанным с COVID-19, а также отсутствие поражения легких по данным КТ или рентгенологического исследования органов грудной клетки и по данным аутопсийного исследования.

Группу сравнения составили 11 пациентов аналогичного возраста, умерших по причинам, не связанным с COVID-19. Критериями включения пациентов в группу сравнения были: отрицательный результат ПЦР смыва из носоглотки на РНК SARS-CoV-2; отсутствие поражения легких по данным КТ или рентгенологического исследования легких и по данным аутопсийного исследования.

## **2.2 Методы исследования и обработки результатов**

Анализ историй болезни проводился по специально разработанной индивидуальной регистрационной карте с учетом предъявляемых жалоб пациента, анамнеза жизни и истории настоящего заболевания, сопутствующей патологии и данных объективного осмотра.

Клиническое обследование пациентов, вошедших в исследование, включало описание:

- характера начала заболевания, сроков госпитализации, длительности пребывания в стационаре;
- пола и возраста пациента
- тяжести заболевания;
- выраженности и продолжительности респираторного, лихорадочного синдромов;
- наличие или отсутствие дыхательной недостаточности;
- методов респираторной поддержки: низкопоточная оксигенация (НПО), высокопоточная оксигенация (ВПО), ИВЛ;

- использования противовоспалительной терапии, включая ГКС и антицитокиновые препараты.

В регистрационных картах отмечались физикальные данные пациента, включавшие оценку уровня сознания, клинических признаков синдрома интоксикации, респираторного синдрома, сопутствующих заболеваний, а также результатов объективного осмотра: аускультативных данных, измерение частоты дыхания, насыщения гемоглобина кислородом (пульсоксиметрия), показателей пульса и артериального давления. Каждому пациенту проводилась оценка степени тяжести по шкале NEWS.

### **2.2.1 Лабораторные и инструментальные методы исследования**

Всем пациентам проводилось исследование смывов носоглотки на РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР.

Обследование пациентов обязательно включало общеклинические методы исследования:

- общий анализ крови (ОАК);
- общий анализ мочи;
- биохимические показатели крови: функциональные пробы печени: аланинаминотрансфераза (АЛТ), АСТ; билирубин, глюкозу, мочевины, креатинин, СРБ; ЛДГ, ферритин, определение ИЛ-6;
- коагулограмму с определением активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), протромбинового времени, тромбинового времени, протромбинового индекса (ПТИ), международного нормализованного отношения (МНО), фибриногена, Д-димера.

По клиническим показаниям применялись инструментальные методы диагностики: ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, КТ органов грудной клетки, электрокардиография (ЭКГ) и эхокардиография (ЭХО-КГ).

Оценка апоптоза лимфоцитов осуществлялась на основании количественной оценки гиподиплоидных клеток по изменению интенсивности их окраски пропидия йодидом (Sigma Aldrich) с помощью проточной цитометрии (FACs Canto II, Becton Dickinson).

### 2.2.2 Морфологические исследования

Был изучен аутопсийный материал ткани легких и селезенки, полученный от 17 пациентов, умерших от COVID-19 в ГАУЗ «Республиканская клиническая больница Минздрава Республики Татарстан».

Часть материала фиксировали в 10% нейтральном формалине по Лилли или жидкости Боуэна. Согласно общепринятой методике [18] после соответствующей проводки по спиртам возрастающей концентрации следовала обработка в ксилоле и заливка в парафин. На микротоме Leica SM 2000R изготавливали парафиновые срезы толщиной 4-5 мкм. Полученные препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

Для иммуногистохимического (ИГХ) исследования [23] применяли набор моноклональных антител (МКАТ), характеристика которых представлена в таблице 3. Связывание МКАТ с клеточными элементами определяли с помощью стандартного биотин-стрептавидин-пероксидазного метода (DAKO: LSAB® + System-HRP, код K0690) с диаминобензидином в качестве хромогена. Препараты дополнительно окрашивали гематоксилином Майера и заключали в канадский бальзам или в специальные среды фирмы DAKO (Ultramount, Faramount, код S302580-2).

Таблица 3 - Характеристика используемых МКАТ

| Антиген | Клон | Специфичность | Рабочее разведение | Фирма-производитель |
|---------|------|---------------|--------------------|---------------------|
| CD3     | SP7  | Т-лимфоциты   | 1:150              | Lab Vision          |
| CD20    | L26  | В-лимфоциты   | 1:250              | Lab Vision          |
| CD68    | PGM1 | макрофаги     | 1:200              | BioGenex            |

Продолжение таблицы 3

| <b>Антиген</b> | <b>Клон</b> | <b>Специфичность</b> | <b>Рабочее разведение</b> | <b>Фирма-производитель</b> |
|----------------|-------------|----------------------|---------------------------|----------------------------|
| CD31           | 9611        | эндотелий сосудов    | 1:20                      | BioGenex                   |

Микроскопическое исследование проводили с использованием микроскопа «Axioscop-Zeiss AG».

На гистологических срезах при помощи морфометрической сетки случайного шага [29] определяли площади Т- и В-зависимых зон селезенки и кровеносных сосудов легкого. Для подсчета иммунокомпетентных клеток применяли морфометрическую окулярную сетку Г.Г. Автандилова [1].

Полученные данные были обработаны статистически с вычислением критерия Стьюдента и величины  $p$  (достоверность отличий).

### 2.2.3 Методы статистической обработки данных

Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием статистической программы IBM SPSS Statistics 30.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA), Microsoft Excel 2024, а также Stattech 4.10 (ООО «Статтех», Россия). Анализ соответствия вида распределения признака закону нормального распределения проводился с помощью теста Колмогорова-Смирнова. Нормальное распределение констатировалось при  $p > 0,05$ . В ином случае использовались непараметрические методы статистического анализа. Данные, подчиняющиеся закону нормального распределения, представлялись в виде среднего значения ( $M$ ) и 95% доверительного интервала ( $\pm 1,96 m$ ). При распределении признака, отличного от нормального, из мер центральной тенденции использовалась медиана ( $Me$ ), из мер рассеяния — межквартильный размах (МКР, значения 25 и 75-го перцентилей). Для определения значимости различий между сравниваемыми группами, в зависимости от типа распределения признаков и количества наблюдений, использовались критерий Стьюдента, Манна-Уитни (для порядковых переменных) и критерий  $\chi^2$  Пирсона (для номинальных данных).

Отношение шансов (ОШ) рассчитывалось с использованием четырехпольных таблиц. Взаимосвязь между изучаемыми показателями и причиной, вызвавшей заболевание, определялась при помощи коэффициента ранговой корреляции ( $\rho$ ) Спирмена.

Для определения риска развития оппортунистических инфекций у пациентов с COVID-19 и оценки прогноза заболевания был использован метод бинарной логистической регрессии.

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1 Анализ клинико-лабораторных проявлений COVID-19

Клинические и лабораторные признаки пациентов с COVID-19 представлены в таблицах 4 и 5.

Таблица 4 – Клиническая характеристика пациентов с COVID-19

| Параметры                                                                                                                                                                                                          | Показатели                                                                             |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Возраст, Ме [МКР]                                                                                                                                                                                                  | 61 [48 - 69]                                                                           |
| Возраст, абс (%) <ul style="list-style-type: none"> <li>• 20-29 лет</li> <li>• 30-39 лет</li> <li>• 40-49 лет</li> <li>• 50-59 лет</li> <li>• 60-69 лет</li> <li>• 70-79 лет</li> <li>• 80 лет и старше</li> </ul> | 11 (2,6)<br>35 (8,6)<br>48 (11,7)<br>68 (16,6)<br>134 (32,8)<br>64 (15,6)<br>49 (11,9) |
| Женский пол, чел (%)                                                                                                                                                                                               | 167 (41)                                                                               |
| Объем поражения легких по данным КТ, абс. (%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• КТ-1</li> <li>• КТ-2</li> <li>• КТ-3</li> <li>• КТ-4</li> </ul>                                                            | 161 (39,4)<br>118 (28,9)<br>75 (18,3)<br>55 (13,4)                                     |
| Температура тела при госпитализации, абс. (%) <ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt; 37°C</li> <li>• 37 – 37,9°C</li> <li>• 38 – 38,9°C</li> <li>• &gt; 39°C</li> </ul>                                     | 151 (37)<br>192 (47)<br>60 (14,5)<br>6 (1,5)                                           |
| SpO <sub>2</sub> на воздухе при поступлении, %, абс (%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• 95% и выше</li> <li>• 90-94%</li> <li>• 75-89%</li> <li>• &lt; 75%</li> </ul>                                    | 115 (28)<br>93 (23)<br>185 (45)<br>16 (4)                                              |

Продолжение таблицы 4

| Параметры                        | Показатели |
|----------------------------------|------------|
| Коморбидные состояния, абс. (%): | 339 (83)   |
| • гипертоническая болезнь;       | 227 (67)   |
| • ожирение;                      | 67 (20)    |
| • сахарный диабет;               | 40 (12)    |
| • хроническая болезнь почек      | 29 (8,5)   |
| • нарушения ритма сердца:        | 25 (5,8)   |
| • фибрилляция предсердий         | 18 (72)    |
| • желудочковые экстрасистолы     | 7 (8)      |
| • онкологические заболевания:    | 4 (0,9)    |
| ✓ медуллобластома                | 1 (25)     |
| ✓ аденокарцинома:                |            |
| - почки                          | 1 (25)     |
| - молочной железы                | 1 (25)     |
| - кишечника                      | 1 (25)     |
| • ХОБЛ;                          | 21 (6)     |
| • бронхиальная астма             | 14 (4)     |
| • хронический гастродуоденит     | 22 (6,5)   |
| Умерло, абс. (%)                 | 130 (31,8) |

Примечание - Ме – медиана, МКР – межквартильный размах.

Как видно из таблицы 4, большинство госпитализированных пациентов были в возрасте 60-69 лет (32,8%). Значительная доля была представлена больными 50-59 лет (16,6%) и 70-79 лет (15,6%). Медиана возраста пациентов составила 61 лет. В 98% случаев диагноз коронавирусной инфекции COVID-19 был подтвержден выделением РНК SARS-CoV-2 из смывов носоглотки. У большинства больных объем поражения легких соответствовал критериям КТ-1 (менее 25%) и КТ-2 (25-50%). Больные госпитализировались в стационар, в среднем, на 7-й день болезни. Повышение температуры выше 37°C в день госпитализации отмечалось у 63% пациентов. При этом, температура выше 38°C регистрировалась в 16% случаев. У 72% пациентов отмечалось снижение насыщения гемоглобина кислородом, в 49% случаев – менее 90%. У 186 пациентов имело место среднетяжелое течение, у 223 – тяжелое. Коморбидная патология отмечалась у 83% пациентов, наиболее часто регистрировались

гипертоническая болезнь, ожирение и сахарный диабет – в 67, 20 и 12%, соответственно. У 130 больных (31,8%) наступил летальный исход.

Таблица 5 – Лабораторная характеристика пациентов с COVID-19

| Параметр                                                                                                                             | Показатели                            | Референсные значения |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------|
| Эритроциты ( $\times 10^{12}/\text{л}$ ), Ме [МКР];<br>< $3,5 \times 10^{12}/\text{л}$ , абс. (%)                                    | 4,36 [3,74 – 4,9]<br>51 (12)          | 4,1 – 5,7            |
| Гемоглобин (г/л), Ме [МКР];<br>< 115 г/л, абс. (%)                                                                                   | 128 [114 – 144,5]<br>96 (23)          | 115 – 173            |
| Тромбоцитов ( $\times 10^9/\text{л}$ ), Ме [МКР];<br>< $150 \times 10^9/\text{л}$ , абс. (%)                                         | 193 [150 - 247]<br>142 (34)           | 142 – 424            |
| Лейкоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ ), Ме [МКР];<br>< $4 \times 10^9/\text{л}$ , абс. (%)<br>> $10,5 \times 10^9/\text{л}$ , абс. (%) | 6,95 [5-9,5]<br>61 (15)<br>100 (24,4) | 4,5 – 9,0            |
| Нейтрофилы ( $\times 10^9/\text{л}$ ), Ме [МКР];<br>> $8 \times 10^9/\text{л}$ , абс. (%)                                            | 5,1 [3,3-8]<br>172 (42)               | 1,5 – 7,0            |
| Нейтрофилы (% от общего числа лейкоцитов), Ме [МКР];<br>> 75%, абс. (%)                                                              | 73 [47 - 87]<br>228 (56)              | 47 – 72              |
| Лимфоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ ), Ме [МКР];<br>< $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , (абс., %)                                          | 0,88 [0,64 – 1,26]<br>282 (69)        | 1,0 – 3,7            |
| СРБ (мг/л), Ме [МКР];<br>> 10 мг/л, абс. (%)                                                                                         | 93,2 [39,7 – 147,5]<br>183 (45)       | 0,00 – 5,0           |
| Ферритин (нг/мл), Ме [МКР];<br>> 400 нг/мл, абс. (%)                                                                                 | 448,7 [185,5 - 1214]<br>261 (64)      | 10 – 120             |

Продолжение таблицы 5

| Параметр                                                           | Показатели                           | Референсные значения |
|--------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------|
| ЛДГ (Ед/л), Ме [МКР];<br>> 495 ЕД/л, абс. (%)                      | 340,65 [237,3 – 495]<br>212 (52)     | 132 – 248            |
| Общий билирубин (мкмоль/л), Ме [МКР];<br>> 20,5 мкмоль/л, абс. (%) | 8,15 [3,92 – 12,8]<br>41 (10)        | 5,0 – 20,5           |
| АЛТ (ЕД/л), Ме [МКР];<br>> 40 ЕД/л, абс. (%)                       | 32,7 [17,6 – 74,35]<br>20 (5)        | 0,0 – 40,0           |
| АСТ (ЕД/л), Ме [МКР];<br>> 40 ЕД/л, абс. (%)                       | 31,9 [24 – 75,5]<br>18 (4,3)         | 0,0 – 40,0           |
| Мочевина (моль/л), Ме [МКР];<br>> 8,3 ммоль/л, абс. (%)            | 5,3 [3,2 - 7,5]<br>47 (11,5)         | 2,5 – 8,3            |
| Креатинин (мкмоль/л), Ме [МКР];<br>> 90 мкмоль/л, абс. (%)         | 86 [74 – 109,5]<br>114 (27,8)        | 44 – 90              |
| Д-димер (нг/мл), Ме [МКР];<br>> 440 нг/мл, абс. (%)                | 1090 [377,5 –<br>2567,5]<br>258 (63) | 0 – 440              |

Анализ маркеров воспаления у пациентов с COVID-19 при госпитализации выявил увеличение в крови медианы значений СРБ, ферритина и снижение медианы абсолютного количества лимфоцитов (таблица 5). Повышение уровня СРБ, ферритина в крови отмечалось в 34 и 39% случаях, соответственно. Снижение абсолютного числа лимфоцитов крови ( $< 1,0 \times 10^9/\text{л}$ ) выявлено у 282 из 409 больных (69%). Повышение количества лейкоцитов в общем анализе крови выше  $10,5 \times 10^9/\text{л}$  регистрировалось у 24,4% пациентов, снижение менее  $4 \times 10^9/\text{л}$  – у 15%. Увеличение абсолютного числа нейтрофилов отмечалось у 17,6% больных, повышение нейтрофилов более 75% от общего количества лейкоцитов – в 47%

случаев. Среди других лабораторных показателей, медианы которых превышали референсные значения при госпитализации пациентов, были ЛДГ и Д-димер. Повышение ЛДГ наблюдалось у 23,3% больных, Д-димера – в 19% случаев. Довольно часто у пациентов с COVID-19 отмечалось повышение уровня креатинина (в 27,8% случаев), однако медиана этого показателя не превышала уровень референсных значений. При этом, ХБП имело место только у 8,5% больных. Повышение в крови общего билирубина и печеночных ферментов АЛТ и АСТ регистрировалось в 10,5 и 4,3% случаях, соответственно. У 23% больных выявлено снижение в крови уровня гемоглобина, у 22% – тромбоцитов.

Таким образом, наиболее частым лабораторным отклонением у пациентов с COVID-19 при госпитализации была лимфопения, которая регистрировалась в 69% случаях.

### 3.2 Частота лимфопении у пациентов, госпитализированных с COVID-19

Для оценки влияния тяжести COVID-19 на частоту развития лимфопении пациенты были стратифицированы на две группы. Первую составили 186 пациентов со среднетяжелым течением COVID-19, вторую – 223, у которых отмечалось тяжелое течение заболевания. Характеристика пациентов приведена в таблице 6.

Таблица 6 – Характеристика пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19

| Параметры            | Среднетяжелое течение<br>(n = 186) | Тяжелое течение<br>(n = 223) | p-значение                 |
|----------------------|------------------------------------|------------------------------|----------------------------|
| Возраст, Ме [МКР]    | 60 [47 - 67]                       | 64 [54 - 72]                 | p = 0,01                   |
| Женский пол, чел (%) | 106 (57)                           | 61 (28)                      | $\chi^2 = 17,2; p < 0,001$ |

Продолжение таблицы 6

| Параметры                                                                                                                                                                                                                                 | Среднетяжелое течение<br>(n = 186) | Тяжелое течение<br>(n = 223)             | p-значение                                                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Объем поражения легких по данным КТ, абс. (%):<br><ul style="list-style-type: none"> <li>КТ-1</li> <li>КТ-2</li> <li>КТ-3</li> <li>КТ-4</li> </ul>                                                                                        | 128 (69)<br>58 (31)<br>-<br>-      | 32 (14)<br>61 (27)<br>75 (34)<br>55 (25) | $\chi^2 = 62$ ; $p < 0,001$<br>$\chi^2 = 0,4$ ; $p > 0,05$                                    |
| День болезни на момент госпитализации, Ме [МКР]                                                                                                                                                                                           | 10 [8 - 13]                        | 11 [7 - 15]                              | $p = 0,01$                                                                                    |
| Продолжительность госпитализации, Ме [МКР]                                                                                                                                                                                                | 9 [7-12]                           | 11 [7-15]                                | $p = 0,4$                                                                                     |
| Количество лимфоцитов в ОАК, Ме [МКР]                                                                                                                                                                                                     | 0,96 [0,72 – 1,46]                 | 0,89 [0,63 – 1,2]                        | $p = 0,0001$                                                                                  |
| Количество лимфоцитов в ОАК, абс. (%):<br><ul style="list-style-type: none"> <li><math>&lt; 1 \times 10^9/\text{л}</math></li> <li><math>0,5-1 \times 10^9/\text{л}</math></li> <li><math>&lt; 0,5 \times 10^9/\text{л}</math></li> </ul> | 100 (54)<br>90 (90)<br>10 (10)     | 182 (82)<br>112 (61,5)<br>70 (38,5)      | $\chi^2 = 18$ ; $p < 0,001$<br>$\chi^2 = 25,7$ ; $p < 0,001$<br>$\chi^2 = 25,7$ ; $p < 0,001$ |
| Продолжительность лимфопении (дней), Ме [МКР]                                                                                                                                                                                             | 7,0 [4 - 10]                       | 8,0 [5 - 14]                             | $p > 0,05$                                                                                    |
| Продолжительность лимфопении, абс. (%):<br><ul style="list-style-type: none"> <li>1-7 дней;</li> <li>&gt; 7 дней</li> </ul>                                                                                                               | 70 (70)<br>30(30)                  | 82 (45)<br>100 (55)                      | $\chi^2 = 12,7$ ; $p < 0,001$<br>$\chi^2 = 12,7$ ; $p < 0,001$                                |

Как видно из представленной таблицы, тяжелое течение COVID-19 регистрировалось, преимущественно, у лиц мужского пола (72%), тогда как

среднетяжелое практически с одинаковой частотой регистрировалось как среди мужчин, так и женщин. Медиана возраста пациентов с тяжелым течением COVID-19 была статистически выше по сравнению с аналогичным показателем у больных со среднетяжелым течением заболевания ( $p=0,01$ ). Снижение абсолютного числа лимфоцитов периферической крови менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  при госпитализации в 1,5 раза чаще отмечалось при тяжелом течении COVID-19 ( $p<0,001$ ). При этом, у пациентов с тяжелым течением заболевания в 38,5% случаев регистрировалось снижение числа лимфоцитов менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$ , что в 3,8 раза было чаще по сравнению со среднетяжелым течением COVID-19 ( $p<0,001$ ).

Продолжительность лимфопении также коррелировала с тяжестью заболевания: у пациентов с тяжелым течением заболевания лимфопения более 7 дней регистрировалась в 1,8 раза чаще, чем при среднетяжелом течении ( $p<0,001$ ). В финале заболевания сниженный уровень числа лимфоцитов в крови менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  в сравниваемых группах наблюдался у 38% пациентов со среднетяжелым течением и у 66% больных с тяжелым течением заболевания, соответственно. При этом, медиана лимфоцитов при среднетяжелом течении COVID-19 в динамике заболевания увеличивалась в 1,8 раза, при тяжелом течении – отмечалось незначительное ее повышение, однако уровень лимфоцитов по-прежнему оставался ниже  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  (таблица 7).

Таблица 7 – Динамика абсолютного числа лимфоцитов периферической крови ( $10^9/\text{л}$ ) у пациентов с COVID-19, Ме [МКР]

| Тяжесть COVID-19     | Среднетяжелое течение (n = 186) | Тяжелое течение (n = 223) | p - значение |
|----------------------|---------------------------------|---------------------------|--------------|
| При госпитализации   | 0,96 [0,72 – 1,46]              | 0,89 [0,63 – 1,2]         | $p<0,0001$   |
| В финале заболевания | 1,76 [1,2 – 2,5]                | 0,93 [0,7 – 1,31]         | $p<0,0001$   |

Примечание - определение статистической значимости проводилось методом Манна-Уитни

Объем поражения легких – один из основных критериев тяжести у пациентов с COVID-19. В связи с этим был проведен сравнительный анализ выраженности лимфопении у пациентов с учетом объема поражения легких (таблица 8). Было установлено, что при госпитализации наиболее низкие значения числа лимфоцитов в крови регистрировались у пациентов с КТ-3. Выявлена статистическая разница в количестве лимфоцитов периферической крови между пациентами с объемом поражения легких, соответствующих критериям КТ-1 и КТ-3 ( $p=0,02$ ). В финале заболевания наиболее выраженная лимфопения отмечалась у пациентов с КТ-3 и КТ-4, у которых медиана лимфоцитов была статистически меньше, чем у больных с КТ-1. У больных с КТ-4 уровень лимфоцитов в крови был в 1,9 раза меньше, чем при КТ-1.

Таблица 8 – Абсолютное количество лимфоцитов периферической крови и объем поражения легких у пациентов с COVID-19

| Объем поражения<br>легких по данным<br>КТ, абс. (%) | Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$ ; абс, (%)                                   |                                                                                                  | Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$ (Ме; МКР) |                                                |
|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------------|
|                                                     | При госпитализации                                                             | В исходе заболевания                                                                             | При госпитализации                          | В исходе заболевания                           |
| < 25% (КТ-1)<br>(n=160)                             | 49 (30)                                                                        | 9 (5)                                                                                            | 0,93 [0,63-1,41]                            | 1,57 [0,83-2,29]                               |
| 25-50% (КТ-2)<br>(n=119)                            | 68 (57)                                                                        | 28 (23,5)                                                                                        | 0,86 [0,66-1,2]                             | 1,31 [0,71-2,19]                               |
| 50-75% (КТ-3)<br>(n=75)                             | 63 (84)                                                                        | 67 (84)                                                                                          | 0,84 [0,55-1,08]                            | 1,05 [0,58-1,73]                               |
| >75% (КТ-4)<br>(n=55)                               | 42 (76)                                                                        | 55 (100)                                                                                         | 0,9 [0,65-1,2]                              | 0,83 [0,4-1,3]                                 |
| р-значение                                          | p1-2 = 0,002<br>p1-3 < 0,0001<br>p1-4 < 0,0001<br>p2-3 = 0,008<br>p2-4 = 0,008 | p1-2 = 0,005<br>p1-3 < 0,0001<br>p1-4 < 0,0001<br>p2-3 < 0,0001<br>p2-4 < 0,0001<br>p3-4 = 0,008 | p1-3 = 0,02                                 | p1-3 = 0,001<br>p1-4 = 0,0001<br>p2-4 = 0,0001 |

Таким образом, увеличение объема поражения легочной ткани более 50% является фактором риска развития лимфопении при COVID-19.

Одним из лабораторных маркеров повреждения легочной ткани является повышение в крови уровня фермента ЛДГ. Был проведен сравнительный анализ уровня ЛДГ в крови у пациентов с различным объемом поражения легких при госпитализации и в финале заболевания (таблица 9). Было установлено, что уровень ЛДГ в крови коррелировал с объемом поражения легких: как при госпитализации, так и в финале заболевания наиболее высокие значения фермента регистрировались у пациентов с КТ-3 и КТ-4.

Таблица 9 – Уровень лактатдегидрогеназы крови у пациентов с COVID-19 при различных объемах поражения легких

| Объем поражения легких по данным КТ, абс. (%) | ЛДГ (ЕД/л), Ме [МКР]                                                               |                                                                                    |
|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
|                                               | при госпитализации                                                                 | в финале заболевания                                                               |
| 1) < 25% (КТ-1)                               | 261,3 [204,1 – 341,3]                                                              | 245,3 [203,1 – 340,6]                                                              |
| 2) 25-50% (КТ-2)                              | 324,5 [211 – 397,5]                                                                | 351,75 [245,25 - 471]                                                              |
| 3) 50-75% (КТ-3)                              | 448,6 [289,7 – 678,7]                                                              | 600,5 [439,5 - 1180]                                                               |
| 4) >75% (КТ-4)                                | 445 [317 - 608]                                                                    | 525,55 [308,3 - 930]                                                               |
| р-значение                                    | $p_{1-3} < 0,0001$<br>$p_{1-4} < 0,0001$<br>$p_{2-3} = 0,006$<br>$p_{2-4} = 0,006$ | $p_{1-3} < 0,0001$<br>$p_{1-4} = 0,001$<br>$p_{2-3} = 0,006$<br>$p_{2-4} = 0,0001$ |

Примечание - указаны только статистически значимые различия; определение статистической значимости проводилось методом Манна-Уитни

Далее была проведена оценка частоты лимфопении у пациентов с различными исходами COVID-19. Больные были разделены на 2 группы: первую составили 279 человек, у которых заболевание завершилось выздоровлением, вторую – 130 пациентов с летальным исходом (таблица 10).

Таблица 10 – Лимфопения у пациентов с различными исходами COVID-19 при госпитализации

| Параметры                                                                                                                                                                                                                      | Выжившие пациенты (n = 279)              | Умершие пациенты (n = 130)               | p-значение                                                                                                                     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Объем поражения легких по данным КТ, абс. (%):<br><ul style="list-style-type: none"> <li>КТ-1</li> <li>КТ-2</li> <li>КТ-3</li> <li>КТ-4</li> </ul>                                                                             | 145 (52)<br>101 (36)<br>28 (10)<br>5 (2) | 15 (12)<br>18 (14)<br>47 (36)<br>50 (38) | $\chi^2 = 36,7$ ; $p < 0,001$<br>$\chi^2 = 12,9$ ; $p < 0,001$<br>$\chi^2 = 19,0$ ; $p < 0,001$<br>$\chi^2 = 40$ ; $p < 0,001$ |
| Лимфоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ ), Ме [МКР]                                                                                                                                                                                 | 0,93 [0,68 – 1,37]                       | 0,7 [0,5 – 1,1]                          | $p = 0,002$                                                                                                                    |
| Лимфоцитов в ОАК, абс. (%):<br><ul style="list-style-type: none"> <li><math>&lt; 1 \times 10^9/\text{л}</math></li> <li><math>0,5-1 \times 10^9/\text{л}</math></li> <li><math>&lt; 0,5 \times 10^9/\text{л}</math></li> </ul> | 171 (61)<br>153 (89)<br>18 (11)          | 111 (85)<br>64 (58)<br>47 (42)           | $\chi^2 = 19$ ; $p < 0,001$<br>$\chi^2 = 17$ ; $p < 0,001$<br>$\chi^2 = 17$ ; $p < 0,001$                                      |
| Нейтрофилы/лимфоциты, Ме [МКР]                                                                                                                                                                                                 | 4,2 [2,7 – 6,7]                          | 8,1 [3,3 – 17]                           | $p < 0,0001$                                                                                                                   |
| Лактатдегидрогеназа/лимфоциты, Ме [МКР]                                                                                                                                                                                        | 258 [119 – 365,5]                        | 508,8 [334-1213]                         | $p < 0,0001$                                                                                                                   |

Примечание - определение статистической значимости проводилось методом Манна-Уитни

У пациентов с летальным исходом объем поражения легких в 74% случаях превышал 50% и соответствовал критериям КТ-3 (в 36% случаях) и КТ-4 (у 38%). Среди выживших пациентов в 88% случаях объем поражения легких был менее 50%.

Медиана абсолютного числа лимфоцитов периферической крови при госпитализации среди умерших пациентов была в 1,32 раза меньше, чем в группе выживших ( $p = 0,002$ ). При этом снижение абсолютного числа лимфоцитов в

периферической крови менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  в 1,3 раза чаще регистрировалось среди умерших, а тяжелая лимфопения ( $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$ ) – в 2,6 раза. Обращало на себя внимание почти 2-кратное увеличение гематологических индексов среди умерших пациентов: индекса Н/Л и ЛДГ/Л – в 1,9 и 1,97 раза, соответственно.

В финале заболевания медиана абсолютного числа лимфоцитов периферической крови среди умерших пациентов была в 2,5 раз меньше, чем у выживших ( $p < 0,0001$ ). Наименьшее абсолютное количество лимфоцитов в периферической крови среди умерших пациентов составило  $0,09 \times 10^9/\text{л}$ . Результаты сравнения числа лимфоцитов в исследуемых группах в финале заболевания представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Лимфопения у пациентов с различными исходами COVID-19 в финале заболевания

| Параметры                                                                                                                                                                                                                      | Выжившие пациенты (n = 279)   | Умершие пациенты (n = 130)        | р-значение                                                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| Лимфоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ ), Ме [МКР]                                                                                                                                                                                 | 1,63 [0,96 – 2,4]             | 0,64 [0,35 – 1,0]                 | $p < 0,0001$                                                                    |
| Лимфоцитов в ОАК, абс. (%):<br><ul style="list-style-type: none"> <li><math>&lt; 1 \times 10^9/\text{л}</math></li> <li><math>0,5-1 \times 10^9/\text{л}</math></li> <li><math>&lt; 0,5 \times 10^9/\text{л}</math></li> </ul> | 71 (25)<br>59 (83)<br>12 (17) | 97 (79)<br>49 (50,6)<br>48 (49,4) | $\chi^2 = 88; p > 0,05$<br>$\chi^2 = 19; p < 0,001$<br>$\chi^2 = 19; p < 0,001$ |
| Нейтрофилы/лимфоциты, Ме [МКР]                                                                                                                                                                                                 | 3,2 [1,76 – 8,87]             | 15,4 [6,3 – 32]                   | $p < 0,0001$                                                                    |
| ЛДГ/лимфоциты, Ме [МКР]                                                                                                                                                                                                        | 243 [104 – 464]               | 791 [375–2304]                    | $p < 0,0001$                                                                    |

Примечание - определение статистической значимости проводилось методом Манна-Уитни

Снижение числа лимфоцитов менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  среди умерших пациентов в финале заболевания регистрировалось в 3,1 раза чаще по сравнению с выжившими. Тяжелая степень лимфопении ( $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$ ) отмечалась почти у половины умерших больных, тогда как среди выживших – в 2,9 раза реже ( $p < 0,001$ ). Средние значения гематологических индексов Н/Л и ЛДГ/Л среди

умерших пациентов были выше, чем среди выживших в 4,8 и 3,2 раза, соответственно.

Таким образом, на основании проведенных сравнительных исследований можно сделать вывод, что выраженность и продолжительность лимфопении у пациентов с COVID-19 ассоциируются с тяжестью заболевания, объемом поражения легких и исходом заболевания. Снижение числа лимфоцитов в периферической крови менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  регистрировалось в 3,8 раза чаще при тяжелом течении заболевания. В финале заболевания повышение уровня лимфоцитов выше  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  отмечалось только при среднетяжелом течении COVID-19, тогда как при тяжелом течении оставалось пониженным. Среди умерших от COVID-19 пациентов лимфопения в финале заболевания регистрировалась в 3,1 раза чаще, чем среди выживших.

### 3.3 Цитокиновый профиль пациентов с COVID-19

В исследование методом случайной выборки было отобрано 15 пациентов с COVID-19, госпитализированных в ГАУЗ РКИБ в период с ноября 2021 г по апрель 2022 г. Характеристика пациентов представлена в таблице 12.

Таблица 12 – Характеристика обследованных пациентов

| Параметры               | Показатели |
|-------------------------|------------|
| Возраст (лет), Ме [МКР] | 64 [59–77] |
| Женский пол, абс.(%)    | 7 (47)     |
| День госпитализации     | 6 [5-8]    |

Продолжение таблицы 12

| Параметры                                                | Показатели       |
|----------------------------------------------------------|------------------|
| Объем поражения легких по данным КТ, абс. (%):           |                  |
| • КТ-1                                                   | 0                |
| • КТ-2                                                   | 6 (40)           |
| • КТ-3                                                   | 4 (27)           |
| • КТ-4                                                   | 5 (33)           |
| Коморбидные состояния, абс. (%):                         | 12 (80)          |
| • гипертоническая болезнь;                               | 10 (67)          |
| • сахарный диабет;                                       | 5 (33)           |
| • ожирение;                                              | 3 (20)           |
| • фибрилляция предсердий;                                | 1 (6,5)          |
| • онкологические заболевания                             | 1 (6,5)          |
| С-реактивный белок, мг/л, Ме [МКР]                       | 27 [20–40,6]     |
| Ферритин, нг/мл, Ме [МКР]                                | 827 [433–1244]   |
| Лейкоцитов в ОАК, $\times 10^9/\text{л}$ , Ме [МКР]      | 7,9 [7,2–11,5]   |
| Нейтрофилов в ОАК, $\times 10^9/\text{л}$ , Ме [МКР]     | 7,5 [6,1–10,5]   |
| Нейтрофилов в ОАК, %, Ме [МКР]                           | 84,9 [76,5–89,6] |
| Лимфоцитов в ОАК, $\times 10^9/\text{л}$ , Ме [МКР]      | 0,7 [0,5–1,5]    |
| Лимфоцитов в ОАК $< 0,8 \times 10^9/\text{л}$ , абс. (%) | 11 (73)          |
| Койко-день, Ме [МКР]                                     | 15 [13–22]       |

У всех пациентов было диагностировано тяжелое течение COVID-19. У 6 больных (40%) объем поражения легких соответствовал критериям КТ-2, у 4 (27%) – КТ-3, у 5 (33%) – КТ-4. У всех больных отмечалось повышение в крови процентного содержания нейтрофилов и уровня СРБ. Повышение уровня ферритина в крови выявлено у 13 из 15 пациентов (87%). В 73% случаях имела место лимфопения. Больные получали противовирусную, противовоспалительную и антикоагулянтную терапию. Все пациенты нуждались в дотации кислорода, пятеро находились на ИВЛ. У 5 больных наступил летальный исход. У 12 пациентов (80%) отмечалась коморбидная патология, наиболее часто — гипертоническая болезнь (67%), сахарный диабет (33%) и

ожирение (20%). В контрольную группу вошли 10 условно здоровых людей аналогичного возраста (медиана составила 62 года).

Установлено, что в остром периоде COVID-19 у всех 15 пациентов отмечалось повышение в сыворотке крови уровня ФНО-альфа, ИЛ-2, ИЛ-6 и ГМ-КСФ (таблица 13).

Таблица 13 – Показатели цитокинов в сыворотке крови у пациентов с COVID-19 (Ме; МКР)

| Показатели              | Пациенты с COVID-19<br>(n=15) | Группа<br>сравнения (n=10) | p       |
|-------------------------|-------------------------------|----------------------------|---------|
| ФНО-α, пг/мл            | 17,9 [10,7–26,4]              | 2,8 [2,2–3,5]              | 0,00003 |
| Интерлейкин-2,<br>пг/мл | 3,8 [2,9–9,5]                 | 0,8 [0,6–1]                | 0,0001  |
| Интерлейкин-6,<br>пг/мл | 377,8 [249,2–630,9]           | 3,1 [2,7–3,4]              | 0,00003 |
| ГМ-КСФ, пг/мл           | 2,4 [1,2–6,6]                 | 0,5 [0,4–0,7]              | 0,00006 |

Примечание - определение статистической значимости проводилось методом Манна-Уитни

При этом наиболее выраженное повышение демонстрировал ИЛ-6, медиана которого превышала аналогичный показатель в группе контроля в 122 раза. У двух пациентов с КТ-3 уровень ИЛ-6 превысил 1000 пг/мл, причем наиболее высокий показатель данного цитокина (1633 пг/мл) был зафиксирован у пациента 56 лет, у которого наступил летальный исход. Уровень ИЛ-6 среди умерших пациентов был в 1,7 раза выше, чем у выживших, однако это различие не было статистически значимым ( $p > 0,05$ ). Содержание в сыворотке крови ФНО-альфа и ГМ-КСФ превышало значения контрольной группы в 6,4 и 4,8 раза соответственно. Медиана ИЛ-2 в сыворотке крови превышала показатель группы контроля в 4,7 раза.

Был проведен сравнительный анализ уровня цитокинов в крови при различных объемах поражения легких. Выявлено, что у пациентов с объемом поражения легких более 50% (КТ-3-4) медианы всех изучаемых показателей были

выше, чем у пациентов с КТ-2. Концентрации в крови ФНО-альфа и ИЛ-6 у пациентов с COVID-19 коррелировали с объемом поражения легких: при КТ-3-4 медианы значений ФНО-альфа и ИЛ-6 были выше, чем аналогичные показатели у пациентов с КТ-2 в 2,6 и 2,3 раза соответственно ( $p < 0,05$ ) (таблица 14). По двум другим цитокинам (ИЛ-2 и ГМ-КСФ) подобных различий не выявлено.

Таблица 14 – Показатели цитокинов в сыворотке крови у пациентов с COVID-19 с учетом объема поражения легких (Ме; МКР)

| Показатели           | Объем поражения легких |                    | p     |
|----------------------|------------------------|--------------------|-------|
|                      | КТ 2 (n=6)             | КТ 3-4 (n=9)       |       |
| ФНО-α, пг/мл         | 15,2 [10,7–19,7]       | 40,2 [35–44,3]     | 0,01  |
| Интерлейкин-2, пг/мл | 3,0 [2,6–3,9]          | 9,5 [5,3–9,7]      | 0,1   |
| Интерлейкин-6, пг/мл | 305,9 [249,2–403]      | 705,6 [630,9–1021] | 0,002 |
| ГМ-КСФ, пг/мл        | 2,0 [0,9–2,9]          | 6,6 [2,9–9,1]      | 0,2   |

Примечание - определение статистической значимости проводилось методом Манна-Уитни

Частыми гематологическими проявлениями тяжелых форм COVID-19 являются нейтрофилез и лимфопения. В данном исследовании повышение в крови процентного содержания нейтрофилов отмечалось у всех 15 больных, увеличение абсолютного числа нейтрофилов выше  $7 \times 10^9/\text{л}$  – в 14 случаях (93%). У 11 из 15 пациентов (73%) выявлено снижение абсолютного числа лимфоцитов в крови менее  $0,8 \times 10^9/\text{л}$ . Как известно, ИЛ-2 и ГМ-КСФ являются индукторами пролиферации и дифференцировки лимфоцитов и нейтрофилов, соответственно [280, 281, 282, 283, 284]. Был проведен корреляционный анализ между значениями ФНО-альфа, ИЛ-2, ИЛ-6, с одной стороны, и абсолютным количеством лимфоцитов — с другой. Корреляционной связи между уровнем цитокинов и лимфопенией не выявлено (таблица 15). Не было установлено корреляции и между уровнем нейтрофилов и ГМ-КСФ ( $r = 0,13$ ;  $p = 0,6$ ).

Таблица 15 – Корреляционный анализ между уровнем провоспалительных цитокинов и лимфоцитов в крови у пациентов с COVID-19

| Показатели | ФНО-альфа             | ИЛ-6                  | ИЛ-2                |
|------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| Лимфоциты  | $r = -0,25, p = 0,35$ | $r = -0,24, p = 0,37$ | $r = 0,38, p = 0,2$ |

Примечание - определение статистической значимости проводилось методом Манна-Уитни

Таким образом, проведенное исследование цитокинового профиля позволило установить ключевую роль ИЛ-6 в развитии тяжелых форм COVID-19. Биологические эффекты ИЛ-6 у пациентов с тяжелыми формами COVID-19 разнообразны и включают синтез белков острой фазы воспаления – СРБ, ферритина, фибриногена. Повышение в крови ФНО-альфа, хотя и было менее выраженным по сравнению с ИЛ-6, играет значительную роль в развертывании клинико-лабораторных признаков воспаления у пациентов с COVID-19. Следует отметить, что наиболее высокие значения ФНО-альфа и ИЛ-6 в крови регистрировались у пациентов с КТЗ-4, что отражает корреляцию между выраженностью воспалительной реакции и объемом поражения легких. Для установления связи между абсолютным количеством лимфоцитов в крови и воспалительной реакцией организма проводилась оценка влияния ИЛ-6 и других значимых маркеров воспаления на развитие лимфопении.

### 3.4 Влияние воспаления на выраженность лимфопении

Учитывая, что SARS-CoV-2-индуцированное воспаление может влиять на выраженность лимфопении, был проведен корреляционный анализ между показателями основных воспалительных маркеров (СРБ, ферритин, ЛДГ, ИЛ-6, индекс Н/Л, Д-димер) и абсолютным количеством лимфоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19.

Показатели маркеров воспаления у пациентов с COVID-19 при госпитализации и в финале заболевания представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Показатели маркеров воспаления у пациентов с COVID-19 в динамике заболевания (Ме, [МКР])

| Показатели                        | Пациенты с COVID-19 (n=409) |                      | p-значение |
|-----------------------------------|-----------------------------|----------------------|------------|
|                                   | При госпитализации          | В исходе заболевания |            |
| Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$ | 0,88 [0,64 – 1,26]          | 0,93 [0,6-1,6]       | 0,8        |
| С-реактивный белок, мг/л          | 93,2 [39,7 – 147,5]         | 20,88 [3,8 - 89]     | 0,002      |
| Ферритин, нг/мл                   | 448,7 [185,5 - 1214]        | 563,1 [282-1097]     | 0,01       |
| ЛДГ, Ед/л                         | 340,65 [237,3 – 495]        | 522,3 [433 - 724]    | 0,0001     |
| Интерлейкин-6, пг/мл              | 12,6 [3,7-33,3]             | 65,4[18,8-300]       | 0,0001     |
| Индекс Н/Л                        | 5,2 [3,2-8,4]               | 6,3 [2,4-15,7]       | 0,04       |
| Д-димер                           | 1025 [375 - 2544]           | 1498 [408 - 7311]    | <0,0001    |

Примечание – определение статистической значимости проводилось по критерию Уилкоксона

Корреляционный анализ выявил наличие достоверной отрицательной связи между показателями всех воспалительных маркеров и уровнем лимфоцитов в крови ( $p < 0,05$ ). Чем выше был показатель воспалительных маркеров, тем более низкий уровень лимфоцитов отмечался у пациентов с COVID-19. Сильную корреляционную связь с лимфопенией демонстрировал уровень Д-димера и индекса Н/Л ( $r = -0,8$ ), умеренно выраженную – ЛДГ ( $r = -0,6$ ) (таблица 17).

Таким образом, полученные результаты показали, что степень тяжести лимфопении у пациентов с COVID-19 коррелирует с выраженностью воспалительной реакции организма. Наиболее значимая корреляционная связь установлена между лимфоцитами с показателями индекса Н/Л, Д-димером и ЛДГ, умеренная – с ферритином и ИЛ-6.

Таблица 17 – Корреляционный анализ между показателями маркеров воспаления и числом лимфоцитов в крови у пациентов с COVID-19

| Параметры                 | При госпитализации   | В исходе заболевания |
|---------------------------|----------------------|----------------------|
| С-реактивный белок, мг/л  | $r = -0,2; p=0,07$   | $r = -0,3; p<0,0001$ |
| Ферритин, нг/мл           | $r = -0,3; p=0,005$  | $r = -0,4; p=0,002$  |
| Лактатдегидрогеназа, Ед/л | $r = -0,6; p<0,0001$ | $r = -0,5; p<0,0001$ |
| Интерлейкин-6, пг/мл      | $r = -0,3; p=0,03$   | $r = -0,5; p=0,01$   |
| Индекс Н/Л                | $r = -0,6; p<0,0001$ | $r = -0,8; p<0,0001$ |
| Д-димер, нг/мл            | $r = -0,2; p=0,017$  | $r = -0,8; p=0,02$   |

Примечание -  $r$  – коэффициент Спирмена

### 3.5 Изучение выраженности апоптоза лимфоцитов крови у пациентов с COVID-19

Исследование проводилось однократно, в период развернутых проявлений COVID-19 – в первые 3 дня госпитализации и в среднем на 9-й день заболевания (95% ДИ 8–10). В исследование вошли 75 пациентов с COVID-19 в возрасте от 20 до 90 лет. Медиана возраста составила 66 лет. У 56% пациентов заболевание протекало в среднетяжелой форме, в 44% случаях – в тяжелой. Лимфопения выявлена у 31 (41,3%) больного. У 80% пациентов отмечались сопутствующие заболевания, среди которых наиболее часто регистрировалась гипертоническая болезнь (в 60% случаев). Респираторную поддержку получали 85% пациентов. Группу сравнения составили 20 условно здоровых людей аналогичного возраста. Подробная характеристика основной и контрольной групп представлена в таблице 18.

Было установлено, что острый период COVID-19 протекает на фоне усиления активности апоптоза лимфоцитов периферической крови. Медиана изучаемого показателя у пациентов с COVID-19 составила 30%, что в 2,3 раза превышала аналогичный показатель контрольной группы (13%),  $p=0,0001$ . Результаты сравнительного анализа отображены на рисунках 5 и 6.

Таблица 18 – Клинико-лабораторная характеристика пациентов

| Параметр                                                                                                                                                                                                                                                         | Пациенты с COVID-19, n=75                                                               | Группа сравнения, n=20                                                        | p-значение                                                                                                                                        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Возраст (лет), Me [МКР]                                                                                                                                                                                                                                          | 66 [51-77]                                                                              | 65 [53-68]                                                                    | p=0,2                                                                                                                                             |
| Женский пол, (абс, %)                                                                                                                                                                                                                                            | 43 (57)                                                                                 | 12 (60)                                                                       | $\chi^2= 0,8$ ; p=1                                                                                                                               |
| День госпитализации (Me, МКР)                                                                                                                                                                                                                                    | 7 [5-8]                                                                                 | –                                                                             |                                                                                                                                                   |
| Объем поражения легких, (абс., %):<br>-КТ-1;<br>-КТ-2;<br>-КТ-3                                                                                                                                                                                                  | 33 (44)<br>28 (37)<br>14 (19)                                                           | –<br>–<br>–                                                                   |                                                                                                                                                   |
| Сопутствующие заболевания (абс., %):<br>-гипертоническая болезнь;<br>-сахарный диабет<br>-ожирение;<br>-нарушения ритма сердца;<br>-ХОБЛ<br>-хроническая болезнь почек (ХБП);<br>-онкологические заболевания (в стадии ремиссии)<br>- хронический гастродуоденит | 60 (80)<br>44 (73)<br>18 (30)<br>12 (20)<br>6 (10)<br>4 (7)<br>6 (10)<br>3 (5)<br>2 (3) | 16 (80)<br>10 (62)<br>-<br>4 (25)<br>2 (12,5)<br>2 (12,5)<br>-<br>-<br>3 (19) | $\chi^2= 1$ ; p=1<br>$\chi^2= 0,7$ ; p=0,5<br>$\chi^2= 0,2$ ; p=0,7<br>$\chi^2= 0,08$ ; p=0,6<br>$\chi^2= 0,59$ ; p=0,6<br>$\chi^2= 4,8$ ; p=0,06 |
| Респираторная поддержка, (абс., %):<br>-НПО;<br>-ВПО;<br>-ИВЛ                                                                                                                                                                                                    | 75 (100)<br>59 (79)<br>6 (8)<br>10 (13)                                                 | -<br>-<br>-<br>-                                                              |                                                                                                                                                   |

Продолжение таблицы 18

| Параметр                                               | Пациенты с COVID-19, n=75 | Группа сравнения, n=20 | p-значение |
|--------------------------------------------------------|---------------------------|------------------------|------------|
| Лейкоцитов в ОАК, ( $\times 10^9/\text{л}$ ), Ме [МКР] | 7,2 [5,5-9,4]             | 5,2 [4,5-6,3]          | p=0,01     |
| Лимфоцитов в ОАК ( $\times 10^9/\text{л}$ ), Ме [МКР]  | 1,1 [0,7-1,5]             | 2,5 [2,1-3,4]          | p=0,0002   |
| Лимфоцитов $< 1,0 \times 10^9/\text{л}$ , (абс., %)    | 31 (41,3)                 | -                      |            |
| С-реактивный белок (мг/л), Ме [МКР]                    | 30,7 [3,8-59,4]           | -                      |            |
| Ферритин (нг/мл), Ме [МКР]                             | 433 [197-855]             | 107,5 [86–121]         | p=0,0003   |

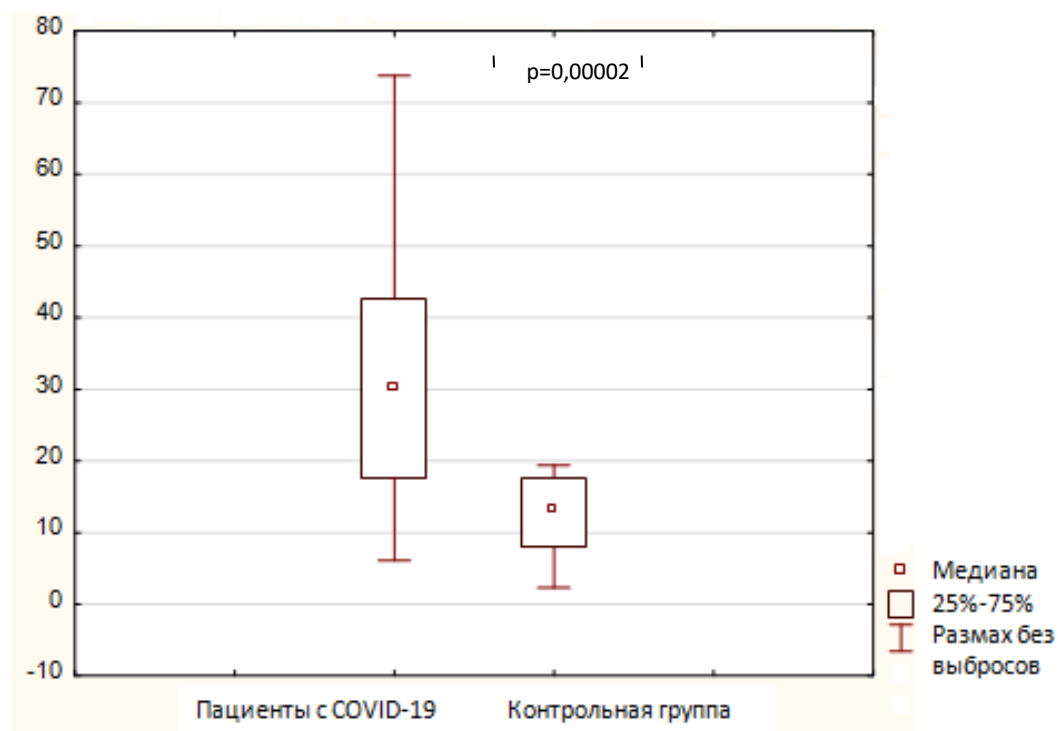


Рисунок 5 – Апоптоз лимфоцитов крови у пациентов с COVID-19 и контрольной группы

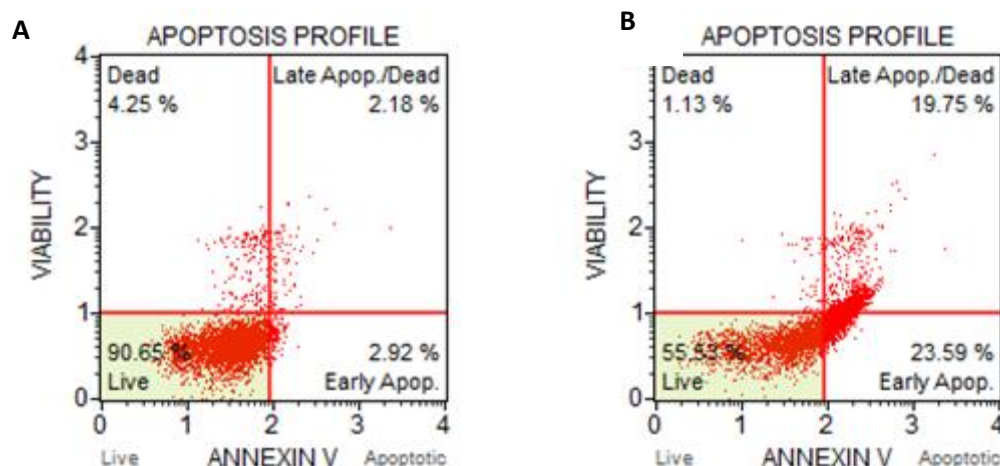


Рисунок 6 – Результаты исследования апоптоза лимфоцитов методом проточной цитометрии (А – контроль; В – пациент с COVID-19)

У 32 пациентов (42%) количество подвергшихся апоптозу лимфоцитов было выше показателей контроля в среднем в 1,5 раза, у 18 пациентов (24%) – в 2,5 раза, еще у 25 пациентов (33%) – в 4 раза. Было предположено, что показатели апоптоза лимфоцитов могут различаться в зависимости от возраста пациентов. Все больные были разделены на 3 возрастные группы: 20-45 лет, 45-65 лет и старше 65 лет. Наиболее высокие значения апоптоза лимфоцитов регистрировались у пациентов 45-65 лет, наименьшие – в возрастной группе 20-45 лет (таблица 19).

Таблица 19 – Показатели апоптоза лимфоцитов крови у пациентов с COVID-19 различных возрастных групп, Ме [МКР]

| Параметр                    | Пациенты с COVID-19             |                                 |                               | <i>p</i> -значение                                       |
|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|----------------------------------------------------------|
|                             | Группа 1<br>20-45 лет<br>(n=14) | Группа 2<br>45-65 лет<br>(n=34) | Группа 3<br>>65 лет<br>(n=27) |                                                          |
| Апоптоз<br>лимфоцитов,<br>% | 22,9 [15,3-<br>43]              | 33,5 [20,8-<br>43,6]            | 27,9 [17,8-<br>41,9]          | $p_{1-2} = 0,0001$<br>$p_{1-3} = 0,7$<br>$p_{2-3} = 0,2$ |

Было установлено, что выраженность апоптоза лимфоцитов коррелирует с тяжестью заболевания: медиана показателя у пациентов с тяжёлым течением

COVID-19 была в 2 раза выше, чем при среднетяжелом течении ( $p=0,0001$ ). При этом, статистической разницы в количестве лимфоцитов периферической крови между сравниваемыми группами не выявлено (таблица 20).

Таблица 20 – Показатели апоптоза лимфоцитов крови у пациентов с COVID-19 в зависимости от тяжести заболевания, Ме [МКР].

| Параметр                          | Среднетяжелое течение COVID-19 (n=42) | Тяжелое течение COVID-19 (n=33) | p-значение |
|-----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|------------|
| Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$ | 1,78 [1,3-2,5]                        | 1,5 [1-2,4]                     | 0,5        |
| Апоптоз лимфоцитов, %             | 19,1 [13-31,7]                        | 40,8 [31,7-49,4]                | 0,0001     |

Учитывая, что на активность апоптоза лимфоцитов крови может оказать влияние воспалительная реакция, был проведён корреляционный анализ выраженности апоптоза лимфоцитов с ключевыми маркерами воспаления – С-реактивным белком и ферритином. Установлена заметно выраженная прямая корреляционная связь показателя апоптоза лимфоцитов с уровнем ферритина в крови (коэффициент Спирмена = 0,5,  $p=0,0001$ ). Корреляционной связи показателя апоптоза лимфоцитов с уровнем С-реактивного белка не выявлено. Показатели апоптоза лимфоцитов в зависимости от исхода заболевания представлены в таблице 21.

Таблица 21 – Показатели апоптоза лимфоцитов крови у пациентов с COVID-19 в зависимости от исхода заболевания, Ме [МКР]

| Параметр                          | Выжившие пациенты (n=66) | Умершие пациенты (n=9) | p-значение |
|-----------------------------------|--------------------------|------------------------|------------|
| Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$ | 1,84 [1,3-2,6]           | 0,87 [0,57-1,44]       | 0,001      |
| Апоптоз лимфоцитов, %             | 27,7 [17-40,7]           | 43,7 [32,1-58,7]       | 0,009      |

Оценка изучаемых показателей с учётом исхода заболевания показала, что в группе умерших пациентов количество лимфоцитов в крови было в 2,1 раза ниже по сравнению с выжившими. При этом активность апоптоза лимфоцитов в группе

умерших пациентов была значимо выше, чем в группе выживших. Результаты представлены в таблице 21.

Далее была проведена оценка операционных характеристик диагностического теста «апоптоз лимфоцитов» в оценке риска летального исхода. Было установлено, что апоптоз лимфоцитов выше 50% у пациентов с COVID-19 ассоциируется с риском летального исхода ( $p=0,01$ ).

Риск летального исхода при этом возрастал в 7,7 раз. Положительный результат теста на апоптоз лимфоцитов был максимально правдоподобен ( $LR+=9,1$ ), что позволяет рассматривать его как достаточно надёжный. Результаты приведены в таблице 22.

Таблица 22 – Апоптоз лимфоцитов и риск летальности при COVID-19

| Апоптоз лимфоцитов, % | Se | Sp | PPV | NPV | LR+ | LR- | OR, 95% ДИ     | p    |
|-----------------------|----|----|-----|-----|-----|-----|----------------|------|
| Порог отсечения – 50% | 82 | 91 | 36  | 92  | 9,1 | 0,2 | 7,7 [2,4-33,3] | 0,01 |

Примечание - *OR* – отношение шансов, *PPV* –прогностическое значение положительного результата теста, *NPV* –прогностическое значение отрицательного результата теста, *Se* – чувствительность теста, *Sp* – специфичность теста, *LR+*–отношение правдоподобия положительного результата теста, *LR-* – отношение правдоподобия отрицательного результата теста, *p* – уровень статистической значимости

Таким образом, проведенное исследование позволило установить, что среднетяжелые и тяжелые формы COVID-19 протекают на фоне активации процессов апоптоза лимфоцитов. Данный факт свидетельствует о том, что апоптоз является значимой причиной развития лимфопении у пациентов с COVID-19. Наиболее высокие показатели апоптоза регистрировались при тяжелых формах заболевания, а количество подвергшихся апоптозу лимфоцитов более 50% в 7,7 раза увеличивало риск летального исхода. Установлена корреляционная связь между выраженностью апоптоза лимфоцитов и уровнем ферритина, что указывает на роль воспалительного процесса в индукции гибели

клеток. Клиническое значение активации апоптоза лимфоцитов у пациентов с COVID-19 состоит в том, что с процессами клеточной гибели ассоциируется развитие тяжелых форм заболевания и высокий риск неблагоприятного исхода.

### 3.6 Определение выраженности лимфоцитарной инфильтрации тканей легких и селезенки пациентов, умерших от COVID-19

Был изучен аутопсийный материал ткани легких и селезенки, полученный от 17 пациентов, умерших от COVID-19. Характеристика пациентов представлена в таблице 23.

Таблица 23 - Клинико-лабораторная характеристика умерших пациентов

| Параметры                                                                   | Пациенты с COVID-19 (n = 17) | Группа сравнения (n = 11)      | p                                                                                |
|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Возраст (лет), Me [МКР]                                                     | 77 [68,5-82]                 | 82 [72-84]                     | p = 0,6                                                                          |
| Возраст пациентов, абс. (%):<br>- 60-70 лет;<br>- 70-80 лет;<br>- 80-91 лет | 5 (29)<br>4 (23,5)<br>8 (47) | 2 (18)<br>3 (27,2)<br>6 (54,5) | $\chi^2 = 0,4$ ; p = 0,7<br>$\chi^2 = 0,05$ ; p = 1<br>$\chi^2 = 0,15$ ; p = 0,7 |
| Женский пол (чел), абс. (%)                                                 | 9 (53)                       | 8 (73)                         | p = 0,1                                                                          |
| Объем поражения легких КТ-3, абс. (%):                                      | 17 (100)                     | -                              | -                                                                                |
| Основное заболевание, абс. (%)                                              |                              |                                |                                                                                  |
| Вирусная инфекция COVID-19                                                  | 17 (100)                     | -                              | -                                                                                |
| ОНМК                                                                        | -                            | 1 (9)                          | -                                                                                |
| Инфаркт миокарда                                                            | -                            | 8 (73)                         | -                                                                                |
| Панкреонекроз                                                               | -                            | 2 (18)                         | -                                                                                |

Продолжение таблицы 23

| Параметры                                           | Пациенты с COVID-19 (n = 17) | Группа сравнения (n = 11) | p                        |
|-----------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Коморбидные состояния, абс. (%):                    | 17 (100)                     | 9 (82)                    | $\chi^2 = 0,06$ , p=1    |
| - гипертоническая болезнь;                          | 14 (82)                      | 11(85)                    | $\chi^2 = 0,001$ , p=0,7 |
| - ожирение;                                         | 0 (0)                        | 3 (27)                    | -                        |
| - сахарный диабет;                                  | 0 (0)                        | 4 (36)                    | -                        |
| - хроническая болезнь почек                         | 3 (18)                       | 3 (27)                    | $\chi^2 = 0,3$ , p=0,7   |
| - нарушения ритма сердца;                           | 2 (12)                       | 2 (18)                    | $\chi^2 = 0,16$ , p=1    |
| - хронический гастродуоденит                        | 2 (12)                       | 4 (36)                    | $\chi^2 = 2,1$ , p=0,36  |
| Лимфоцитов в ОАК, $\times 10^9/\text{л}$ ; Ме [МКР] | 0,4 [0,2 – 1,0]              | 2,7 [2,1 – 3,2]           | p = 0,001                |

Медиана возраста пациентов составила 77 лет. В группу сравнения вошли 11 пациентов, умерших по иным причинам, не связанным с COVID-19.

Лимфопения отмечалась только в группе пациентов, умерших от COVID-19 и регистрировалась во всех 17 случаях. Медиана лимфоцитов у пациентов с COVID-19 в финале заболевания была, в среднем, в 6,7 раз меньше, чем в контрольной группе.

Во всех наблюдениях в легких выявлялись признаки диффузного альвеолярного повреждения (ДАП), чаще экссудативной его фазы, в отдельных наблюдениях – в начале пролиферативной стадии. Прежде всего, обращали на себя внимание изменения кровеносного микроциркуляторного русла. Сосуды были расширены и полнокровны (рисунок 7), их площадь, по сравнению с контролем, увеличивалась в 2,5 раза (таблица 24) с выраженным увеличением экспрессии МКАТ против CD31 (рисунки 8, 9).

Таблица 24 – Площадь кровеносных сосудов легкого (в % от общей площади среза, M+m)

| Группа сравнения (n=10) | COVID-19 (n=17) | p    |
|-------------------------|-----------------|------|
| 7,6 $\pm$ 0,74          | 19,3 $\pm$ 1,01 | 0,02 |

Определялись стаз, явления тромбообразования и выход эритроцитов за пределы сосудистого русла. Отмечалась очаговая альтерация эндотелия, его набухание и десквамация эндотелиоцитов. В просвете некоторых сосудов обнаруживались скопления мононуклеаров, которые отсюда проникали в альвеолы (рисунки 10, 11). Эпителий бронхов был подвержен деструкции со слущиванием иногда его целых пластов (рисунок 12).

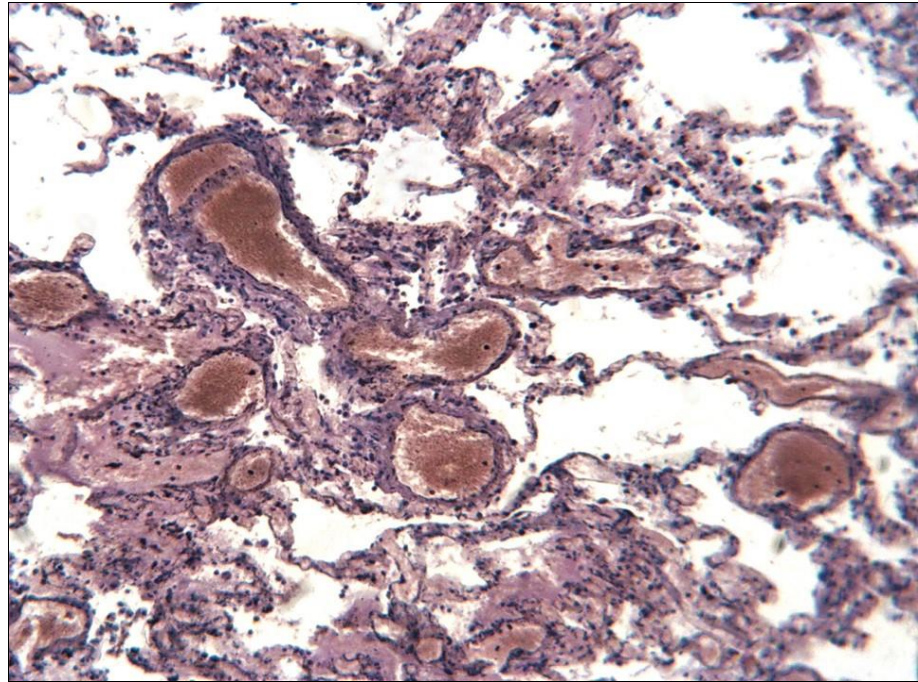


Рисунок 7 – Расширение просвета, полнокровие и тромбообразование в кровеносных сосудах легкого у пациента с COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение  $\times 200$ .

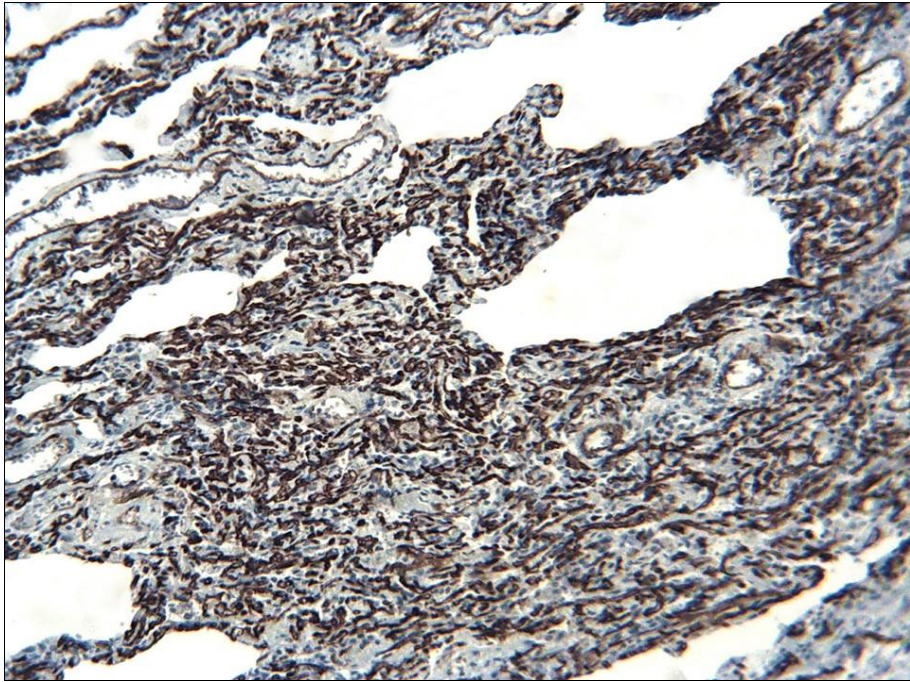


Рисунок 8 – Высокая экспрессия МКАТ против CD31 в эндотелии сосудов легкого у пациента с COVID-19. LSAB-метод с докраской гематоксилином.  
Увеличение  $\times 200$ .

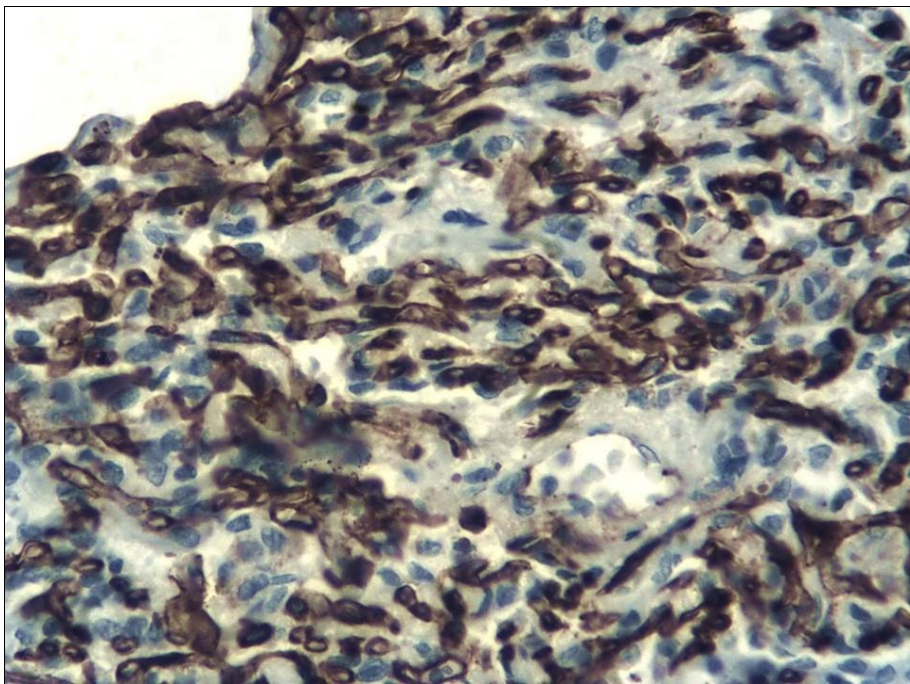


Рисунок 9 – Деталь рисунка 8. Увеличение  $\times 400$ .

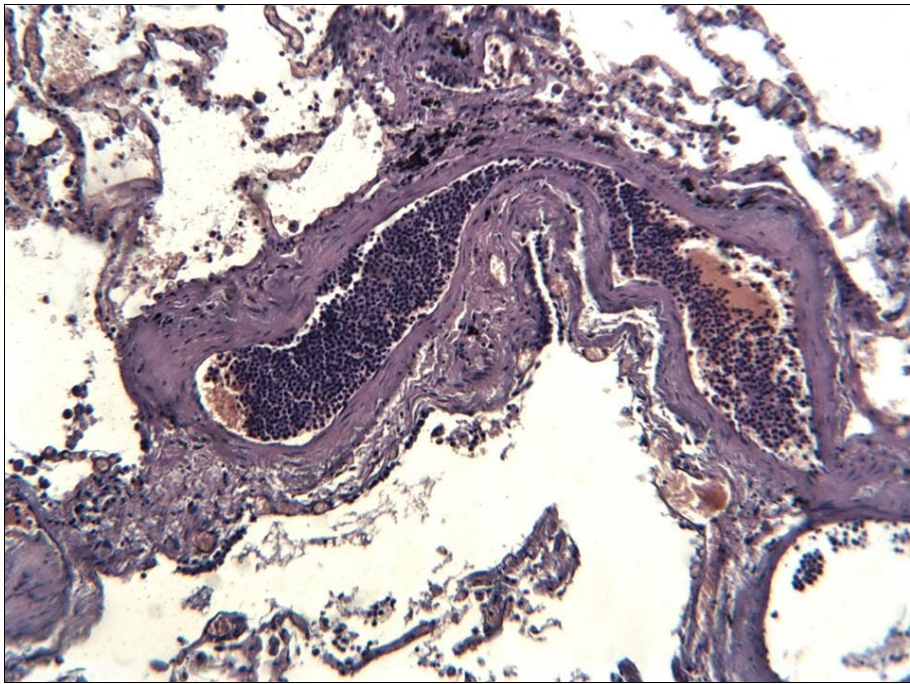


Рисунок 10 – Скопление мононуклеаров в кровеносном сосуде легкого у пациента с COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение  $\times 200$ .

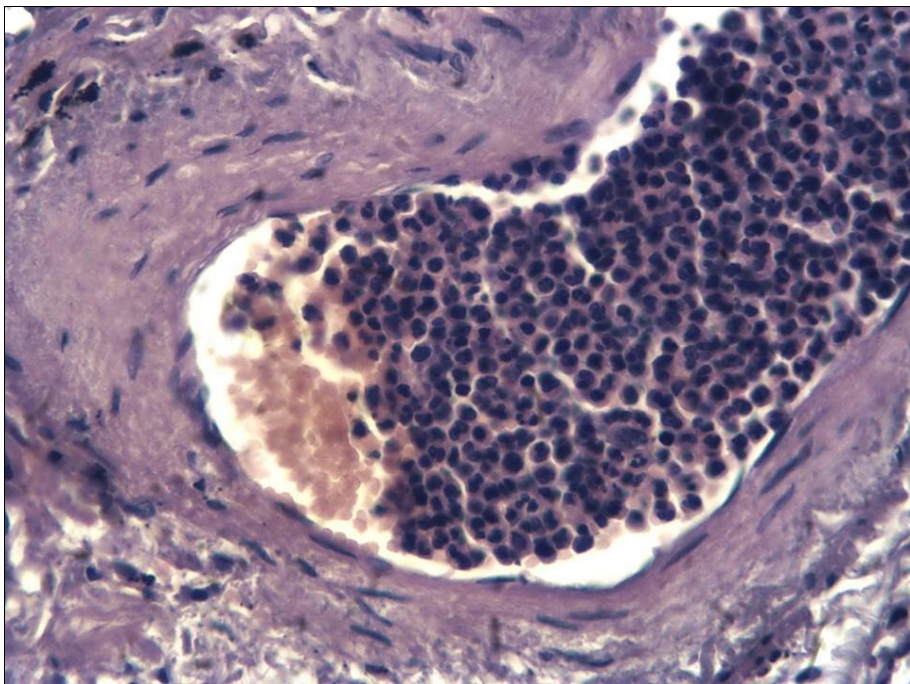


Рисунок 11 – Деталь рисунка 10. Увеличение  $\times 400$ .

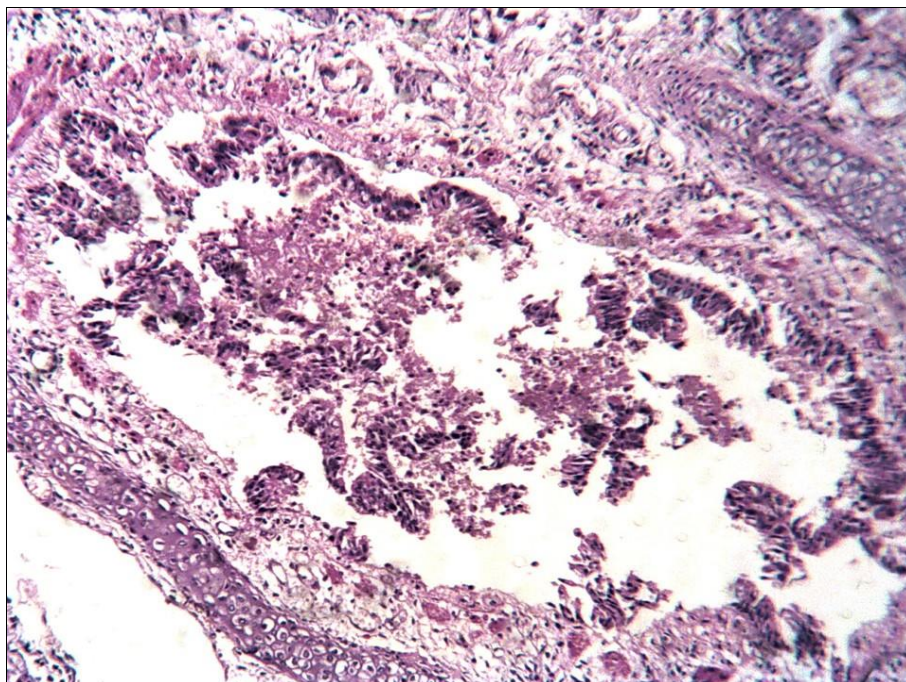


Рисунок 12 – Деструкция и десквамация эпителия бронха у пациента с COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение  $\times 200$ .

Перибронхиально отмечалась инфильтрация из лимфоцитов, плазматических клеток и макрофагов. Альвеолярный эпителий был частично десквамирован с образованием крупных, неправильной формы клеток. Межальвеолярные перегородки были резко полнокровны с наличием лимфогистиоцитарной инфильтрации. В просвете альвеол содержалась отечная жидкость с эритроцитами, нейтрофилами, лимфоцитами, макрофагами, слущенными альвеолоцитами с формированием гиалиновых мембран (рисунки 13, 14).

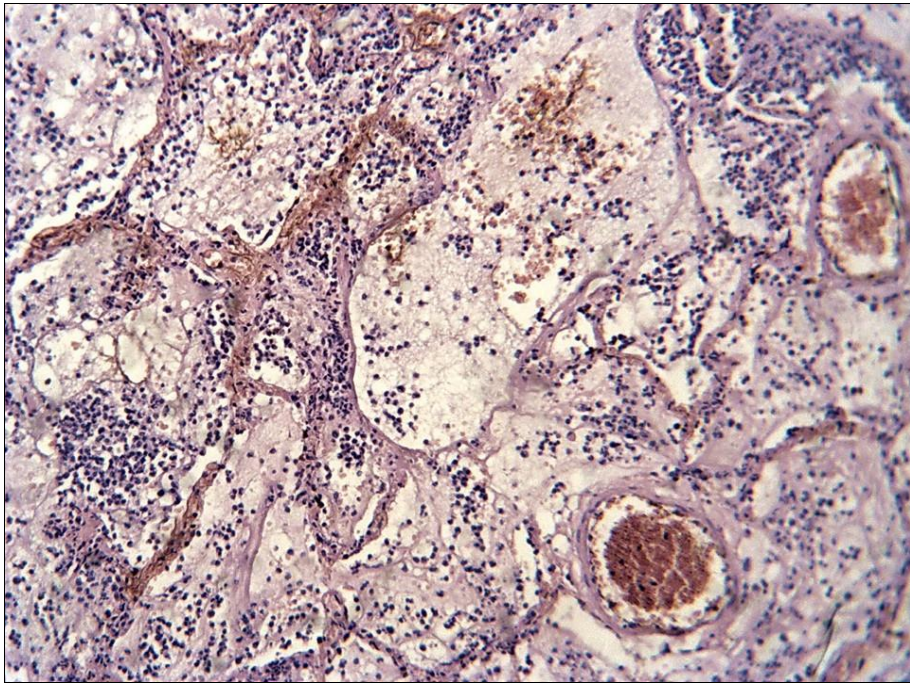


Рисунок 13 – Экссудативная стадия диффузного альвеолярного повреждения легких у пациента с COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение  $\times 200$ .

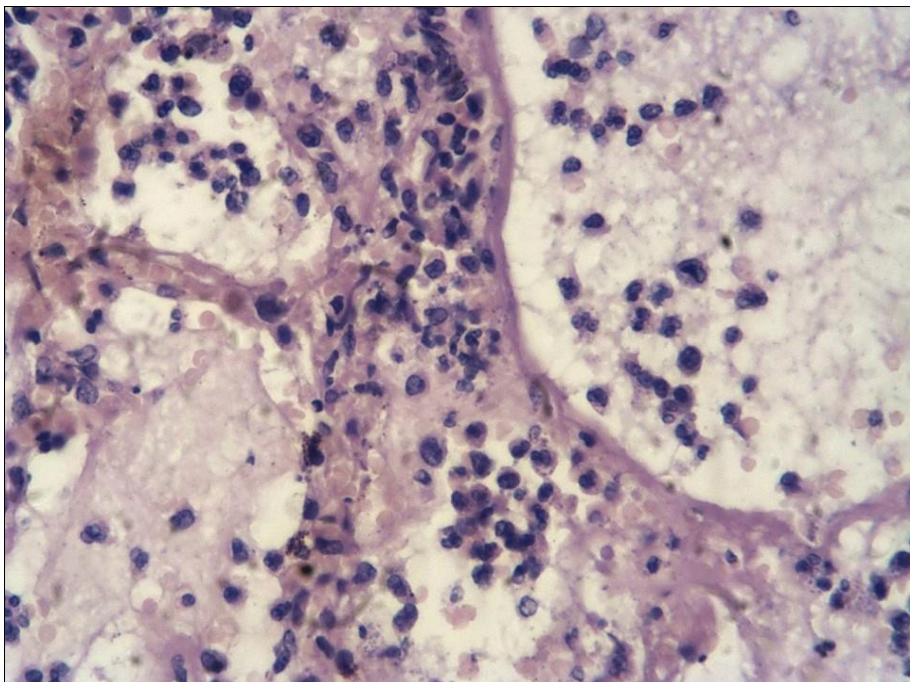


Рисунок 14 – Деталь рисунка 13. Увеличение  $\times 400$ .

Иммуногистохимический анализ показал увеличение содержания CD3+ Т-лимфоцитов и CD68+ макрофагов по сравнению с группой сравнения в 2,8 и 1,7 раза, соответственно (таблица 25).

Таблица 25 – Содержание иммунокомпетентных клеток в легком (в % от общего числа клеточных элементов, М+м).

| Клеточный элемент | Группа сравнения<br>(n=11) | COVID-19<br>(n=17) | p     |
|-------------------|----------------------------|--------------------|-------|
| CD3+ Т-лимфоциты  | 4,6 $\pm$ 0,43             | 13,2 $\pm$ 1,00    | 0,002 |
| CD20+ В-лимфоциты | 7,9 $\pm$ 0,86             | 8,5 $\pm$ 0,94     | 0,67  |
| CD68+ макрофаги   | 11,3 $\pm$ 0,94            | 19,1 $\pm$ 1,26    | 0,03  |

При этом данные клеточные элементы располагались не только в межальвеолярных перегородках, но и в просвете альвеол (рисунки 15, 16). Количество CD20+ В-лимфоцитов хотя и было увеличено, но не давало статистически достоверной разницы с группой сравнения.

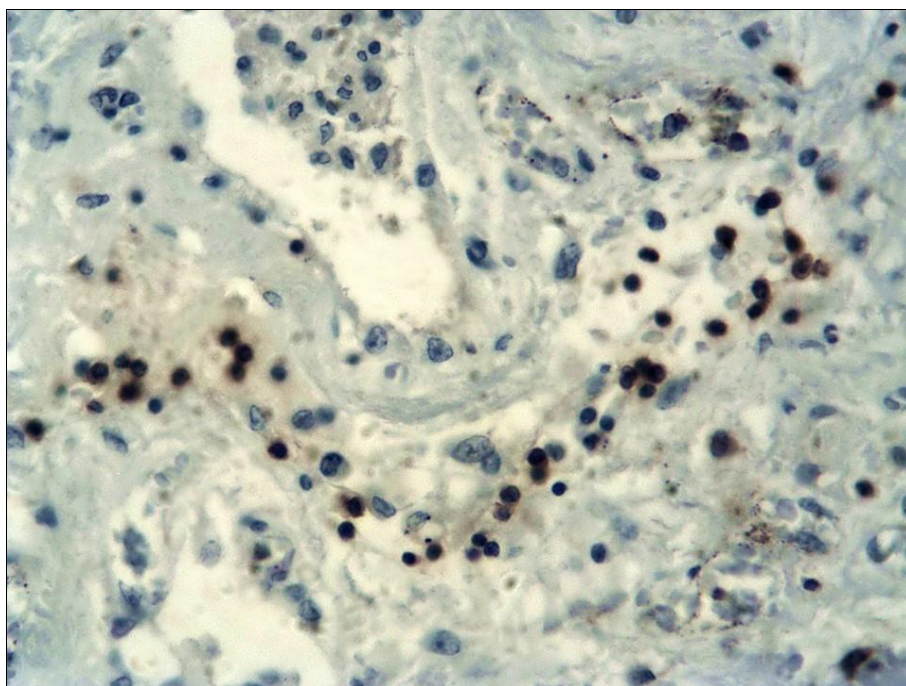


Рисунок 15 – CD3+ Т-лимфоциты в легком у пациента с COVID-19. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение  $\times 400$ .

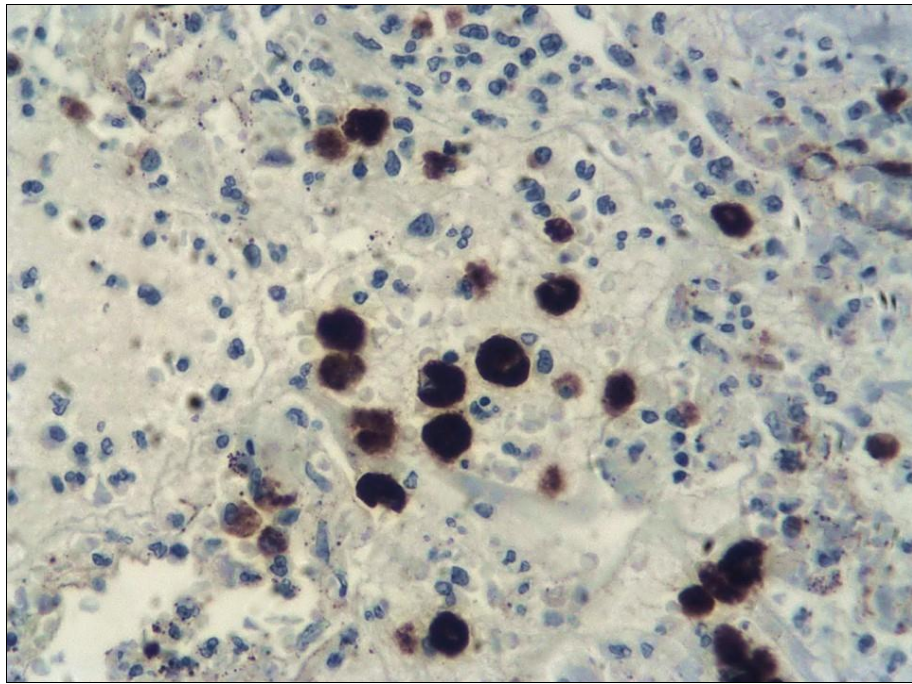


Рисунок 16 – CD68+ макрофаги в легком у пациента с COVID-19. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение  $\times 400$ .

Иногда В-клетки образовывали фолликулоподобные структуры (рисунок 17).

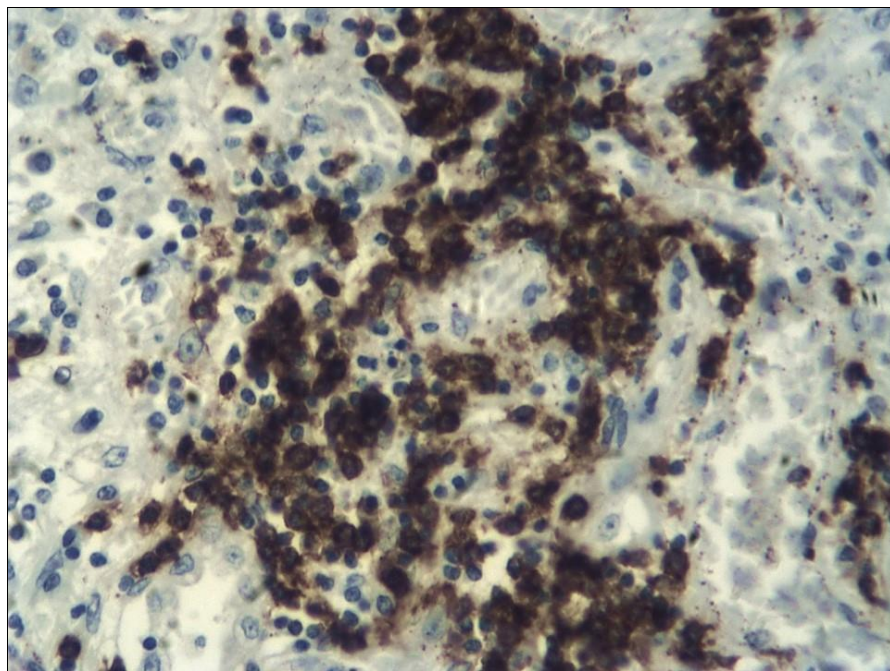


Рисунок 17 – Фолликулярная структура из CD20+ В-лимфоцитов в легком у пациента с COVID-19. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение  $\times 400$ .

При развитии пролиферативной стадии ДАП происходило углубление микроциркуляторных расстройств, увеличение клеточной инфильтрации просвета альвеол лимфоцитами, макрофагами, эритроцитами и слущенными альвеолоцитами, отложение фибрина, развитие интерстициального воспаления в межалвеолярных перегородках, а в ряде случаев развитие очаговой пневмонии (рисунки 18, 19).

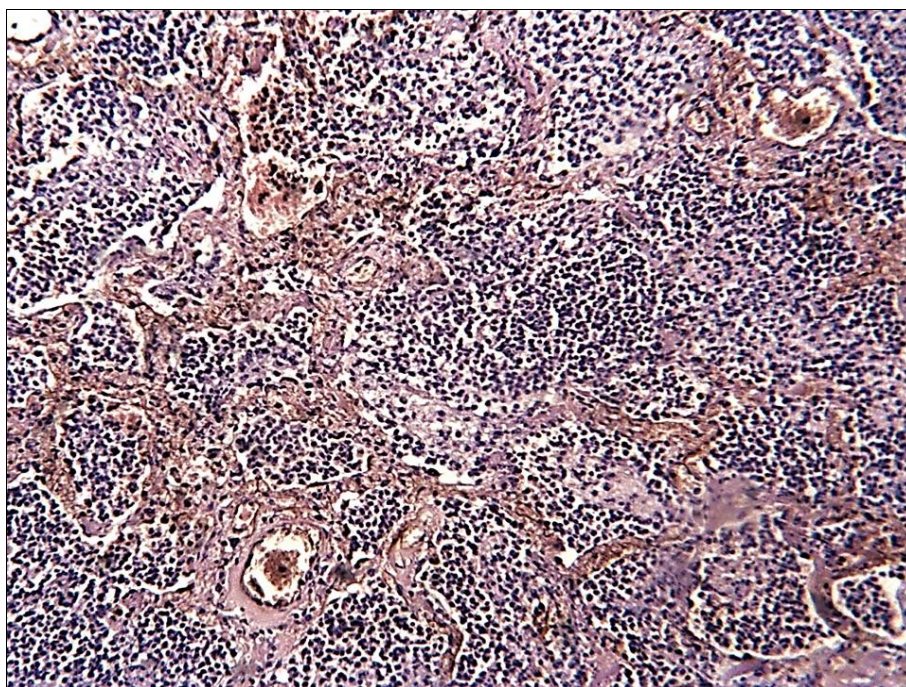


Рисунок 18 – Проллиферативная стадия диффузного альвеолярного повреждения легких у пациента с COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение  $\times 200$ .

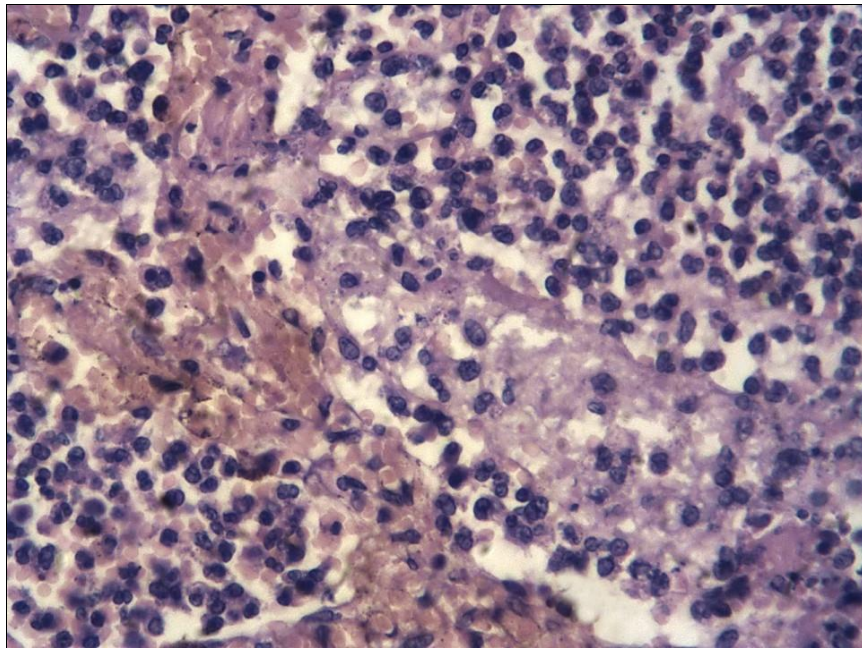


Рисунок 19 – Деталь рисунка 18. Увеличение  $\times 400$ .

В селезенке также обнаруживались расстройства кровообращения в виде выраженного полнокровия и кровоизлияний красной пульпы (рисунок 20).

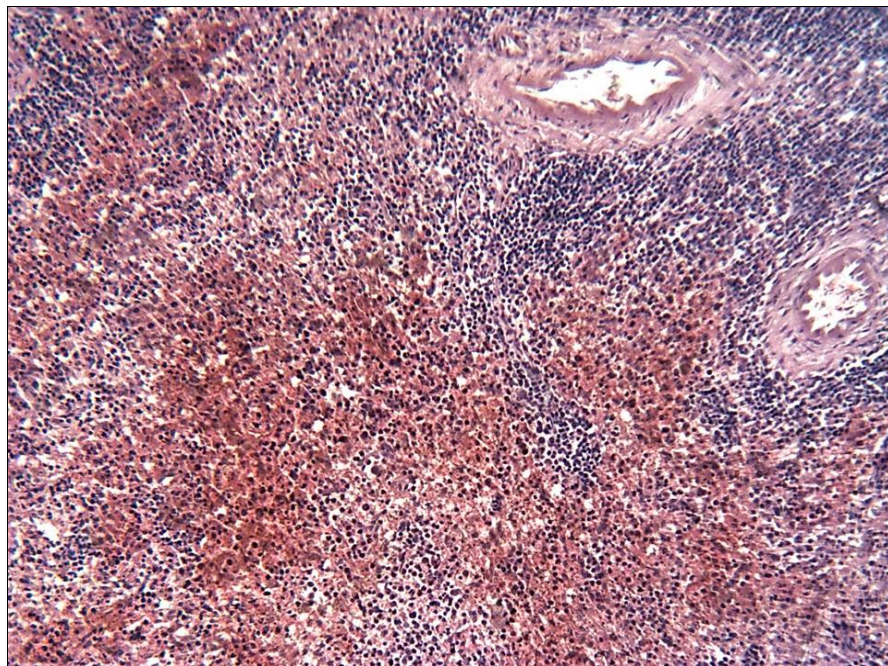


Рисунок 20 – Выраженное полнокровие и кровоизлияния в красной пульпе селезенки у пациента с COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином.

Увеличение  $\times 200$ .

Белая пульпа атрофировалась, это касалось как Т-, так и В-зависимых зон. Площадь Т-зависимых периартериальных муфт и В-зависимых лимфоидных фолликулов снижалась по сравнению с группой сравнения в 1,7 раза (таблица 26). Параллельно уменьшалось содержание CD3+ Т-лимфоцитов и CD20+ В-лимфоцитов в 2,7 и 1,4 раза, соответственно (таблица 27, рисунки 21, 22, 23, 24, 25, 26). Количество CD68+ макрофагов существенно не менялось и даже имело тенденцию к незначительному увеличению, но это различие не было статистически значимым (рисунки 27, 28). Наряду с описанными изменениями структурных и клеточных элементов отмечалась фрагментация ретикулярных волокон с нарушением архитектоники селезенки.

Таблица 26 – Площади Т- и В-зависимых зон селезенки (в % от общей площади среза, М+м).

| <b>Структурный компонент</b>              | <b>Группа сравнения (n=11)</b> | <b>COVID-19 (n=17)</b> | <b>p</b> |
|-------------------------------------------|--------------------------------|------------------------|----------|
| Т-зависимые зоны (периартериальные муфты) | 12,2 $\pm$ 1,10                | 7,3 $\pm$ 0,71         | 0,02     |
| В-зависимые зоны (лимфоидные фолликулы)   | 16,7 $\pm$ 1,17                | 9,5 $\pm$ 0,93         | 0,026    |

Таблица 27 – Содержание иммунокомпетентных клеток в селезенке (в % от общего числа клеточных элементов, М+м).

| <b>Клеточный элемент</b> | <b>Группа сравнения (n=11)</b> | <b>COVID-19 (n=17)</b> | <b>p</b> |
|--------------------------|--------------------------------|------------------------|----------|
| CD3+ Т-лимфоциты         | 14,6 $\pm$ 1,36                | 5,3 $\pm$ 0,38         | 0,001    |
| CD20+ В-лимфоциты        | 11,3 $\pm$ 0,99                | 7,9 $\pm$ 0,82         | 0,032    |
| CD68+ макрофаги          | 51,5 $\pm$ 2,61                | 55,1 $\pm$ 2,44        | 0,4      |

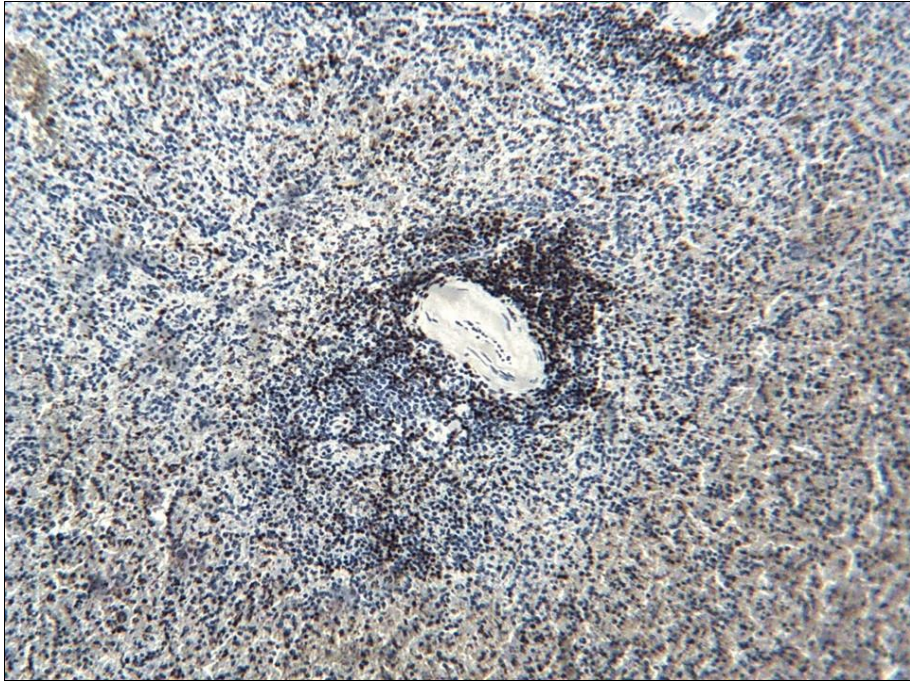


Рисунок 21 – CD3+ клетки в Т-зависимой периартериальной зоне селезенки у пациента без COVID-19. LSAB-метод с докраской гематоксилином.  
Увеличение  $\times 200$ .

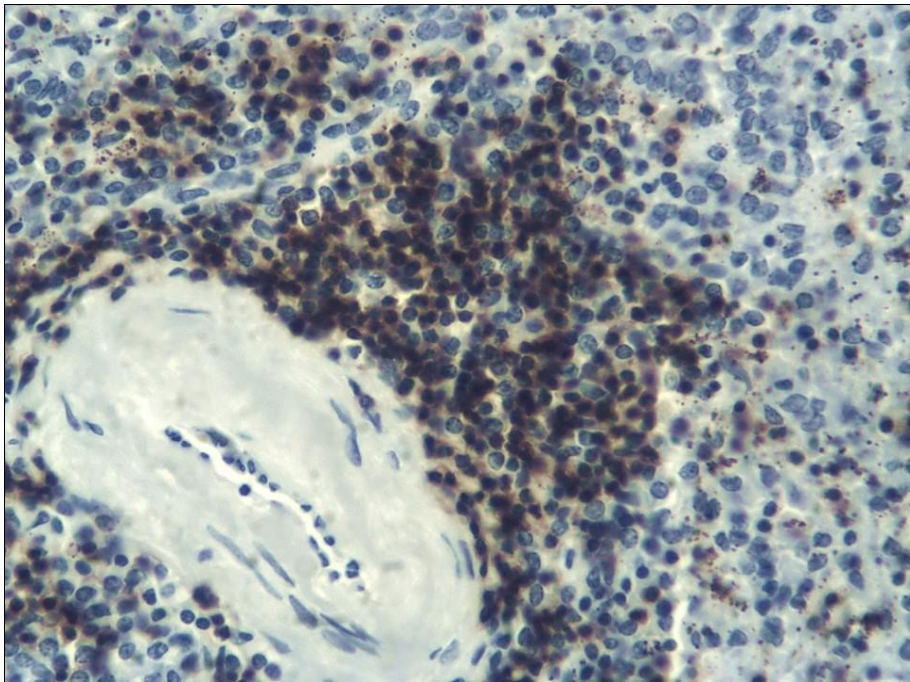


Рисунок 22 – Деталь рисунка 21. Увеличение  $\times 400$ .



Рисунок 23 – Уменьшение содержания CD3+ клеток в Т-зависимой периартериальной зоне селезенки у пациента с COVID-19. Реакция с МКАТ против CD3. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение  $\times 200$ .

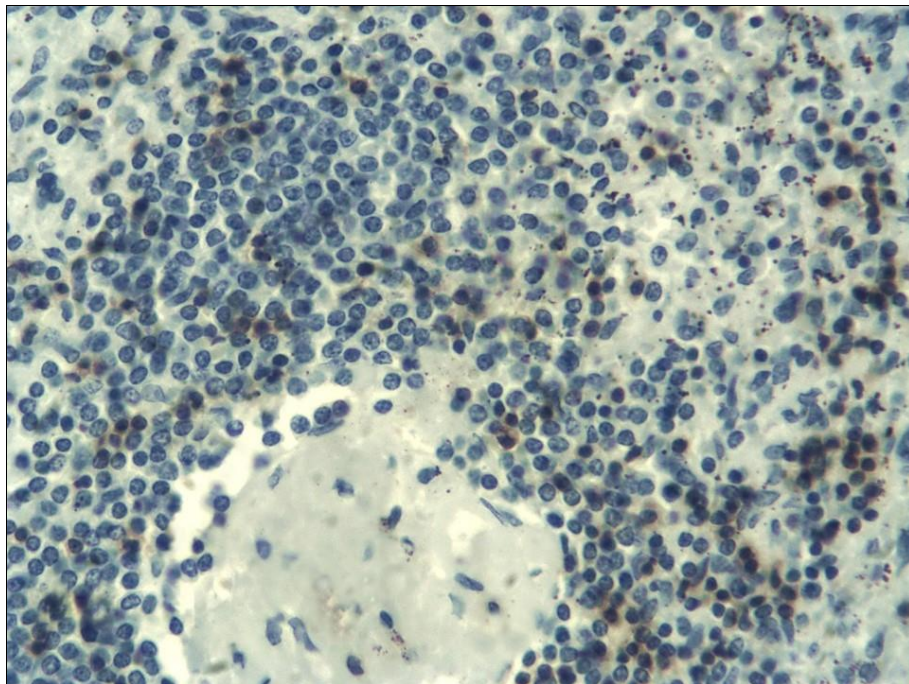


Рисунок 24 – Деталь рисунка 23. Увеличение  $\times 400$ .

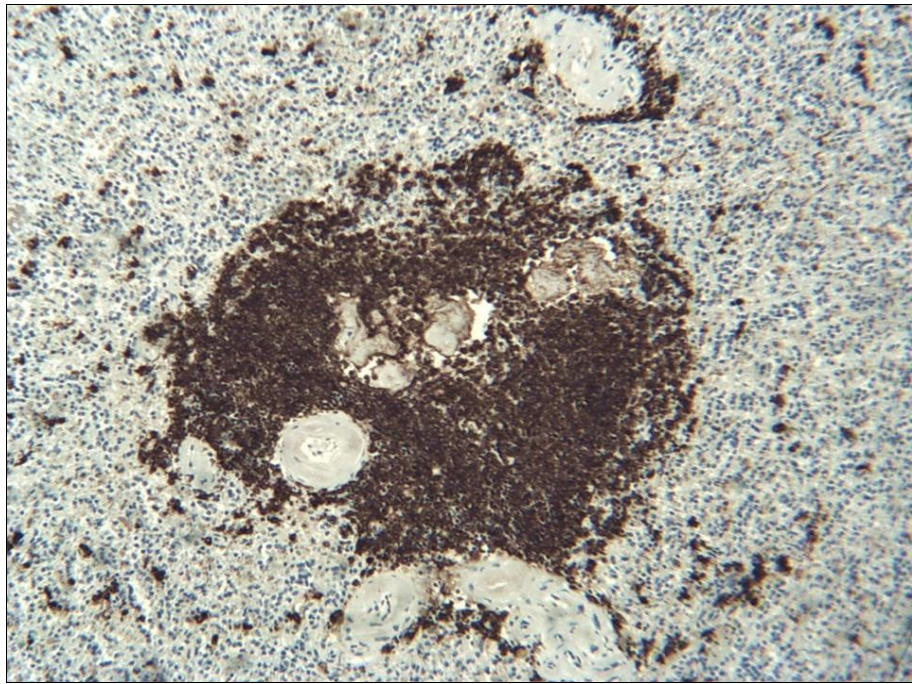


Рисунок 25 – В-зависимая зона - лимфоидный фолликул селезенки у пациента без COVID-19. Реакция с МКАТ против CD20. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение  $\times 200$ .

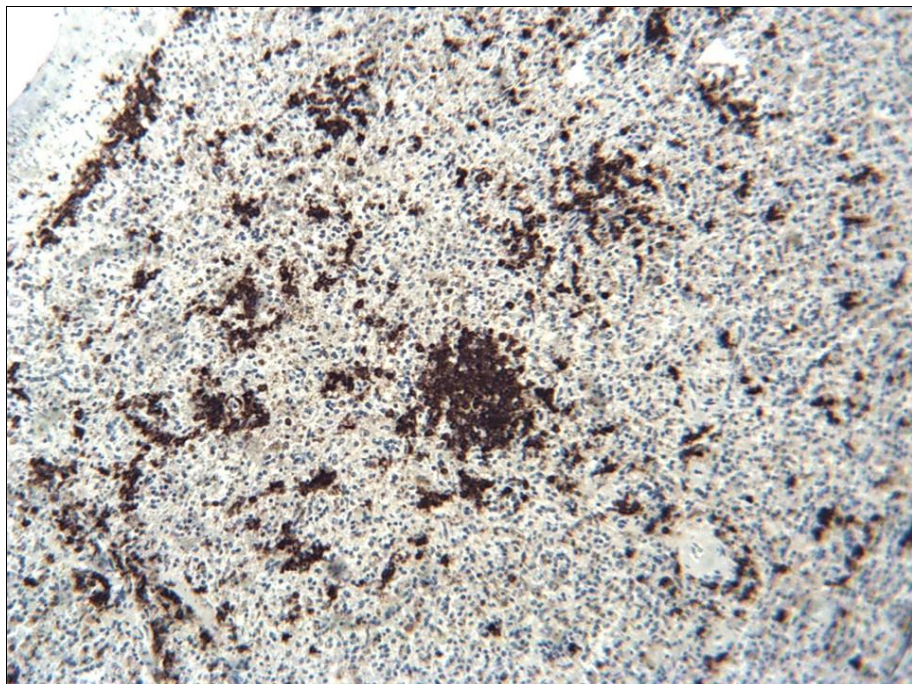


Рисунок 26 – Атрофия лимфоидного фолликула селезенки у пациента с COVID-19. Реакция с МКАТ против CD20. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение  $\times 200$ .



Рисунок 27 – CD68+ макрофаги в селезенке у пациента с COVID-19. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение  $\times 200$ .

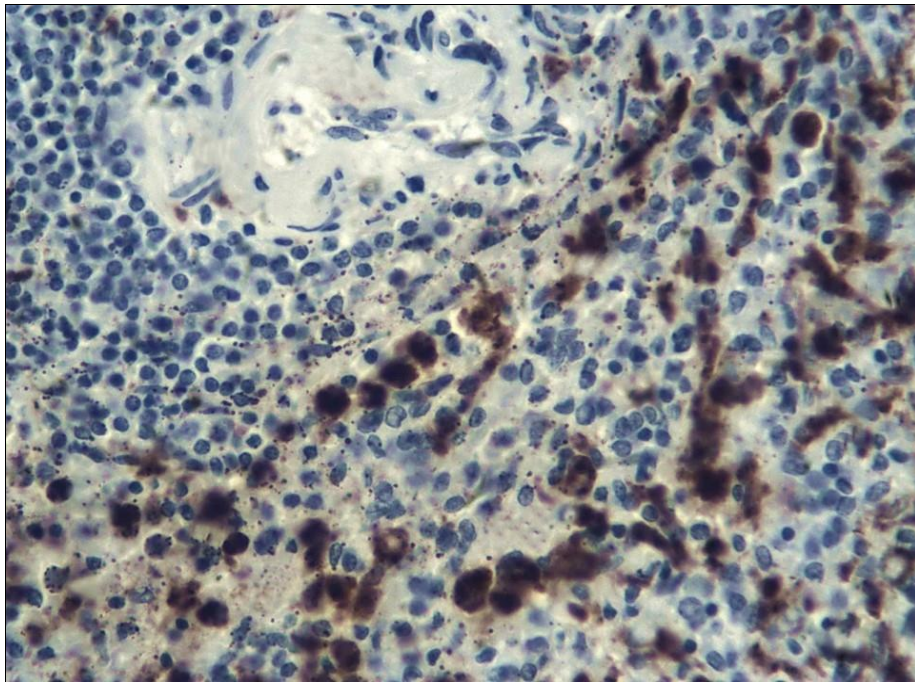


Рисунок 28 – Деталь рисунка 27. Увеличение  $\times 400$ .

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало, что у пациентов с тяжелым течением COVID-19 отмечается увеличение количества CD3+ Т- лимфоцитов в легочной ткани, число которых возросло в 2,8 раза.

Одновременно с этим, выявлено снижение в 1,7 раза площади Т- и В-зависимых зон белой пульпы селезенки по сравнению с пациентами без COVID-19, что указывает на формирование иммуносупрессии. При этом число CD3+ Т-лимфоцитов и CD20+ В-лимфоцитов в ткани селезенки уменьшалось в 2,7 и 1,4 раза, соответственно.

### **3.7 Частота развития бактериальных, грибковых и герпесвирусных инфекций у пациентов с COVID-19**

Бактериальные инфекции у пациентов с COVID-19 регистрировались у 145 из 409 пациентов (35,4%): у 71 больного (17,3%) диагностирована инфекция мочевыводящих путей (ИМВП), в 65 случаях (15,9%) отмечалось развитие пневмонии, в 9 (2,2%) – сепсиса.

Инфекция мочевыводящих путей у 25 (35,2%) из 71 больного проявлялась развитием острого, в 36 случаях (50,7%) – обострением хронического пиелонефрита, в 10 случаях (14,1%) диагностирован острый цистит.

При бактериологическом исследовании мокроты у 16 пациентов с пневмонией был выделен *Streptococcus pneumoniae*, у 14 – *Klebsiella pneumoniae*, у пятерых – *Acinetobacter baumannii*. У 30 пациентов этиология пневмонии не установлена, диагноз в этих случаях был выставлен на основании клинико-лабораторных данных (наличие гнойной мокроты, лейкоцитоз и нейтрофилез в периферической крови), результатах КТ органов грудной клетки (очаги консолидации легочной ткани).

Сепсис во всех случаях был выставлен на основании развития синдрома системного воспалительного ответа и полиорганной недостаточности. Микроорганизм из крови был выделен у 5 из 8 пациентов: у троих – *Staphylococcus epidermidis*, у двух – *Enterococcus faecalis*.

Грибковые инфекции регистрировались у 72 пациентов (17,6%) из 409. У 5 пациентов (7%), длительно находившихся на ИВЛ, отмечался положительный ПЦР-тест на ДНК *Aspergillus fumigatus* в мокроте. В остальных 67 случаях (93%)

причиной грибковой инфекции была *Candida albicans*. У 19 пациентов наблюдались локализованные формы (орофарингеальный кандидоз), подтвержденные обнаружением роста *C. albicans* в смывах из ротоглотки, у 17 больных *C. albicans* обнаруживалась в мокроте. Кроме того, у 31 пациентки отмечались клинические проявления грибковой инфекции слизистых половых органов.

У 5 пациентов отмечалась активная герпетическая инфекция. В 4-х случаях причиной заболевания был вирус простого герпеса (ВПГ), в одном – цитомегаловирус (ЦМВ). Инфекция, обусловленная ВПГ, проявлялась в виде поражения слизистых оболочек ротоглотки и половых органов. У пациента с реактивацией ЦМВИ в крови обнаружены ДНК ЦМВ, IgM и IgG ЦМВ.

Было установлено, что бактериальные пневмонии, ИМВП и грибковые инфекции у пациентов с COVID-19 развивались чаще при лимфопении – в 7,1, 3,7 и 3,8 раза, соответственно (таблица 28). Развитие сепсиса отмечалось только у больных с лимфопенией.

Причем, как бактериальные, так и грибковые инфекции у пациентов с COVID-19 развивались, в основном, у пациентов с тяжелой лимфопенией (таблица 29). Обострение хронических герпесвирусных инфекции происходило достоверно чаще у пациентов с уровнем лимфоцитов в крови менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$ .

Таблица 28 – Частота развития вторичных инфекций у пациентов с COVID-19 в зависимости от уровня лимфоцитов в крови

| Вторичные инфекции                     | Пациенты с уровнем лимфоцитов $<1,0 \times 10^9/\text{л}$ (n = 282) | Пациенты с уровнем лимфоцитов $>1,0 \times 10^9/\text{л}$ (n = 127) | p                           |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| Бактериальные пневмонии (абс., %)      | 57 (20)                                                             | 8 (6)                                                               | $\chi^2 = 19$ ; $p < 0,001$ |
| Инфекции мочевыводящих путей (абс., %) | 56 (20)                                                             | 15 (12)                                                             | $\chi^2 = 3,9$ ; $p = 0,04$ |
| Сепсис (абс., %)                       | 9 (3)                                                               | 0 (0)                                                               | $\chi^2 = 2$ ; $p = 0,1$    |
| Грибковые инфекции (абс., %)           | 61 (22)                                                             | 11 (9)                                                              | $\chi^2 = 10$ ; $p = 0,002$ |

Продолжение таблицы 28

| Вторичные инфекции              | Пациенты с уровнем лимфоцитов $<1,0 \times 10^9/\text{л}$ (n = 282) | Пациенты с уровнем лимфоцитов $>1,0 \times 10^9/\text{л}$ (n = 127) | p                        |
|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Герпесвирусные инфекции (абс,%) | 4 (4)                                                               | 1 (1,5)                                                             | $\chi^2 = 0,02$ ; p=0,89 |

Таблица 29 – Частота развития вторичных инфекций у пациентов с COVID-19 с тяжелой лимфопенией

| Вторичные инфекции                     | Количество лимфоцитов в крови, $\times 10^9/\text{л}$ |                        |                    | p                                                                                                  |
|----------------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                        | 1) $< 0,5$ (n=80)                                     | 2) $0,5 - 1,0$ (n=202) | 3) $> 1,0$ (n=127) |                                                                                                    |
| Бактериальные пневмонии (абс., %)      | 35 (44)                                               | 22 (11)                | 8 (6)              | $\chi^2_{1-2} = 38,4$ ; p<0,001<br>$\chi^2_{1-3} = 42$ ; p<0,001                                   |
| Инфекции мочевыводящих путей (абс., %) | 25 (31,3)                                             | 31 (15,3)              | 15 (12)            | $\chi^2_{1-2} = 9$ ; p= 0,003<br>$\chi^2_{1-3} = 15,9$ ; p<0,001                                   |
| Сепсис (абс., %)                       | 7 (4)                                                 | 2 (1)                  | 0                  | $\chi^2_{1-2} = 11,1$ ; p<0,001                                                                    |
| Грибковые инфекции (абс., %)           | 27 (34)                                               | 34 (17)                | 11 (9)             | $\chi^2_{1-2} = 6,6$ ; p= 0,01<br>$\chi^2_{1-3} = 10,6$ ; p=0,002<br>$\chi^2_{2-3} = 1,2$ ; p=0,26 |
| Герпесвирусные инфекции (абс,%)        | 3 (4)                                                 | 1 (0,5)                | 1 (1,5)            | $\chi^2_{1-2} = 4,3$ ; p=0,038<br>$\chi^2_{1-3} = 0,9$ ; p=0,3<br>$\chi^2_{2-3} = 1$ ; p=0,3       |

Была разработана прогностическая модель для определения вероятности бактериальных инфекций в зависимости возраста пациентов, от проведения ИВЛ, введения антицитокиновых препаратов, ГКС, количества лимфоцитов в периферической крови методом бинарной логистической регрессии. Число наблюдений составило 409. Наблюдаемая зависимость описывается уравнениями (2) и (3):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\% \quad (2)$$

$$z = -0,750 + 0,121X_{\text{да}} + 0,121X_{\text{да}} + 0,440X_{\text{лимфоциты} < 1,0 \times 10^9/\text{л}} + 0,337X_{\text{да}} + 0,994X_{\text{лимфоциты} < 0,5 \times 10^9/\text{л}} + 0,121X_{\text{возраст} > 60 \text{ лет}}, \quad (3)$$

где  $P$  – оценка вероятности показателя 2,  $z$  – значение логистической функции,  $X_{\text{да}}$  – ИВЛ (0 – нет, 1 – да),  $X_{\text{да}}$  – прием антицитокиновых препаратов (0 – нет, 1 – да),  $X_{\text{лимфоциты} < 1,0 \times 10^9/\text{л}}$  – Лимфоциты в ОАК,  $\times 10^9/\text{л}$  \_1 (0 – лимфоциты  $> 1,0 \times 10^9/\text{л}$ , 1 – лимфоциты  $< 1,0 \times 10^9/\text{л}$ ),  $X_{\text{да}}$  – прием ГКС (0 – нет, 1 – да),  $X_{\text{лимфоциты} < 0,5 \times 10^9/\text{л}}$  – Лимфоциты в ОАК,  $\times 10^9/\text{л}$  (0 – лимфоциты  $> 0,5 \times 10^9/\text{л}$ , 1 – лимфоциты  $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$ ),  $X_{\text{возраст} > 60 \text{ лет}}$  – Возраст\_1 (0 – возраст  $< 60$  лет, 1 – возраст  $> 60$  лет).

Полученная регрессионная модель с точки зрения соответствия прогнозируемых значений наблюдаемым при включении предикторов по сравнению с моделью без предикторов не была статистически значимой ( $p = 0,141$ ). Псевдо- $R^2$  Нагелкерка составил 18,6%.

При оценке количества лимфоцитов в периферической крови с порогом отсечения менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  вероятность развития бактериальной инфекции увеличивалась в 2,7 раза (таблица 30).

Графически полученные результаты сравнения представлены на рисунке 29.

Таблица 30 – Характеристики связи предикторов модели с шансами развития бактериальных инфекций у пациентов с COVID-19

| Предикторы                          | Unadjusted           |            | Adjusted             |       |
|-------------------------------------|----------------------|------------|----------------------|-------|
|                                     | COR; 95% ДИ          | p          | AOR; 95% ДИ          | p     |
| Возраст $> 60$ лет                  | 1,818; 0,979 – 3,377 | 0,058      | 1,129; 0,899 – 1,418 | 0,296 |
| ИВЛ                                 | 1,818; 0,979 – 3,377 | 0,058      | 1,129; 0,899 – 1,418 | 0,296 |
| Введение антицитокиновых препаратов | 1,818; 0,979 – 3,377 | 0,058      | 1,129; 0,899 – 1,418 | 0,296 |
| Введение ГКС                        | 3,199; 1,669 – 6,129 | $<0,001^*$ | 1,400; 0,552 – 3,557 | 0,479 |

Продолжение таблицы 30

| Предикторы                                      | Unadjusted           |            | Adjusted             |        |
|-------------------------------------------------|----------------------|------------|----------------------|--------|
|                                                 | COR; 95% ДИ          | p          | AOR; 95% ДИ          | p      |
| Лимфоцитов в крови $< 1,0 \times 10^9/\text{л}$ | 3,822; 1,998 – 7,316 | $<0,001^*$ | 1,552; 0,558 – 4,319 | 0,400  |
| Лимфоцитов в крови $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$ | 4,194; 2,184 – 8,061 | $<0,001^*$ | 2,703; 1,188 – 6,147 | 0,018* |

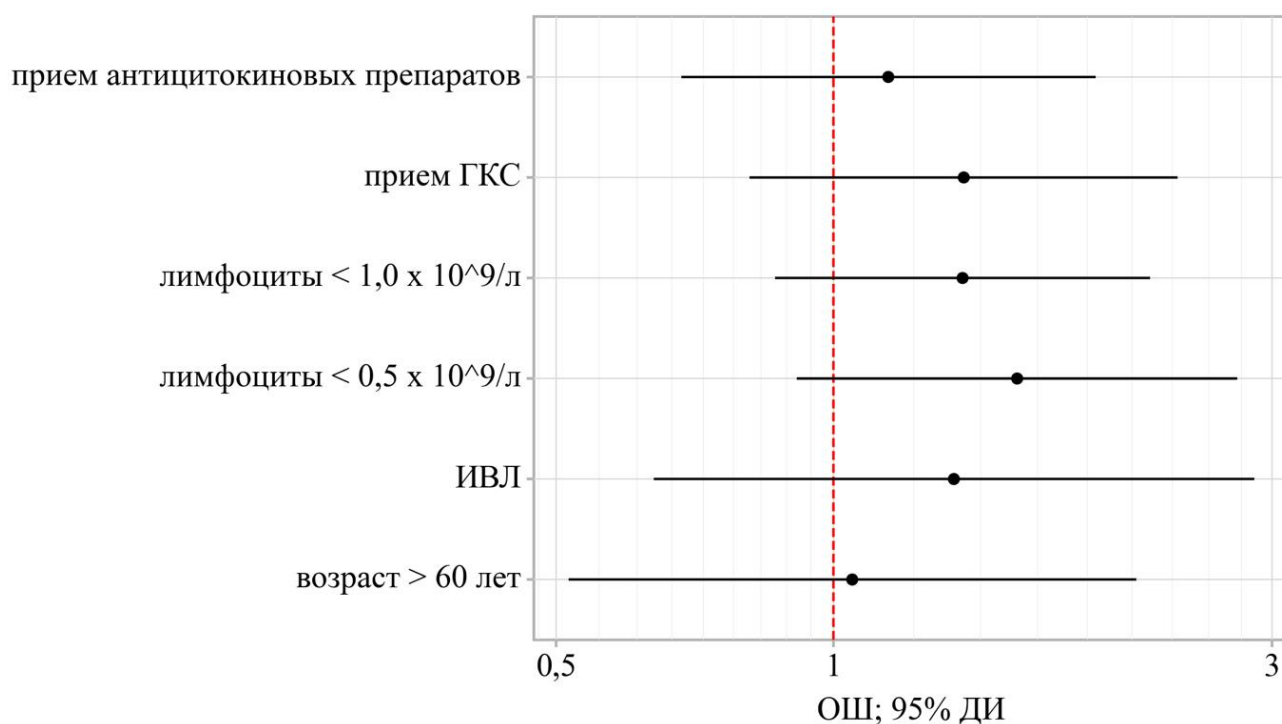


Рисунок 29 – Оценки отношения шансов (ОШ и 95% ДИ) для изучаемых предикторов бактериальных инфекций

При оценке зависимости вероятности развития вторичных бактериальных инфекций у пациентов с COVID-19 от значения логистической функции Р с помощью ROC-анализа (receiver operating characteristic) была получена следующая кривая (рисунок 30).

Оценка вероятности Р является статистически значимым предиктором бактериальных инфекций (AUC = 0,711; 95% ДИ: 0,634 – 0,788,  $p < 0,001$ ).

Пороговое значение оценок вероятности  $P$  в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,591. Чувствительность и специфичность полученной прогностической модели составили 81,1% и 61,1%, соответственно.

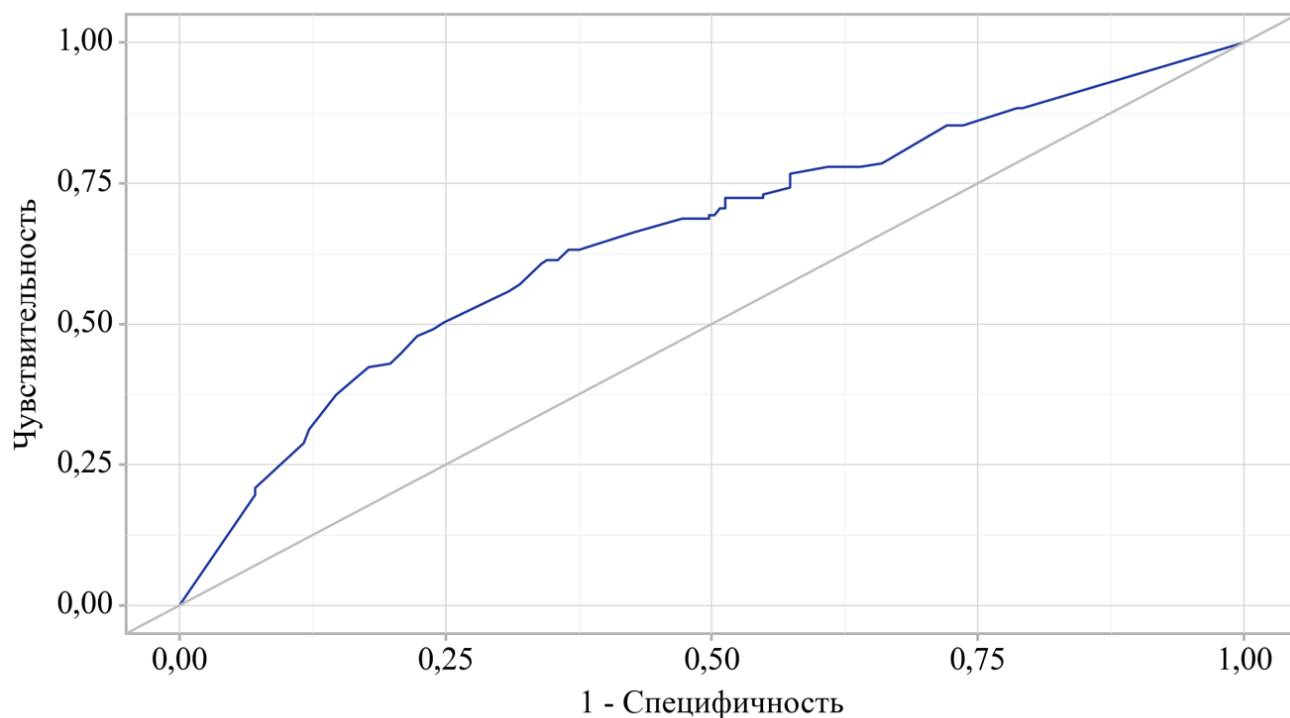


Рисунок 30 – ROC-кривая, характеризующая дискриминационную способность регрессионной модели при прогнозировании бактериальных инфекций

Была разработана прогностическая модель для определения вероятности развития грибковых инфекций у пациентов с COVID-19 в зависимости от возраста пациентов, проведения ИВЛ, введения антицитокиновых препаратов, ГКС, лимфопении методом бинарной логистической регрессии. Число наблюдений составило 360. Наблюдаемая зависимость описывается уравнениями (4) и (5):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\% \quad (4)$$

$$z = -1,005 + 0,302X_{\text{да}} + 0,138X_{\text{да}} + 0,324X_{\text{лимфоциты} < 1,0 \times 10^9/\text{л}} + 0,327X_{\text{да}} + 0,460X_{\text{лимфоциты} < 0,5 \times 10^9/\text{л}} + 0,047X_{\text{возраст} > 60 \text{ лет}}, \quad (5)$$

где  $P$  – оценка вероятности показателя 2,  $z$  – значение логистической функции,  $X_{\text{да}}$  – ИВЛ (0 – нет, 1 – да),  $X_{\text{да}}$  – прием антицитокиновых препаратов (0

– нет, 1 – да),  $X_{\text{лимфоциты} < 1,0 \times 10^9/\text{л}}$  – Лимфоциты в ОАК,  $\times 10^9/\text{л}$  \_1 (0 – лимфоциты  $> 1,0 \times 10^9/\text{л}$ , 1 – лимфоциты  $< 1,0 \times 10^9/\text{л}$ ),  $X_{\text{да}}$  – прием ГКС (0 – нет, 1 – да),  $X_{\text{лимфоциты} < 0,5 \times 10^9/\text{л}}$  – Лимфоциты в ОАК,  $\times 10^9/\text{л}$  (0 – лимфоциты  $> 0,5 \times 10^9/\text{л}$ , 1 – лимфоциты  $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$ ),  $X_{\text{возраст} > 60 \text{ лет}}$  – Возраст\_1 (0 – возраст  $< 60$  лет, 1 – возраст  $> 60$  лет).

Полученная регрессионная модель с точки зрения соответствия прогнозируемых значений наблюдаемым при включении предикторов по сравнению с моделью без предикторов является статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Псевдо- $R^2$  Нагелкерка составил 9,3%. Характеристика связи предикторов модели с шансами развития грибковых инфекций представлены в таблице 31.

Таблица 31 – Характеристика связи предикторов модели с шансами развития грибковых инфекций

| Предикторы                                      | Unadjusted              |             | Adjusted                |       |
|-------------------------------------------------|-------------------------|-------------|-------------------------|-------|
|                                                 | COR; 95% ДИ             | p           | AOR; 95% ДИ             | p     |
| Возраст $> 60$ лет                              | 2,049; 1,343 –<br>3,127 | 0,001*      | 1,049; 0,515 –<br>2,134 | 0,896 |
| Проведение ИВЛ                                  | 2,154; 1,411 –<br>3,287 | $< 0,001^*$ | 1,352; 0,638 –<br>2,866 | 0,431 |
| Введение антицитокиновых препаратов             | 1,502; 0,987 –<br>2,286 | 0,057       | 1,148; 0,683 –<br>1,929 | 0,603 |
| Введение ГКС                                    | 2,264; 1,481 –<br>3,459 | $< 0,001^*$ | 1,386; 0,811 –<br>2,368 | 0,232 |
| Лимфоцитов в крови $< 1,0 \times 10^9/\text{л}$ | 1,944; 1,270 –<br>2,974 | 0,002*      | 1,382; 0,864 –<br>2,210 | 0,177 |
| Лимфоцитов в крови $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$ | 2,466; 1,606 –<br>3,785 | $< 0,001^*$ | 1,584; 0,913 –<br>2,748 | 0,102 |

Графически полученные результаты сравнения представлены на рисунке 31.

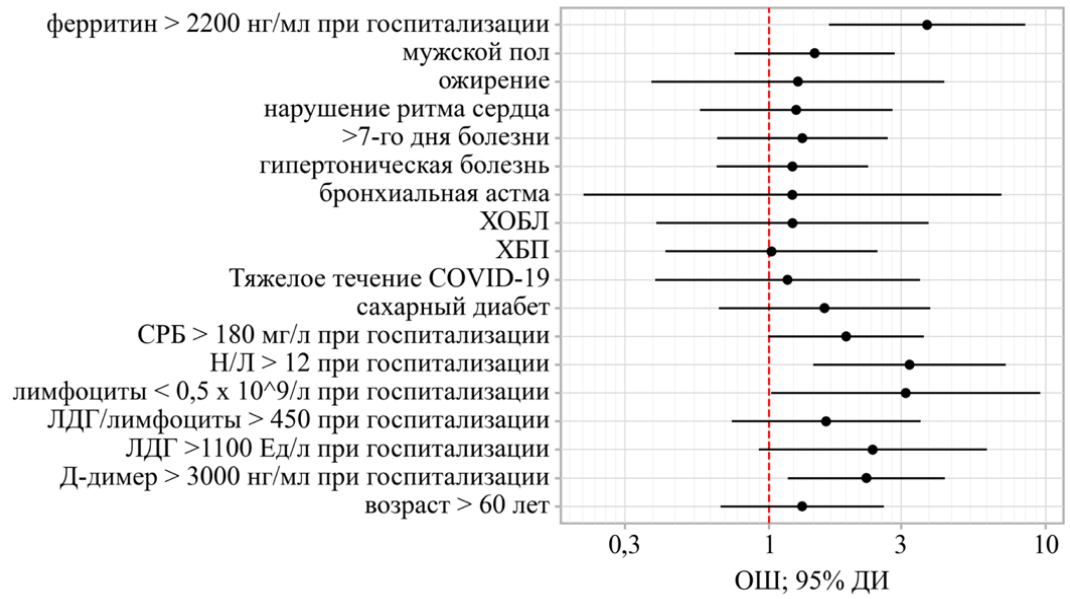


Рисунок 31 – Оценки отношения шансов с 95% ДИ для изучаемых предикторов грибковых инфекций

При оценке дискриминационной способности регрессионной модели с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая (рисунок 32).

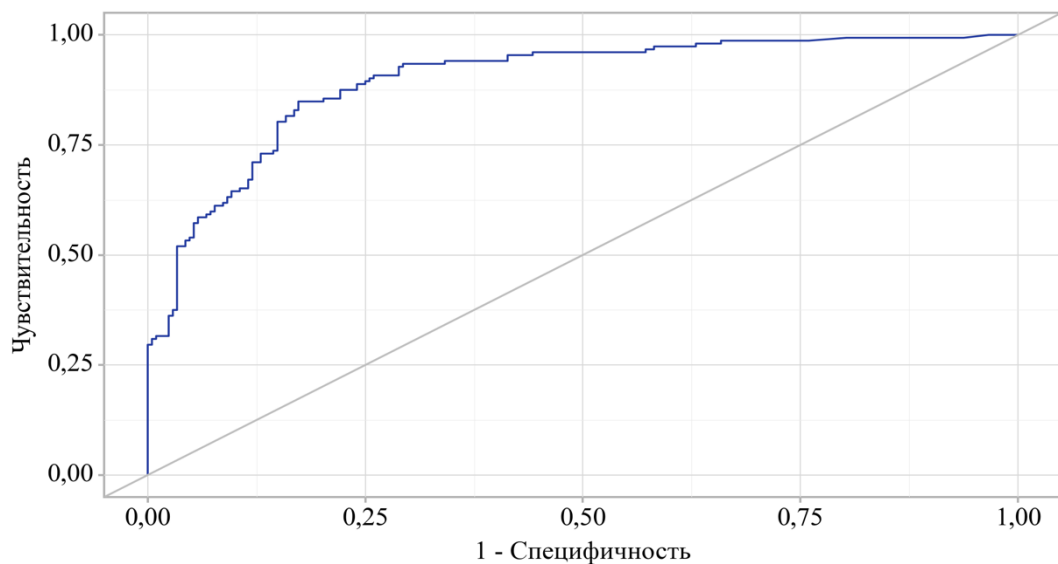


Рисунок 32 – ROC-кривая, характеризующая дискриминационную способность регрессионной модели при прогнозировании грибковых инфекций

Оценка вероятности Р является статистически значимым предиктором грибковых инфекций ( $AUC = 0,656$ ; 95% ДИ:  $0,599 - 0,713$ ,  $p < 0,001$ ).

Пороговое значение оценок вероятности Р в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,480. Чувствительность и специфичность полученной прогностической модели составили 61,3% и 65,5%, соответственно.

Таким образом, по результатам многофакторного анализа было установлено, что снижение в крови абсолютного числа лимфоцитов у пациентов с COVID-19 в 2,7 раза увеличивает вероятность развития вторичных бактериальных инфекций.

### **3.8 Предикторы летальности при коронавирусной инфекции COVID-19**

*Монофакторный анализ.* Для проведения данного исследования больные были разделены на 2 группы: первую составили 279 человек, у которых заболевание завершилось выздоровлением, вторую – 130 пациентов с летальным исходом.

Для оценки прогноза заболевания учитывались следующие показатели крови: абсолютное количество лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов, индекс Н/Л, активность ЛДГ, уровень СРБ, ферритина и Д-димера. Анализ изучаемых параметров проводился в день госпитализации и перед исходом заболевания.

При госпитализации медианы значений нейтрофилов, индекса Н/Л, СРБ, ферритина, ЛДГ и Д-димера в крови среди умерших пациентов были статистически значимо выше, чем среди выживших (таблица 32). Количество лимфоцитов периферической крови в группе умерших, наоборот, было ниже ( $p=0,001$ ). Статистической разницы между значениями лейкоцитов в сравниваемых группах не выявлено.

Таблица 32 – Маркеры воспаления в крови у пациентов с COVID-19 (Ме, МКР) при госпитализации

| Параметры                          | Выжившие (n=279)      | Умершие (n=130)        | <i>p</i> -значение |
|------------------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|
| Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$  | 7,06 [6,4 – 7,7]      | 7,95 [4,53 – 11]       | 0,5                |
| Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$ | 4,9 [3,6 – 6,4]       | 6,1 [3,2 – 10,6]       | 0,02               |
| Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$  | 0,9 [0,6 – 1,3]       | 0,7 [0,5 – 1,1]        | 0,001              |
| Индекс Н/Л                         | 4,2 [2,7 – 6,7]       | 8,1 [3,3 – 16,9]       | <0,0001            |
| СРБ, мг/л                          | 50,3 [22,9 – 116,1]   | 124,9 [92,5 – 202,1]   | <0,001             |
| Ферритин, нг/мл                    | 264,5 [93,70 – 505,6] | 584,7 [309,3 – 1549,0] | <0,001             |
| ЛДГ, ЕД/л                          | 248,0 [204,1 – 345,6] | 356,3 [281,9 – 569,0]  | 0,001              |
| Д-димер, нг/мл                     | 368,0 [150,2 – 731,2] | 1552 [406 - 3698]      | <0,001             |

В финале заболевания медианы значений лейкоцитов, нейтрофилов, индекса Н/Л, СРБ, ферритина и Д-димера в группе умерших пациентов были статистически значимо выше по сравнению с аналогичными показателями группы сравнения. Наиболее выраженными различия были по Д-димеру, СРБ и индексу Н/Л, медианы которых среди умерших были выше по сравнению с выжившими в 20,3, 19,7 и 3,3 раза, соответственно. Медиана лимфоцитов была в 2,6 раза ниже в группе умерших пациентов. Результаты анализа представлены в таблице 33.

Таблица 33 – Маркеры воспаления в крови у пациентов с COVID-19 (Ме, МКР) в финале заболевания

| Параметры                          | Выжившие (n=279) | Умершие (n=130)   | <i>p</i> -значение |
|------------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$  | 7,3 [5,8 – 9,0]  | 11,6 [6,5 – 19,5] | 0,001              |
| Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$ | 5,2 [3,2 – 6,6]  | 10,8 [4,8 – 17,5] | <0,001             |

Продолжение таблицы 33

| Параметры                       | Выжившие<br>(n=279)   | Умершие<br>(n=130)       | p-<br>значение |
|---------------------------------|-----------------------|--------------------------|----------------|
| Лимфоциты, × 10 <sup>9</sup> /л | 1,6 [0,9 – 2,4]       | 0,6 [0,3 – 0,9]          | <0,001         |
| Индекс Н/Л                      | 3,2 [1,76 – 8,8]      | 10,5 [1,9 – 28,3]        | <0,001         |
| СРБ, мг/л                       | 3,0 [1,0 – 7,0]       | 59,1 [6,5 – 151,9]       | <0,001         |
| Ферритин, нг/мл                 | 402,1 [213,3 – 532,7] | 1047,0 [511,6 – 2485,7]  | <0,001         |
| ЛДГ, Ед/л                       | 248,6 [210,8 – 351,7] | 546,7 [360,9 – 780,7]    | <0,001         |
| Д-димер, нг/мл                  | 273,5 [97,0 – 606,0]  | 5552,0 [1581,2 – 9612,0] | <0,001         |

Далее проведена оценка операционных характеристик изучаемых показателей при госпитализации и в исходе заболевания для определения риска летального исхода. При госпитализации наибольшая чувствительность была характерна для ЛДГ с порогом отсечения выше 1100 ЕД/л (88%) с PPV, составившим 89%. Наибольшую специфичность демонстрировали Д-димер > 3000 нг/мл (99%) и СРБ > 180 мг/л (97%), PPV для которых составило 97 и 85%, соответственно.

В исходе заболевания наибольшую чувствительность демонстрировал Д-димер (95%), уровень которого в крови выше 3000 ЕД/л ассоциировался с увеличением риска летального исхода (OR) в 10,3 раза. Наибольшей специфичностью обладали Д-димер > 3000 нг/мл (99%), лимфоциты в крови < 0,5×10<sup>9</sup>/л и ферритин > 2200 нг/мл (95%). Причем, наибольшее положительное прогностическое значение демонстрировали Д-димер (97,5%) и ферритин (92%). При этом, положительные результаты теста (LR+) на Д-димер, ферритин и лимфоциты были максимально правдоподобны, составившие 95, 23,2 и 22, соответственно, что позволяет рассматривать их как достаточно надежные. Результаты оценки операционных характеристик изучаемых показателей представлены в таблице 34.

Таблица 34 – Биомаркеры воспаления при госпитализации и риск летальности при коронавирусной инфекции COVID-19

| Показатель        | Порог отсечения            | Период заболевания | Se | Sp | PPV  | NPV | LR+   | LR-  | OR 95% ДИ          | <i>p</i> |
|-------------------|----------------------------|--------------------|----|----|------|-----|-------|------|--------------------|----------|
| <b>СРБ</b>        | > 180мг/л                  | при госпитализации | 84 | 97 | 85   | 86  | 28    | 0,2  | 9,2 [4,9 – 19,3]   | <0,05    |
|                   |                            | перед исходом      | 92 | 95 | 88   | 90  | 30,6  | 0,08 | 82,8 [37,8– 186]   | <0,05    |
| <b>Ферритин</b>   | > 2200нг/мл                | при госпитализации | 85 | 94 | 93   | 87  | 14    | 0,2  | 58,6 [30 – 113]    | <0,05    |
|                   |                            | перед исходом      | 93 | 96 | 92   | 94  | 23,25 | 0,2  | 112,9[52– 243]     | <0,05    |
| <b>ЛДГ</b>        | > 1100 Ед/л                | при госпитализации | 88 | 92 | 89   | 90  | 11    | 0,13 | 31 [15,7 – 59]     | <0,05    |
|                   |                            | перед исходом      | 91 | 92 | 83   | 91  | 10,1  | 0,2  | 36 [19,8– 81]      | <0,05    |
| <b>Лимфоциты</b>  | < 0,5 × 10 <sup>9</sup> /л | при госпитализации | 87 | 94 | 84   | 90  | 12,8  | 0,2  | 43 [25,8 – 90,9]   | <0,05    |
|                   |                            | перед исходом      | 93 | 96 | 90   | 93  | 22    | 0,14 | 122,8 [58– 259,86] | <0,05    |
| <b>Индекс Н/Л</b> | > 12                       | при госпитализации | 83 | 88 | 92   | 89  | 5     | 0,2  | 38 [19,2 – 74]     | <0,05    |
|                   |                            | перед исходом      | 87 | 90 | 97   | 85  | 7     | 0,14 | 81[39,7– 165]      | <0,05    |
| <b>Д-димер</b>    | > 3000 нг/мл               | при госпитализации | 83 | 99 | 97   | 92  | 83    | 0,17 | 3,7 [1,8 – 7,4]    | <0,05    |
|                   |                            | перед исходом      | 95 | 99 | 97,5 | 98  | 95    | 0,05 | 10,3 [4,6 – 23,3]  | <0,05    |

Примечание – *OR* – отношение шансов, *PPV* –прогностическое значение положительного результата теста, *NPV* –прогностическое значение отрицательного результата теста, *Se* – чувствительность теста, *Sp* – специфичность теста, *LR+*–отношение правдоподобия положительного результата теста, *LR-* – отношение правдоподобия отрицательного результата теста, *p* – уровень статистической значимости

*Многофакторный анализ.* Учитывая, что на исход заболевания может влиять не только отдельно взятый лабораторный показатель, но и коморбидная патология, был проведен многофакторный анализ.

Была разработана прогностическая модель для определения вероятности исхода заболевания в зависимости от пола, возраста пациентов, дня болезни при госпитализации, тяжести течения COVID-19, наличия гипертонической болезни, ожирения, сахарного диабета, ХОБЛ, ХБП, нарушений ритма сердца, бронхиальной астмы, абсолютного количества лимфоцитов в крови, уровня СРБ, ферритина, ЛДГ, Д-димера, индексов Н/Л и ЛДГ/лимфоциты при госпитализации методом бинарной логистической регрессии. Число наблюдений составило 360. Наблюдаемая зависимость описывается уравнениями (6) и (7):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\% \quad (6)$$

$$z = -3,087 + 0,379X_{\text{мужской}} + 1,137X_{< 0,5 \times 10^9/\text{л}} + 0,275X_{> 7\text{-го дня болезни}} + 0,152X_{\text{да}} + 0,193X_{\text{наличие}} + 0,239X_{\text{наличие}} + 0,460X_{\text{наличие}} + 0,640X_{> 180 \text{ мг/л}} + 0,194X_{\text{наличие}} + 0,019X_{\text{наличие}} + 0,224X_{\text{наличие}} + 0,193X_{\text{наличие}} + 1,169X_{\text{Н/Л} > 12} + 0,473X_{> 450} + 1,315X_{> 2200 \text{ нг/мл}} + 0,862X_{> 1100 \text{ Ед/л}} + 0,809X_{> 3000 \text{ нг/мл}} + 0,274X_{\text{возраст} > 60 \text{ лет}}, \quad (7)$$

где  $P$  – оценка вероятности летального исхода,  $z$  – значение логистической функции,  $X_{\text{мужской}}$  – пол (0 – женский, 1 – мужской),  $X_{< 0,5 \times 10^9/\text{л}}$  – лимфоциты при госпитализации (0 –  $> 0,5 \times 10^9/\text{л}$ , 1 –  $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$ ),  $X_{> 7\text{-го дня болезни}}$  – день болезни при поступлении (0 –  $< 7\text{-го дня болезни}$ , 1 –  $> 7\text{-го дня болезни}$ ),  $X_{\text{да}}$  – тяжелое течение COVID-19 (0 – нет, 1 – да),  $X_{\text{наличие}}$  – гипертоническая болезнь (0 – отсутствие, 1 – наличие),  $X_{\text{наличие}}$  – ожирение (0 – отсутствие, 1 – наличие),  $X_{\text{наличие}}$  – сахарный диабет (0 – отсутствие, 1 – наличие),  $X_{> 180 \text{ мг/л}}$  – СРБ при госпитализации (0 –  $< 180 \text{ мг/л}$ , 1 –  $> 180 \text{ мг/л}$ ),  $X_{\text{наличие}}$  – ХОБЛ (0 – отсутствие, 1 – наличие),  $X_{\text{наличие}}$  – ХБП (0 – отсутствие, 1 – наличие),  $X_{\text{наличие}}$  – нарушения ритма сердца (0 – отсутствие, 1 – наличие),  $X_{\text{наличие}}$  – бронхиальная астма\_1 (0 – отсутствие, 1 – наличие),  $X_{\text{Н/Л} > 12}$  – Н/Л при госпитализации (0 –  $\text{Н/Л} < 12$ , 1 –  $\text{Н/Л} > 12$ ),  $X_{> 450}$  – ЛДГ/лимфоциты при госпитализации (0 –  $< 450$ , 1 –  $> 450$ ),  $X_{> 2200 \text{ нг/мл}}$  – ферритин при госпитализации (0 –  $< 2200 \text{ нг/мл}$ , 1 –  $> 2200 \text{ нг/мл}$ ),  $X_{> 1100 \text{ Ед/л}}$  – ЛДГ при госпитализации (0 –  $< 1100 \text{ Ед/л}$ , 1 –  $> 1100 \text{ Ед/л}$ ),  $X_{> 3000 \text{ нг/мл}}$  – Д-димер

при госпитализации (0 – < 3000 нг/мл, 1 – > 3000 нг/мл),  $X_{\text{возраст} > 60 \text{ лет}}$  – возраст пациента (0 – возраст < 60 лет, 1 – возраст > 60 лет).

Полученная регрессионная модель с точки зрения соответствия прогнозируемых значений наблюдаемым при включении предикторов по сравнению с моделью без предикторов является статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Псевдо- $R^2$  Нагелкерка составил 56,8%. Результаты анализа приведены в таблице 35.

Таблица 35 – Характеристики связи предикторов модели с шансами выявления исхода заболевания

| Предикторы                          | Unadjusted            |        | Adjusted             |       |
|-------------------------------------|-----------------------|--------|----------------------|-------|
|                                     | COR; 95% ДИ           | p      | AOR; 95% ДИ          | p     |
| Возраст > 60 лет                    | 2,505; 1,631 – 3,850  | <0,001 | 1,315; 0,666 – 2,596 | 0,431 |
| Мужской пол                         | 1,941; 1,262 – 2,986  | 0,003  | 1,460; 0,749 – 2,846 | 0,266 |
| День болезни при госпитализации > 7 | 1,953; 1,240 – 3,074  | 0,004  | 1,317; 0,647 – 2,678 | 0,448 |
| Тяжелое течение COVID-19            | 7,926; 4,928 – 12,743 | <0,001 | 1,164; 0,386 – 3,508 | 0,787 |
| Гипертоническая болезнь             | 1,323; 0,868 – 2,016  | 0,193  | 1,213; 0,645 – 2,282 | 0,550 |
| Ожирение                            | 1,274; 0,547 – 2,971  | 0,575  | 1,270; 0,375 – 4,306 | 0,701 |
| Сахарный диабет                     | 2,968; 1,659 – 5,312  | <0,001 | 1,584; 0,656 – 3,823 | 0,306 |
| СРБ при госпитализации > 180 мг/л   | 4,895; 3,111 – 7,698  | <0,001 | 1,897; 0,992 – 3,629 | 0,053 |
| ХОБЛ                                | 1,296; 0,591 – 2,843  | 0,518  | 1,214; 0,390 – 3,781 | 0,738 |
| ХБП                                 | 2,246; 1,202 – 4,195  | 0,011  | 1,019; 0,422 – 2,460 | 0,967 |
| Нарушения ритма сердца              | 1,651; 0,995 – 2,740  | 0,053  | 1,251; 0,562 – 2,790 | 0,583 |
| Бронхиальная астма                  | 1,097; 0,290 – 4,158  | 0,891  | 1,212; 0,213 – 6,910 | 0,828 |

Продолжение таблицы 35

| Предикторы                                                      | Unadjusted             |           | Adjusted             |       |
|-----------------------------------------------------------------|------------------------|-----------|----------------------|-------|
|                                                                 | COR; 95% ДИ            | p         | AOR; 95% ДИ          | p     |
| Лимфоциты крови при госпитализации $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$ | 9,925; 6,092 – 16,167  | $< 0,001$ | 3,117; 1,014 – 9,583 | 0,047 |
| Н/Л при госпитализации $> 12$                                   | 13,690; 7,501 – 24,978 | $< 0,001$ | 3,217; 1,443 – 7,178 | 0,004 |
| Ферритин при госпитализации $> 2200 \text{ нг/мл}$              | 9,108; 4,918 – 16,878  | $< 0,001$ | 3,725; 1,644 – 8,440 | 0,002 |
| ЛДГ при госпитализации $> 1100 \text{ Ед/л}$                    | 8,016; 3,991 – 16,103  | $< 0,001$ | 2,367; 0,915 – 6,123 | 0,076 |
| Д-димер при госпитализации : $> 3000 \text{ нг/мл}$             | 4,583; 2,907 – 7,228   | $< 0,001$ | 2,246; 1,168 – 4,323 | 0,015 |
| ЛДГ/лимфоциты при госпитализации: $> 450$                       | 10,715; 6,392 – 17,957 | $< 0,001$ | 1,605; 0,731 – 3,529 | 0,239 |

Было установлено, что у пациентов с уровнем лимфоцитов в крови  $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$  вероятность летального исхода возрастает в 3,117 раза, при показателях Н/Л  $> 12$  – в 3,217 раза, при концентрации ферритина в крови  $> 2200 \text{ нг/мл}$  – в 3,725 раза, Д-димера  $> 3000 \text{ нг/мл}$  – в 2,246 раза. Графически полученные результаты сравнения представлены на рисунке 33.

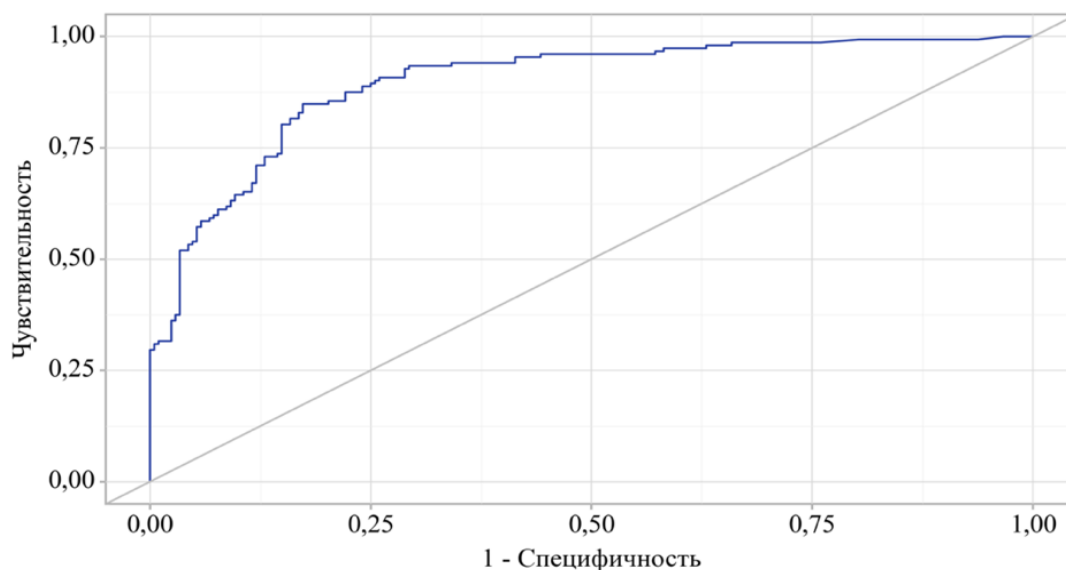


Рисунок 33 – Оценки отношения шансов с 95% ДИ для изучаемых предикторов  
исхода заболевания

При оценке зависимости вероятности исхода от значения логистической функции  $P$  с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая (рисунок 34). Площадь под ROC-кривой составила 0,897, 95% ДИ: 0,861–0,932. Полученная модель была статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Пороговое значение оценок вероятности  $P$  в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,32. Летальность прогнозировалось при значении оценок вероятности  $P$  выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность полученной прогностической модели составили 84,9% и 82,7%, соответственно.

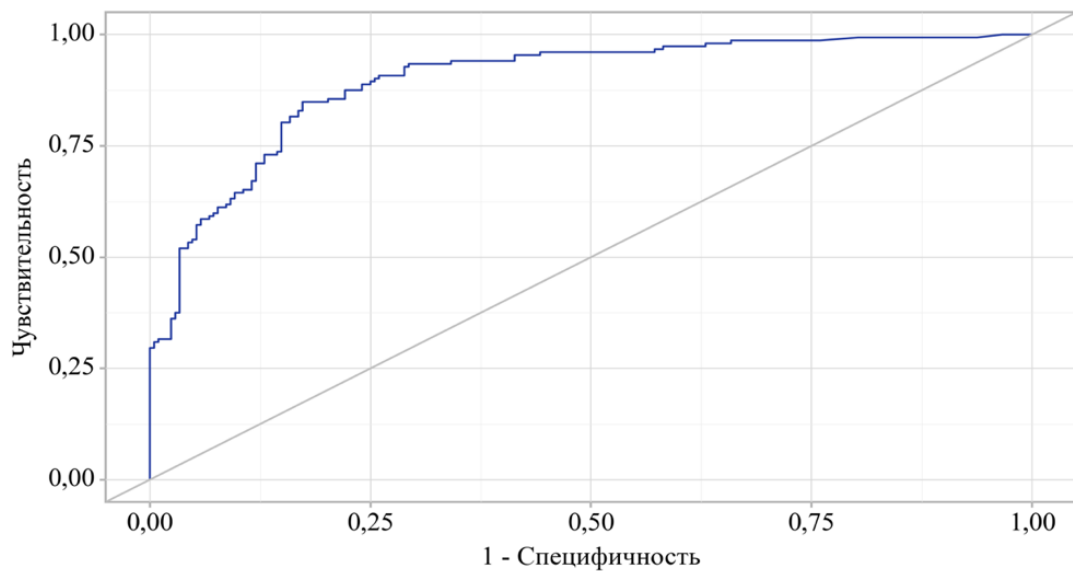


Рисунок 34 – ROC-кривая, характеризующая дискриминационную способность регрессионной модели при прогнозировании исхода заболевания

Таким образом, результаты многофакторного анализа показали, что уровень ферритина в крови  $> 2200 \text{ нг/мл}$ , Д-димера  $> 3000 \text{ нг/мл}$ , индекс Н/Л  $> 12$ , абсолютное количество лимфоцитов  $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$  являются клинически значимыми предикторами летального исхода у пациентов с COVID-19.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пандемия коронавирусной инфекции COVID-19 сопровождалась высокой частотой развития тяжелых форм заболевания и значительной летальностью. Одним из наиболее частых гематологических отклонений, отмечавшихся среди госпитализированных с COVID-19 пациентов, была лимфопения, регистрировавшаяся, в среднем, у 63% пациентов с COVID-19 [84], в т.ч. в 44,6% случаях легкого варианта течения и 72-82,1% при тяжелом течении [186]. Клиническое значение лимфопении при инфекционных заболеваниях традиционно ассоциируется с увеличением вероятности развития оппортунистических инфекций – бактериальных, грибковых, герпесвирусных. Классическим примером является ВИЧ-инфекция, при которой основная причина снижения числа лимфоцитов крови – репликация вируса в CD4-лимфоцитах, а клинически значимая лимфопения формируется постепенно в течение нескольких лет. При COVID-19 лимфопения развивается достаточно быстро и регистрируется уже в периоде разгара клинических проявлений – в конце первой недели заболевания. Каковы причины, продолжительность и выраженность снижения количества лимфоцитов у пациентов с COVID-19? Имеет ли это снижение клиническое значение или носит транзиторный характер?

В проведенном исследовании снижение абсолютного числа лимфоцитов крови менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  выявлено у 282 из 409 больных с COVID-19 (69%). Лимфопения при госпитализации в 1,5 раза чаще отмечалась при тяжелом течении COVID-19 ( $p < 0,001$ ), при этом в 38,5% случаев регистрировалось снижение числа лимфоцитов менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$ , что в 3,8 раза было чаще по сравнению со среднетяжелым течением заболевания ( $p < 0,001$ ).

Продолжительность лимфопении коррелировала с тяжестью заболевания: у пациентов с тяжелым течением лимфопения более 7 дней регистрировалась в 1,8 раза чаще, чем при среднетяжелом течении ( $p < 0,001$ ).

В финале заболевания сниженный уровень числа лимфоцитов в крови менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  отмечался у 38% пациентов со среднетяжелым течением и у 66% больных с тяжелым течением заболевания. Наиболее выраженная лимфопения отмечалась у пациентов с объемом поражения легких более 50% (КТ-3 и КТ-4), у которых медиана лимфоцитов была статистически меньше, чем у больных с КТ-1. В финале заболевания число лимфоцитов в крови у больных с КТ-4 было в 1,9 раза меньше, чем при КТ-1. Для определения выраженности поражения легочной ткани проведена оценка содержания в крови фермента ЛДГ, уровень которого был максимальным при КТ3 и КТ-4.

Установлено, что степень выраженности лимфопении коррелировала с исходом заболевания. Снижение абсолютного числа лимфоцитов в периферической крови менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  как при госпитализации, так и в финале заболевания в 2,9 раза чаще регистрировалось среди умерших. Обращало внимание увеличение при госпитализации средних значений гематологических индексов Н/Л и ЛДГ/Л среди умерших пациентов по сравнению с выжившими в 1,9 раза. Наиболее выраженным это увеличение наблюдалось в финале заболевания – индексы Н/Л и ЛДГ/Л среди умерших пациентов повышались в 4,8 и 3,2 раза, соответственно.

Одним из ключевых патологических процессов, происходящих при тяжелых формах COVID-19 является нарастание воспалительного процесса, развивающееся вследствие активации клеток врожденного иммунитета (моноцитов, макрофагов, дендритных клеток и нейтрофилов). Влияет ли выраженность воспалительного процесса на снижение числа лимфоцитов в крови? Проведено определение содержания в крови провоспалительных цитокинов – ФНО-альфа, ИЛ-2, ИЛ-6 и ГМ-КСФ. Исследование выполнено в остром периоде заболевания. Уровень всех четырех цитокинов в крови ожидаемо был повышен. При этом наиболее выраженное повышение демонстрировал ИЛ-6, медиана которого превышала аналогичный показатель в группе контроля в 122 раза. Содержание в сыворотке крови ФНО-альфа и ГМ-КСФ превышало значения контрольной группы в 6,4 и 4,8 раза соответственно. Медиана ИЛ-2 превышала

показатель группы контроля в 4,7 раза. Концентрации ФНО-альфа и ИЛ-6 коррелировали с объемом поражения легких: при КТ-3-4 медианы значений ФНО-альфа и ИЛ-6 были выше, чем аналогичные показатели у пациентов с КТ-2 в 2,6 и 2,3 раза, соответственно ( $p < 0,05$ ). По двум другим цитокинам (ИЛ-2 и ГМ-КСФ) подобных различий не выявлено. Следует отметить, что факт повышения в крови ИЛ-6 и других провоспалительных цитокинов при COVID-19 хорошо известный [47]. Ключевой вопрос – влияет ли это повышение на развитие лимфопении?

Был проведен корреляционный анализ показателей основных воспалительных маркеров (СРБ, ферритин, ЛДГ, ИЛ-6, индекс Н/Л) и тромбообразования (Д-димер) с абсолютным количеством лимфоцитов венозной крови у пациентов с COVID-19. Корреляционный анализ выявил наличие достоверной отрицательной связи между показателями всех маркеров воспаления и уровнем лимфоцитов в крови ( $p < 0,05$ ). Чем выше были показатели маркеров воспаления, тем более низкий уровень лимфоцитов отмечался у пациентов с COVID-19. Ранее, Giamarellos-Bourboulis E.J. с коллегами, у пациентов COVID-19 установили обратную корреляционную связь между концентрацией ИЛ-6 и абсолютным числом лимфоцитов в крови [165]. В исследовании корреляция между ИЛ-6 и лимфопенией была низкой ( $r = -0,3$ ). Сильную корреляционную связь с лимфопенией демонстрировал уровень индекса Н/Л ( $r = -0,8$ ), умеренно выраженную – ЛДГ ( $r = -0,6$ ). Таким образом, степень лимфопении у пациентов с COVID-19 коррелирует с выраженностью воспалительной реакции организма: наиболее значимая корреляционная связь установлена между лимфоцитами с показателями индекса Н/Л и ЛДГ. Выявленная сильная корреляционная связь уровня Д-димера с лимфопенией свидетельствует о том, что причиной снижения лимфоцитов в крови у пациентов с COVID-19 является потребление их в процессе тромбообразования. Исследования, проведенные по изучению состава тромбов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, показали, что лимфоциты являются одними из их структурных компонентов [70, 285].

Другой потенциальной причиной снижения числа лимфоцитов в крови может быть активация процесса апоптоза. Ещё в 2002 г. в эксперименте *in vitro*

было показано, что ФНО-альфа может индуцировать апоптоз Т-лимфоцитов человека [143], а ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 могут способствовать активации проапоптотического Fas-рецептора [132].

Определение выраженности апоптоза проведено однократно в остром периоде COVID-19. Было установлено, что острый период заболевания протекает на фоне усиления активности апоптоза лимфоцитов периферической крови. Медиана изучаемого показателя у пациентов с COVID-19 составила 30%, что в 2,3 раза превышала аналогичный показатель группы сравнения – 13% ( $p=0,0001$ ). У 32 пациентов (42%) количество подвергшихся апоптозу лимфоцитов было выше показателей контроля в среднем в 1,5 раза, у 18 пациентов (24%) – в 2,5 раза, еще у 25 пациентов (33%) – в 4 раза. Выраженность апоптоза лимфоцитов коррелировала с тяжестью заболевания: медиана показателя у пациентов с тяжёлыми формами COVID-19 была в 2 раза выше, чем при среднетяжелых формах ( $p=0,0001$ ). Полученные данные коррелируют с данными других исследователей, показавших, что тяжелые формы COVID-19 сопровождаются активацией апоптоза лимфоцитов [54, 55]. Далее была установлена прямая корреляционная связь показателя апоптоза лимфоцитов с уровнем ферритина в крови (коэффициент Спирмена = 0,5;  $p=0,0001$ ). Корреляционной связи показателя апоптоза лимфоцитов с уровнем СРБ не выявлено. Установлено, что активность апоптоза лимфоцитов в группе умерших от COVID-19 пациентов была значимо выше, чем в группе выживших ( $p=0,009$ ). Апоптоз лимфоцитов выше 50% у пациентов с COVID-19 ассоциируется с риском летального исхода ( $p=0,02$ ). Риск летального исхода (ОШ) при этом возрастал в 6,7 раза. Таким образом, проведенное исследование доказывает, что апоптоз является значимой причиной развития лимфопении у пациентов с COVID-19.

Следующей возможной причиной лимфопении у пациентов с COVID-19 представляется перераспределение лимфоцитов – миграция из кровотока в легкие (орган-мишень при COVID-19). Поскольку лимфоциты непрерывно мигрируют по вторичным лимфоидным и другим органам (легкие, печень, почки и др.), можно предположить, что при тяжелом течении COVID-19 происходит

перераспределение этих клеток – миграция в легочную ткань из крови и из органов иммунной системы [134]. Насколько выраженным является этот феномен и становится ли он причиной иммуносупрессии? Для подтверждения данного предположения было проведено морфологическое исследование легочной ткани и селезенки у 17 пациентов, умерших от COVID-19.

Как известно, основным морфологическим проявлением поражения легочной ткани при COVID-19 является диффузное альвеолярное повреждение (ДАП) в сочетании с вовлечением в патологический процесс сосудистого русла легких и альвеолярно-геморрагическим синдромом [19]. В своем развитии ДАП проходит три стадии: экссудативную, пролиферативную и фибротическую [5]. Изучались первые две стадии и было установлено, что, по сравнению с группой сравнения, происходит увеличение количества CD3+ Т-лимфоцитов и CD68+ макрофагов при относительно стабильном содержании CD20+ В-лимфоцитов. Полученные результаты согласуются с исследованием отечественных авторов, в котором было показано, что в ответ на внедрение SARS-CoV-2 в экссудативной и пролиферативной стадиях преобладают реакции Т-клеточного иммунитета [5]. При этом авторы указывают на количественное превалирование CD8+ Т-лимфоцитов над CD4+ Т-лимфоцитами [5].

Наряду с поражением легочной ткани при аутопсии умерших от COVID-19 пациентов нередко выявляется вовлечение в патологический процесс и других органов, которое в отдельных наблюдениях по своей тяжести преобладает над легочными изменениями и может стать причиной смерти [19, 62]. Это может обусловлено, с одной стороны, тропностью SARS-CoV-2 к различным органам (сердечно-сосудистая система, почки, печень, пищеварительный тракт, головной мозг), в которых отмечается экспрессия рецептора АПФ2 [61, 180, 129, 163], с другой – развитием гипервоспалительной реакции, характеризующейся избыточным синтезом провоспалительных цитокинов (прежде всего, ФНО-альфа и ИЛ-6), результатом которой является формирование дисфункции органов [205]. Особый интерес представляет реакция на SARS-CoV-2 селезенки, вторичного органа иммуногенеза, играющего важнейшую роль в иммунном ответе [200]. Как

известно, при проведении УЗИ органов брюшной полости у пациентов с COVID-19 часто выявляется уменьшение размеров селезенки [22]. Данный феномен, вероятно, обусловлен быстрым «истощением» этого органа с высоким риском развития иммунодефицита [22]. При морфологическом и иммуногистохимическом исследовании селезенки были обнаружены выраженные расстройства кровообращения, атрофия Т- и В-зависимых зон, уменьшение содержания CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и CD20<sup>+</sup> В-лимфоцитов с незначительным увеличением количества CD68<sup>+</sup> макрофагов. Полученные результаты согласуются с данными, приведенными в систематическом обзоре, показавшими факт уменьшения популяции CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и CD20<sup>+</sup> В-лимфоцитов в селезенке [294]. Рядом авторов было выявлено значительное увеличение плотности макрофагов в белой пульпе селезенки [134, 248]. Увеличение числа CD68<sup>+</sup> макрофагов свидетельствует об активной воспалительной реакции в селезенке. Макрофаги, как известно, играют ключевую роль в формировании цитокинового шторма, приводящего к гибели лимфоцитов [134]. Это подтверждается исследованием Mesquita B.R. с коллегами, в котором было показано, что селезенка при SARS-CoV-2 инфекции, вследствие увеличения в ней числа макрофагов, становится как источником избыточного синтеза провоспалительных цитокинов (ФНО-альфа и ИЛ-6), так и местом гибели лимфоцитов [205].

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало, что у пациентов, умерших от тяжелых форм COVID-19, отмечается, с одной стороны, миграция лимфоцитов (в основном, CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов) в легочную ткань, с другой – снижение их числа в селезенке (как CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, так и CD20<sup>+</sup> В-лимфоцитов). Количественное снижение CD3<sup>+</sup> и CD20<sup>+</sup> субпопуляций лимфоцитов в селезенке, а также уменьшение площади ее белой пульпы указывают на явное истощение лимфоидной ткани и формирование иммуносупрессии.

Лимфопения, иммуносупрессия – факторы, способствующие развитию оппортунистических инфекций. У пациентов с COVID-19 увеличивается риск

развития оппортунистических заболеваний – мукормикоза [14, 38] и герпесвирусной инфекции, обусловленной вирусом Эпштейна-Барр [118], а также бактериальных инфекций системы кровотока [257].

В проведенном исследовании бактериальные инфекции у пациентов с COVID-19 регистрировались у 145 из 409 пациентов (35,4%): у 71 больного (17,3%) диагностирована инфекция мочевыводящих путей, в 65 случаях (15,9%) отмечалось развитие пневмонии, в 9 (2,2%) – сепсиса. При бактериологическом исследовании мокроты у 16 пациентов с пневмонией был выделен *Streptococcus pneumoniae*, у 14 – *Klebsiella pneumoniae*, у пятерых – *Acinetobacter baumannii*. Этиология сепсиса была установлена у 5 из 8 пациентов: у троих из крови был выделен *Staphylococcus epidermidis*, у двух – *Enterococcus faecalis*.

Грибковые инфекции регистрировались у 17,6% пациентов. У 5 больных (7%), длительно находившихся на ИВЛ, отмечался положительный ПЦР-тест на ДНК *Aspergillus fumigatus* в мокроте. В остальных 93% случаях причиной грибковой инфекции была *Candida albicans*. У 16 пациентов наблюдались локализованные формы (орофарингеальный кандидоз), подтвержденные обнаружением роста *C. albicans* в смывах из ротоглотки, у 17 больных *C. albicans* обнаруживалась в мокроте. Кроме того, у 25 больных (женщин) отмечались клинические проявления грибковой инфекции слизистых половых органов.

Как бактериальные, так и грибковые инфекции у пациентов с COVID-19 развивались, в основном, у пациентов с лимфопенией, причем наиболее часто при снижении числа лимфоцитов в крови менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$ . Развитие сепсиса отмечалось только у пациентов с лимфопенией.

У 5 пациентов отмечалась активная герпетическая инфекция. В 4-х случаях причиной заболевания был ВПГ, в одном – ЦМВ.

На развитие оппортунистических инфекций кроме лимфопении может повлиять иммуносупрессивная терапия – введение кортикостероидов, проведение антицитокиновой терапии.

Была разработана прогностическая модель для определения вероятности бактериальных инфекций в зависимости возраста пациентов, от проведения ИВЛ,

введения антицитокиновых препаратов, ГКС, количества лимфоцитов в периферической крови методом бинарной логистической регрессии. При оценке количества лимфоцитов в периферической крови с порогом отсечения менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  вероятность развития бактериальной инфекции увеличивалась в 2,7 раза. Чувствительность и специфичность полученной прогностической модели составили 81,1% и 61,1%, соответственно.

Была также разработана прогностическая модель для определения вероятности развития грибковых инфекций у пациентов с COVID-19 в зависимости от возраста пациентов, проведения ИВЛ, введения антицитокиновых препаратов, ГКС, лимфопении методом бинарной логистической регрессии. По результатам монофакторного анализа снижение лимфоцитов менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  сопровождалось увеличением риска развития грибковых инфекций в 2,4 раза. Проведенный многофакторный анализ такой ассоциации не выявил. Чувствительность и специфичность полученной прогностической модели составили 61,3% и 65,5%, соответственно.

Завершающим этапом исследования была оценка влияния дисрегуляции иммунного ответа на прогноз заболевания. В качестве лабораторных предикторов исхода заболевания были использованы следующие показатели крови: абсолютное количество лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов, индекс Н/Л, активность ЛДГ, уровень СРБ, ферритина и Д-димера. Анализ изучаемых параметров проводился в день госпитализации и перед исходом заболевания. Как при госпитализации, так и в финале заболевания медианы значений нейтрофилов, индекса Н/Л, СРБ, ферритина, ЛДГ и Д-димера в крови среди умерших пациентов были статистически значимо выше, чем среди выживших. Количество лимфоцитов периферической крови в группе умерших, в остром периоде и в исходе заболевания, наоборот, было ниже ( $p=0,001$ ). Учитывая, что на исход заболевания может влиять не только отдельно взятый лабораторный показатель, но и коморбидная патология, был проведен многофакторный анализ. Была разработана прогностическая модель для определения вероятности исхода заболевания в зависимости от пола, возраста пациентов, дня болезни при

госпитализации, тяжести течения COVID-19, наличия гипертонической болезни, ожирения, сахарного диабета, ХОБЛ, ХБП, нарушений ритма сердца, бронхиальной астмы, абсолютного количества лимфоцитов в крови, уровня СРБ, ферритина, ЛДГ, Д-димера, индексов Н/Л и ЛДГ/лимфоциты при госпитализации методом бинарной логистической регрессии.

Было установлено, что у пациентов с уровнем лимфоцитов в крови  $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$  вероятность летального исхода возрастает в 3,117 раза, при показателях Н/Л  $> 12$  – в 3,217 раза, при концентрации ферритина в крови  $> 2200$  нг/мл – в 3,725 раза, Д-димера  $> 3000$  нг/мл – в 2,246 раза. Полученная модель была статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Чувствительность и специфичность полученной прогностической модели составили 84,9% и 82,7%, соответственно.

Подводя итог проведенным исследованиям и полученным результатам, можно констатировать, что чрезмерно выраженная воспалительная реакция, апоптоз лимфоцитов, перераспределение их в организме, характеризующееся повышением числа CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в легочной ткани и снижением CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и CD20<sup>+</sup> В-лимфоцитов в селезенке, уменьшение площади белой пульпы селезенки и потребление в процессе иммунотромбообразования являются ключевыми причинами лимфопении у пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19. Механизмы формирования лимфопении при COVID-19 приведены на рисунке 35.

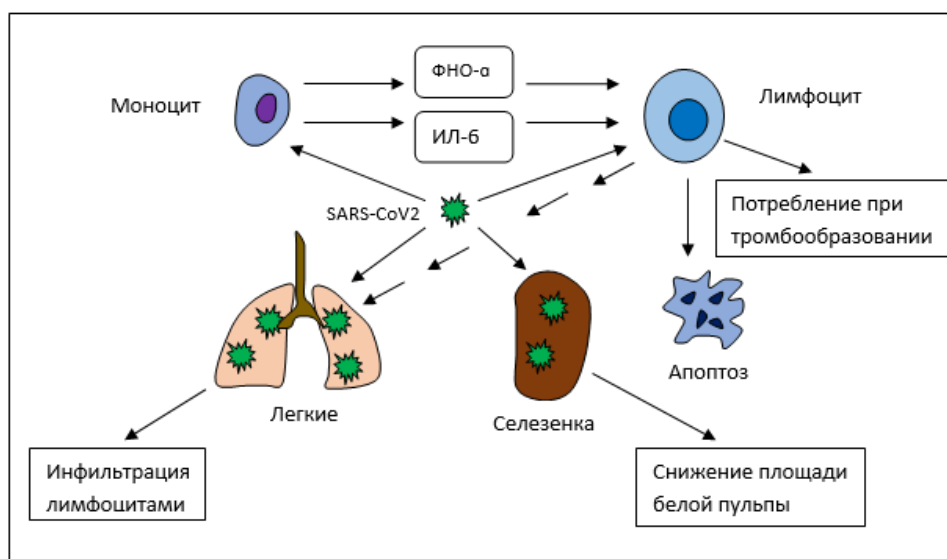


Рисунок 35 – Механизмы формирования лимфопении при COVID-19

Было установлено, что выраженность и продолжительность лимфопении коррелирует с тяжестью и продолжительностью заболевания. Снижение числа лимфоцитов в периферической крови менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  при госпитализации регистрировалось в 3,8 раза чаще при тяжелом течении заболевания. В финале заболевания повышение уровня лимфоцитов выше  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  отмечалось только при среднетяжелом течении COVID-19, тогда как при тяжелом течении оставалось пониженным. Среди умерших от COVID-19 пациентов лимфопения в финале заболевания регистрировалась в 3,1 раза чаще, чем среди выживших. Клиническое значение развивающейся при COVID-19 лимфопении ассоциируется с развитием вторичных бактериальных инфекций, вероятность развития которых при уровне лимфоцитов венозной крови менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  увеличивается в 2,7 раза. Количество лимфоцитов в крови менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  ассоциируется с более, чем 3-кратным увеличением частоты летального исхода.

Для уменьшения частоты развития оппортунистических инфекций и улучшения прогноза представляется использование препаратов, увеличивающих количество лимфоцитов в крови.

## ВЫВОДЫ

1. Частота, выраженность и продолжительность лимфопении коррелируют с тяжестью COVID-19. Число лимфоцитов менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  зарегистрировано у 69% пациентов; медиана числа лимфоцитов при тяжёлом течении была в 1,5 раза ниже, чем при среднетяжёлом. Лимфопения продолжительностью более 7 дней в 1,8 раза чаще отмечалась в группе с тяжёлым течением и неблагоприятным исходом.

2. Лимфопения является фактором риска бактериальных суперинфекций: при уровне лимфоцитов менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  риск их развития возрастает в 2,7 раза (чувствительность 81,1%, специфичность 61,1%).

3. Острый период COVID-19 сопровождается повышением в крови концентрации провоспалительных цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-2 и ГМ-КСФ. Наиболее выраженный рост концентрации демонстрировал ИЛ-6, медиана которого превышала аналогичный показатель в группе контроля в 122 раза. Установлена достоверная отрицательная корреляционная связь между уровнем провоспалительных маркеров и числом лимфоцитов венозной крови, что указывает на вклад воспалительного ответа в развитие лимфопении. Наиболее сильную связь с лимфопенией демонстрировали индекс нейтрофилы/лимфоциты ( $r = -0,8$ ) и уровень ЛДГ ( $r = -0,6$ ).

4. Период разгара COVID-19 характеризуется активацией процессов апоптоза лимфоцитов: медиана апоптоза лимфоцитов составила 30%, что в 2,3 раза превышало показатель группы сравнения (13%). Выраженность апоптоза коррелировала с тяжестью заболевания: медиана показателя у пациентов с тяжёлым COVID-19 была в 2 раза выше, чем при среднетяжелых формах, что может указывать на причинно-следственную связь этих явлений.

5. Установлена связь активности тромбообразования (уровень Д-димера) с числом лимфоцитов периферической крови ( $r = -0,8$ ), что позволяет

рассматривать потребление лимфоцитов в процессе тромбообразования как один из механизмов формирования лимфопении при COVID-19.

6. Тяжелое течение COVID-19 характеризуется перераспределением лимфоцитов в организме – накоплением их в легочной ткани и, соответственно, снижением в селезенке. Установлено, что инфильтрация ткани легкого при тяжелых формах COVID-19 происходит преимущественно за счет увеличения количества CD-3+ Т-лимфоцитов, число которых возрастало в 2,8 раза. Площадь Т- и В-зависимых зон белой пульпы селезенки у пациентов, умерших от COVID-19, уменьшалась в 1,7 раза по сравнению с пациентами без COVID-19, что может объяснять дисрегуляцию иммунного ответа и формирование иммуносупрессии.

7. На основе анализа комплекса клинико-лабораторных показателей на ранних сроках COVID-19 разработана прогностическая модель неблагоприятного исхода заболевания. Клинически значимыми предикторами летального исхода являются: уровень ферритина в крови выше 2200 нг/мл, Д-димера более 3000 нг/мл, индекс Н/Л выше 12 и абсолютное количество лимфоцитов менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$ . У пациентов с уровнем лимфоцитов в крови ниже  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  вероятность летального исхода возрастает в 3,1 раза. Чувствительность модели составила 84,9%, специфичность – 82,7.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для оценки тяжести течения COVID-19 рекомендуется определение выраженности и продолжительности лимфопении, а также расчёт гематологических индексов. Значение индексов Н/Л  $> 12$  и ЛДГ/Л  $> 450$  повышают вероятность летального исхода.

2. Для прогнозирования риска развития оппортунистических инфекций у пациентов с COVID-19 при госпитализации и в динамике заболевания рекомендуется определение содержания в крови абсолютного количества лимфоцитов. При уровне лимфоцитов  $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$  риск увеличивается.

3. При оценке риска неблагоприятного исхода тяжёлого COVID-19 рекомендуется комплексная оценка: абсолютного количества лимфоцитов, уровней СРБ, ферритина, ЛДГ, Д-димера, а также индексов Н/Л и ЛДГ/Л.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Перспективы дальнейшей разработки темы лежат в продолжении изучения влияния выраженности воспалительных процессов и лимфопении на развитие оппортунистических инфекций у пациентов с COVID-19 и формирование органной дисфункции. Эту модель исследования планируется использовать и при другой актуальной острой респираторной вирусной инфекции – гриппе.

Планируется продолжение исследований, направленных на изучение причин иммуносупрессии при COVID-19 – изучение роли иммуносупрессорных клеток миелоидного происхождения. Аналогичное исследование планируется провести также при тяжелых и осложненных формах гриппа.

## **БЛАГОДАРНОСТИ**

Выражаю признательность и благодарность профессору кафедры общей патологии, доктору медицинских наук Петрову Семену Венедиктовичу и профессору кафедры общей патологии, доктору медицинских наук Цыплакову Дмитрию Эдуардовичу за помощь в проведении морфологических и иммуногистохимических исследований.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АПФ2 – ангиотензинпревращающий фермент 2 типа

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВПГ – вирус простого герпеса

ВПО – высокопоточная оксигенация

ГАУЗ – государственное автономное учреждение здравоохранения

ГКС – глюкокортикостероиды

ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

ГМУ – государственный медицинский университет

ГФС – гемофагоцитарный синдром

ДАП – диффузное альвеолярное повреждение

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

ИГХ – иммуногистохимическое (исследование)

ИЛ – интерлейкины

ИМВП – инфекция мочевыводящих путей

КТ – компьютерная томография

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ЛДГ/Л – индекс лактатдегидрогеназа/лимфоциты

МЗ РТ – Министерство здравоохранения Республики Татарстан

МКАТ – моноклональные антитела

МКР – межквартильный размах

МНО – международное нормализованное отношение

МСВС – мультисистемный воспалительный синдром

Н/Л – индекс нейтрофилы/лимфоциты

НПО – низкопоточная оксигенация

ОАК – общий анализ крови

ОР – относительный риск

ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром

ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии

ОШ – отношение шансов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РКБ – ГАУЗ «Республиканская клиническая больница»

РКИБ – ГАУЗ «Республиканская клиническая инфекционная больница имени профессора А.Ф. Агафонова»

РНК – рибонуклеиновая кислота

РСД – рецептор-связывающий домен

СРБ – С-реактивный белок

ССВО – синдром системного воспалительного ответа

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФГБОУ ВО – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

ФНО – фактор некроза опухоли

ФФБ – фактор фон Виллебранда

ХБП – хроническая болезнь почек

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ЦМВ – цитомегаловирус

ЭКГ – электрокардиография

ЭХО-КГ – эхокардиография

AOR – скорректированное отношение шансов (adjusted odds ratio)

AUC – площадь под кривой (area under curve)

CD – кластер дифференцировки (cluster of differentiation)

COR – нескорректированное отношение шансов (crude odds ratio)

COVID-19 – коронавирусная инфекция (coronavirus disease 2019)

Fas – ген, кодирующий белок рецептора

KREC – каппа-делеционные эксцизионные кольца (Kappa-deleting recombination excision circles)

LR+ – отношение правдоподобия

LR- – отношение правдоподобия отрицательного результата теста

NK – натуральные киллеры (natural killer)

NPV – прогностическая ценность отрицательного результата

OR – отношение шансов (odds ratio)

PPV – прогностическая ценность положительного результата

ROC-анализ – анализ операционных характеристик (receiver operating characteristic)

SARS-CoV-2 – тяжелый острый респираторный синдром, вызванный коронавирусом 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2)

Se – чувствительность

Sp – специфичность

SpO<sub>2</sub> – насыщение гемоглобина кислородом (сатурация)

TMPRSS2 – трансмембранная сериновая протеаза 2-го типа

TREC – Т-клеточные эксцизионные кольца (T-cell receptor excision circles)

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия. – М. : Медицина, 1990. – 382 с.
2. Возможность прогнозирования тяжести течения COVID-19 по клинико-лабораторным критериям с учётом штамма SARS-CoV-2 : аналитический обзор / В. Б. Полуэктова, М. В. Санькова, Е. В. Волчкова [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2024. – Т. 29, № 3. – С. 192–203.
3. Генетическое разнообразие и эволюция биологических свойств коронавируса SARS-CoV-2 в условиях глобального распространения / А. А. Никонова, Е. Б. Файзулов, А. В. Грачева [и др.] // Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2021. – Т. 13, № 3. – С. 77–89.
4. Деев, Р. В. Современные представления о клеточной гибели / Р. В. Деев, А. И. Билялов, Т. М. Жампеисов // Гены и Клетки. – 2018. – Т. 13, № 1. – С. 6–19.
5. Забозлаев, Ф. Г. Патологическая анатомия легких при новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Предварительный анализ аутопсийных исследований / Ф. Г. Забозлаев, Э. В. Кравченко, А. Р. Галлямова, Н. Н. Летуновский // Клиническая практика. – 2020. – Т. 11, № 2.
6. Иванисенко, Н. В. Механизмы активации прокаспазы-8 при инициации внешнего пути программируемой клеточной гибели / Н. В. Иванисенко, И. Н. Лаврик // Молекулярная биология. – 2019. – Т. 53, № 5. – С. 830–837.
7. Иммунная дисрегуляция при коронавирусной инфекции COVID-19 / А. Э. Евдокимова, Х. С. Хаертынов, В. А. Анохин, И. С. Рагинов // Журнал инфектологии. – 2025. – Т. 17, № 3. – С. 24–32.
8. Иммунобиологические свойства гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора и синтетических пептидов его активного

центра / А. В. Зурочка, В. А. Зурочка, М. А. Добрынина, В. А. Гриценко // Медицинская иммунология. – 2021. – Т. 23, № 5. – С. 1031–1054.

9. Инфекционные болезни. Национальное руководство. Краткое издание / под ред. Н. Д. Ющука, Ю. Я. Венгерова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2022. – 848 с.

10. Козулина, Ю. С. Эндотелиальная дисфункция у пациентов с артериальной гипертензией и сахарным диабетом и возможности ее коррекции / Ю. С. Козулина, И. А. Викторова // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2025. – Т. 9, № 1. – С. 64–68.

11. Коморбидные заболевания и структура летальности больных с новой коронавирусной инфекцией / А. Л. Верткин, А. Р. Аскарров, О. В. Зайратьянц, М. А. Рудницкая // Лечащий врач. – 2022. – Т. 25, № 7–8. – С. 10–13.

12. Критический анализ концепции «цитокиновой бури» у пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19. Обзор литературы / С. С. Бобкова, А. А. Жуков, Д. Н. Проценко [и др.] // Вестник интенсивной терапии имени А. И. Салтанова. – 2021. – № 1. – С. 57–68.

13. Морфофункциональная характеристика селезенки человека (иммуногистохимическое исследование) / В. Б. Зайцев, Н. С. Федоровская, Д. А. Дьяконов [и др.] // Морфология. – 2013. – Т. 143, № 3. – С. 27–31.

14. Мукоормикоз на фоне COVID-19 : описание клинического случая и обзор литературы / С. Н. Хостелиди, В. А. Зайцев, Е. В. Пелих [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2021. – Т. 23, № 3. – С. 255–262.

15. Мультисистемный воспалительный синдром, ассоциированный с коронавирусной инфекцией COVID-19, у взрослого пациента : клиническое наблюдение / И. Х. Беялетдинова, М. А. Сайфуллин, Г. Д. Гусева, Н. Е. Перекопская // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2023. – Т. 12, № 1(44). – С. 123–127.

16. Наркевич, А. Н. Методы определения минимально необходимого объема выборки в медицинских исследованиях / А. Н. Наркевич, К. А.

Виноградов // Социальные аспекты здоровья населения. – 2019. – Т. 65, № 6. – С. 10.

17. Носков, А. А. Экспресс-шкалы в прогнозировании неблагоприятных исходов у пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 : систематический обзор и метаанализ / А. А. Носков, Е. И. Глушко, И. Б. Заболотских // Вестник интенсивной терапии имени А. И. Салтанова. – 2025. – № 3. – С. 141–161.

18. Патологическая анатомия COVID-19 : атлас / О. В. Зайратьянц, М. В. Самсонова, Л. М. Михалева, А. Л. Черняев, О. Д. Мишнев, Н. М. Крупнов, Д. В. Калинин; под общ. ред. О. В. Зайратьянца. – М. : ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», 2020. – 140 с.

19. Патологическая анатомия COVID-19 : опыт 2000 аутопсий / О. В. Зайратьянц, М. В. Самсонова, А. Л. Черняев [и др.] // Судебная медицина. – 2020. – Т. 6, № 4. – С. 10–23.

20. Патоморфологические изменения в легких при COVID-19 : клинические и терапевтические параллели / О. В. Зайратьянц, А. Г. Малявин, М. В. Самсонова [и др.] // Терапия. – 2020. – Т. 6, № 5(39). – С. 35–46.

21. Патоморфологические проявления воспалительного микротромбоза при COVID-19 / Р. Р. Хисматуллин, Р. А. Иваева, Ш. Абдуллаева [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2022. – Т. 103, № 4. – С. 575–586.

22. Перепелица, С. А. Иммуно-клеточная реакция селезенки при COVID-19 // Общая реаниматология. – 2024. – Т. 20, № 1. – С. 15–23.

23. Петров, С. В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С. В. Петров, Н. Т. Райхлин. – 4-е изд., доп. и перераб. – Казань, 2012. – 624 с.

24. Предикторы летальности у пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19 / А. Э. Евдокимова, Х. С. Хаертынов, В. А. Анохин [и др.] // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2025. – Т. 9, № 12. – С. 853–859.

25. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия 18 (26.10.2023) : Временные методические

рекомендации МЗ РФ // Контур Норматив : сайт. – URL: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=458540> (дата обращения: 30.04.2026).

26. Саркисов, Д. С. Микроскопическая техника : руководство для врачей и лаборантов / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.

27. Сваровская, А. В. Индекс коморбидности Чарлсона в прогнозировании летальных исходов у пациентов с COVID-19 / А. В. Сваровская, А. О. Шабельский, А. В. Левшин // Российский кардиологический журнал. – 2022. – Т. 27, № 3. – С. 26–31.

28. Семейство каспаз : молекулярные основы взаимодействия при апоптозе и пироптозе / В. В. Шишкина, И. П. Мошуров, О. А. Герасимова [и др.] // Гены и клетки. – 2024. – Т. 19, № 1. – С. 153–168.

29. Стефанов, С. Б. Морфометрическая сетка случайного шага как средство ускоренного измерения элементов морфогенеза // Цитология. – 1974. – № 6. – С. 785–787.

30. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови при COVID-19 / Е. В. Свирщевская, М. В. Коновалова, В. Ф. Садыков [и др.] // Медицинская иммунология. – 2023. – Т. 25, № 1. – С. 155–166.

31. Тополянская, С. В. Фактор некроза опухоли-альфа и возраст-ассоциированная патология / С. В. Тополянская // Архивъ внутренней медицины. – 2020. – Т. 10, № 6(56). – С. 414–421.

32. Тромботический шторм, нарушения гемостаза и тромбовоспаление в условиях COVID-19 / А. Д. Макацария, Е. В. Слуханчук, В. О. Бицадзе [и др.] // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2021. – Т. 15, № 5. – С. 499–514.

33. Участие интерлейкина 6 в формировании патогенетических механизмов иммуновоспалительных заболеваний / В. И. Мазуров, И. Б. Беляева, Р. Р. Самигуллина [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2022. – Т. 18, № 8. – С. 22–31.

34. Фесенко, О. В. Современные системы оценки внебольничной пневмонии тяжелого течения : перспективы и ограничения / О. В. Фесенко, А. И.

Синопальников // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2011. – Т. 13, № 3. – С. 204–213.

35. Эндотелиальная дисфункция у пациентов с коронавирусной инфекцией COVID-19 / Х. С. Хаертынов, В. А. Анохин, О. В. Жемкова [и др.] // Практическая медицина. – 2024. – Т. 22, № 2. – С. 77–83.

36. COVID-19 – индуцированный «цитокиновый шторм» – особая форма синдрома активации макрофагов / Е. И. Алексеева, Р. Ф. Тепаев, И. Ю. Шилькрот [и др.] // Вестник РАМН. – 2021. – Т. 76, № 1. – С. 51–66.

37. COVID-19-ассоциированная коагулопатия : обзор современных рекомендаций по диагностике, индивидуальных и клинических проявлениях / К. В. Лобастов, И. В. Счастливцев, О. Я. Порембская [и др.] // Стационароразмещающие технологии: Амбулаторная хирургия. – 2020. – № 3–4. – С. 36–51.

38. A challenging complication following SARS-CoV-2 infection : A case of pulmonary mucormycosis / D. Pasero, S. Sanna, C. Liperi [et al.] // Infection. – 2021. – Vol. 49, № 5. – P. 1055–1060.

39. A dynamic COVID-19 immune signature includes associations with poor prognosis / A. G. Laing, A. Lorenc, I. Del Molino Del Barrio [et al.] // Nat. Med. – 2020. – Vol. 26, № 12. – P. 1623–1635.

40. A narrative review of COVID-19-related acute respiratory distress syndrome (CARDS) : «typical» or «atypical» ARDS? / D. Pu, X. Zhai, Y. Zhou [et al.] // Ann Transl Med. – 2022. – Vol. 10, № 16. – P. 908.

41. A novel severity score to predict inpatient mortality in COVID-19 patients / D. J. Altschul, S. R. Unda, J. Benton [et al.] // Sci Rep. – 2020. – Vol. 10. – P. 16726.

42. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin / P. Zhou, X. L. Yang, X. G. Wang [et al.] // Nature. – 2020. – Vol. 579, № 7798. – P. 270–273.

43. A recombinant human G-CSF/GM-CSF fusion protein from E. coli showing colony stimulating activity on human bone marrow cells / A. Y. Lee, H. K. Chung, E. K. Bae [et al.] // Biotechnol Lett. – 2003. – Vol. 25, № 3. – P. 205–211.

44. A risk score based on baseline risk factors for predicting mortality in COVID-19 patients / Z. Chen, J. Chen, J. Zhou [et al.] // Current medical research and opinion. – 2021. – Vol. 37, № 2. – P. 1–11.
45. Abbas, A. K. Die and let live : eliminating dangerous lymphocytes / A. K. Abbas // Cell. – 1996. – Vol. 84, № 5. – P. 655–657.
46. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia / N. Tang, D. Li, X. Wang, Z. Sun // J Thromb Haemost. – 2020. – Vol. 18, № 4. – P. 844–847.
47. ACE2-independent infection of T lymphocytes by SARS-CoV-2 / X. R. Shen, R. Geng, Q. Li [et al.] // Signal Transduct Target Ther. – 2022. – № 7. – P. 83.
48. Acute respiratory distress syndrome : the Berlin Definition / ARDS Definition Task Force // JAMA. – 2012. – Vol. 307, № 23. – P. 2526–2533.
49. Acute SARS-CoV-2 Infection Impairs Dendritic Cell and T Cell Responses / R. Zhou, K. K. To, Y. C. Wong [et al.] // Immunity. – 2020. – Vol. 53, № 4. – P. 864–877.
50. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival / D. M. Del Valle, S. Kim-Schulze, H. H. Huang [et al.] // Nat. Med. – 2020. – Vol. 26. – P. 1636–1643.
51. Antibiotic use and bacterial Infection among Inpatients in the first wave of COVID-19 : a retrospective cohort study of 64,691 patients / J. D. Baghdadi, K. C. Coffey, T. Adediran [et al.] // Antimicrob. Agent Chemother. – 2021. – Vol. 65, № 11. – P. e0134121.
52. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19 / Q. X. Long, B. Z. Liu, H. J. Deng [et al.] // Nat Med. – 2020. – Vol. 26, № 6. – P. 845–848.
53. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity / C. Rydzynski Moderbacher, S. I. Ramirez, J. M. Dan [et al.] // Cell. – 2020. – Vol. 183, № 4. – P. 996–1012.
54. Apoptosis and immunophenotyping of peripheral blood lymphocytes in Iranian COVID-19 patients : Clinical and laboratory characteristics / S. Taghiloo, M. Aliyali, S. Abedi [et al.] // J Med Virol. – 2021. – Vol. 93, № 3. – P. 1589–1598.

55. Apoptosis-induced T-cell lymphopenia is related to COVID-19 severity / A. Cizmecioglu, H. Akay Cizmecioglu, M. H. Goktepe [et al.] // J Med Virol. – 2021. – Vol. 93, № 5. – P. 2867–2874.
56. Association of pre-existing comorbidities with mortality and disease severity among 167,500 individuals with COVID-19 in Canada : A population-based cohort study / E. Ge, Y. Li, S. Wu [et al.] // PLoS ONE. – 2021. – Vol. 16, № 10. – P. e0258154.
57. Association of Public Health Interventions With the Epidemiology of the COVID-19 Outbreak in Wuhan, China / A. Pan, L. Liu, C. Wang [et al.] // JAMA. – 2020. – Vol. 323. – P. 1915–1923.
58. Autophagy Hijacking in PBMC From COVID-19 Patients Results in Lymphopenia / C. Barbati, A. I. Celia, T. Colasanti [et al.] // Front. Immunol. – 2022. – Vol. 13. – P. 903498.
59. Ballas, S. K. Lactate dehydrogenase and hemolysis in sickle cell disease / S. K. Ballas // Blood. – 2013. – Vol. 121, № 1. – P. 243–244.
60. Behzadi, F. Multisystem inflammatory syndrome in adults : a case report and review of the literature / F. Behzadi, N. A. Ulloa, M. Danckers // J Med Case Rep. – 2022. – Vol. 16, № 1. – P. 102.
61. Body Localization of ACE-2 : On the Trail of the Keyhole of SARS-CoV-2 / F. Salamanna, M. Maglio, M. P. Landini, M. Fini // Front Med. – 2020. – № 7. – P. 594495.
62. Caramaschi, S. Histopathological findings and clinicopathologic correlation in COVID-19 : a systematic review / S. Caramaschi, M. E. Kapp, S. E. Miller [et al.] // Modern Pathology. – 2021. – Vol. 34. – P. 1614–1633.
63. Carcillo, J. A. Cytokine storm and sepsis-induced multiple organ dysfunction syndrome / J. A. Carcillo, B. Shakoory // Adv Exp Med Biol. – 2024. – Vol. 1448. – P. 441–457.
64. Case fatality rates of COVID-19 during epidemic periods of variants of concern : A meta-analysis by continents / Q. Xia, Y. Yang, F. Wang [et al.] // Int J Infect Dis. – 2024. – Vol. 141. – P. 106950.

65. Case series of multisystem inflammatory syndrome in adults associated with SARS-CoV-2 infection – United Kingdom and United States, March-August 2020 / S. B. Morris, N. G. Schwartz, P. Patel [et al.] // *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* – 2020. – Vol. 69. – P. 1450–1456.
66. Caspase-9, caspase-3 and caspase-7 have distinct roles during intrinsic apoptosis / M. Brentnall, L. Rodriguez-Menocal, R. L. De Guevara [et al.] // *BMC Cell Biol.* – 2013. – Vol. 14. – P. 32.
67. Castelli, V. Cytokine Storm in COVID-19 : «When You Come Out of the Storm, You Won't Be the Same Person Who Walked in» / V. Castelli, A. Cimini, C. Ferri // *Front. Immunol.* – 2020. – № 11. – P. 2132.
68. CD147-spike protein is a novel route for SARS-CoV-2 infection to host cells / K. Wang, W. Chen, Z. Zhang [et al.] // *Signal Transduct Target Ther.* – 2020. – Vol. 5, № 1. – P. 283.
69. Cell-Type Apoptosis in Lung during SARS-CoV-2 Infection / Y. Liu, T. M. Garron, Q. Chang [et al.] // *Pathogens.* – 2021. – Vol. 10. – P. 509.
70. Changes in thrombus composition and profilin-1 release in acute myocardial infarction / I. Ramaiola, T. Padró, E. Peña [et al.] // *Eur Heart J.* – 2015. – Vol. 36. – P. 965–975.
71. Characterisation of the pro-inflammatory cytokine signature in severe COVID-19 / H. C. Hawerkamp, A. H. Dyer, N. D. Patil [et al.] // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 14. – P. 1170012.
72. Characteristics and outcomes of 21 critically ill patients with COVID-19 in Washington state / M. Arentz, E. Yim, L. Klaff [et al.] // *JAMA.* – 2020. – Vol. 323. – P. 1612.
73. Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia / F. Wang J. Nie, H. Wang [et al.] // *J Infect Dis.* – 2020. – Vol. 221, № 11. – P. 1762–1769.
74. Charlson comorbidity index and a composite of poor outcomes in COVID-19 patients : A systematic review and meta-analysis / R. A. Tuty Kuswardhani, J.

Henrina, R. Pranata [et al.] // *Diabetes Metab Syndr.* – 2020. – Vol. 14, № 6. – P. 2103–2109.

75. Chi, H. Principles and therapeutic applications of adaptive immunity / H. Chi, M. Pepper, P. G. Thomas // *Cell.* – 2024. – Vol. 187, № 9. – P. 2052–2078.

76. Cho, S. I. Impact of comorbidity burden on mortality in patients with COVID-19 using the Korean health insurance database / S. I. Cho, S. Yoon, H. J. Lee // *Sci Rep.* – 2021. – Vol. 11. – P. 6375.

77. Choi, Y. Autophagy during viral infection – a double-edged sword / Y. Choi, J. W. Bowman, J. U. Jung // *Nat Rev Microbiol.* – 2018. – Vol. 16, № 6. – P. 340–353.

78. Chousterman, B. G. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis / B. G. Chousterman, F. K. Swirski, G. F. Weber // *Semin Immunopathol.* – 2017. – Vol. 39. – P. 517–528.

79. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019 / G. Chen, D. Wu, W. Guo [et al.] // *J Clin Invest.* – 2020. – Vol. 130, № 5. – P. 2620–2629.

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

81. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China : a single-centered, retrospective, observational study / X. Yang, Y. Yu, J. Xu [et al.] // *Lancet Respir Med.* – 2020. – Vol. 8. – P. 475–481.

82. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China : a retrospective cohort study / F. Zhou, T. Yu, R. Du [et al.] // *Lancet.* – 2020. – Vol. 395, № 10229. – P. 1054–1062.

83. Clinical criteria for COVID-19-associated hyperinflammatory syndrome : a cohort study / B. J. Webb, I. D. Peltan, P. Jensen [et al.] // *Lancet Rheumatol.* – 2020. – Vol. 2, № 12. – P. e754-e763.

84. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China / C. Huang, Y. Wang, X. Li [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395, № 10223. – P. 497–506.
85. Clinical laboratory parameters associated with severe or critical novel coronavirus disease 2019 (COVID-19) : A systematic review and meta-analysis / J. Moutchia, P. Pokharel, A. Kerri [et al.] // *PLoS ONE*. – 2020. – Vol. 15, № 10. – P. e0239802.
86. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China / Q. Ruan, K. Yang, W. Wang [et al.] // *Intensive Care Med*. – 2020. – Vol. 46, № 5. – P. 846–848.
87. Clinical Significance of Plasma D-Dimer in COVID-19 Mortality / Y. Li, Y. Deng, L. Ye [et al.] // *Front Med (Lausanne)*. – 2021. – Vol. 8. – P. 638097.
88. Clinical value of blood markers to assess the severity of coronavirus disease 2019 / L. N. Xiao, X. Ran, Y. X. Zhong [et al.] // *BMC Infect Dis*. – 2021. – № 21. – P. 921.
89. Comoglu, S. Does the Charlson comorbidity index help predict the risk of death in COVID-19 patients? / S. Comoglu, A. Kant // *North Clin Istanbul*. – 2022. – Vol. 9, № 2. – P. 117–121.
90. Comparison of C-reactive protein with distinct hyperinflammatory biomarkers in association with COVID-19 severity, mortality and SARS-CoV-2 variants / T. G. Paranga, M. Pavel-Tanasa, D. Constantinescu [et al.] // *Front. Immunol*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1213246.
91. Complex immune dysregulation in COVID-19 patients with severe respiratory failure / E. J. Giamarellos-Bourboulis, M. G. Netea, N. Rovina [et al.] // *Cell Host Microbe*. – 2020. – Vol. 27. – P. 992–1000.
92. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19 / L. Kuri-Cervantes, M. B. Pampena, W. Meng [et al.] // *Sci. Immunol*. – 2020. – Vol. 5, № 49. – P. eabd7114.

93. COVID-19 and comorbidities : a systematic review and meta-analysis / M. S. Gold, D. Sehayek, S. Gabrielli [et al.] // *Postgrad Med.* – 2020. – Vol. 132, № 8. – P. 749–755.
94. COVID-19 : consider cytokine storm syndromes and immunosuppression / P. Mehta, D. F. McAuley, M. Brown [et al.] // *Lancet.* – 2020. – Vol. 395. – P. 1033–1034.
95. COVID-19 immune features revealed by a large-scale single-cell transcriptome atlas / X. Ren, W. Wen, X. Fan [et al.] // *Cell.* – 2021. – Vol. 184, № 7. – P. 1895–1913.
96. COVID-19 Pathology in the Lung, Kidney, Heart and Brain : The Different Roles of T-Cells, Macrophages, and Microthrombosis / T. E. Poloni, M. Moretti, V. Medici [et al.] // *Cells.* – 2022. – Vol. 11, № 19. – P. 3124.
97. COVID-19-associated coagulopathy / M. Franchini, G. Marano, M. Cruciani [et al.] // *Diagnosis (Berl).* – 2020. – Vol. 7, № 4. – P. 357–363.
98. Crotty, S. T. Follicular Helper Cell Biology : A Decade of Discovery and Diseases / S. T. Crotty // *Immunity.* – 2019. – Vol. 50, № 5. – P. 1132–1148.
99. Cytokine profiles associated with acute COVID-19 and long COVID-19 syndrome / M. A. F. Queiroz, P. F. Neves, S. S. Lima [et al.] // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2022. – Vol. 12. – P. 922422.
100. Cytokine Response Patterns in Severe Pandemic 2009 H1N1 and Seasonal Influenza among Hospitalized Adults / N. Lee, C. K. Wong, P. K. S. Chan [et al.] // *PLoS ONE.* – 2011. – Vol. 6, № 10. – P. e26050.
101. Cytokine storm and histopathological findings in 60 cases of COVID-19-related death : from viral load research to immunohistochemical quantification of major players IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-15 and TNF- $\alpha$  / P. Frisoni, M. Neri, S. D'Errico [et al.] // *Forensic Sci Med Pathol.* – 2022. – Vol. 18, № 1. – P. 4–19.
102. Cytokine Storm in COVID19-Immunopathological Mechanisms, Clinical Considerations, and Therapeutic Approaches : The REPROGRAM Consortium Position Paper / S. Bhaskar, A. Sinha, M. Banach [et al.] // *Front Immunol.* – 2020. – № 11. – P. 1648.

103. da Silva, F. P. Cell death during sepsis : integration or disintegration in the inflammatory response to overwhelming infection / F. P. da Silva, V. Nizet // *Apoptosis*. – 2009. – Vol. 14. – P. 509–521.
104. D-dimer, disease severity, and deaths (3D-study) in patients with COVID-19 : a systematic review and meta-analysis of 100 studies / S. R. Varikasuvu, S. Varshney, N. Dutt [et al.] // *Sci Rep*. – 2021. – Vol. 11. – P. 21888.
105. D-dimer level is a useful predictor for mortality in patients with COVID-19 : Analysis of 483 cases / M. Soni, R. Gopalakrishnan, R. Vaishya, P. Prabu // *Diabetes Metab Syndr*. – 2020. – Vol. 14, № 6. – P. 2245–2249.
106. D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19 / L. Zhang, X. Yan, Q. Fan [et al.] // *J Thromb Haemostasis*. – 2022. – Vol. 18, № 6. – P. 1324.
107. Defining the correlates of lymphopenia and independent predictors of poor clinical outcome in adults hospitalized with COVID-19 in Australia / P. Hastak, D. Cromer, J. Malycha [et al.] // *Sci Rep*. – 2024. – Vol. 14, № 1. – P. 11102.
108. Dessie, Z. G. Mortality-related risk factors of COVID-19 : a systematic review and meta-analysis of 42 studies and 423,117 patients / Z. G. Dessie, T. Zewotir // *BMC Infect Dis*. – 2021. – Vol. 21. – P. 855.
109. Diagnostic Utility of Clinical Laboratory Data Determinations for Patients with the Severe COVID-19 / Y. Gao, T. Li, M. Han [et al.] // *J. Med. Virol*. – 2020. – Vol. 92, № 7. – P. 791–796.
110. Differences of blood cells, lymphocyte subsets and cytokines in COVID-19 patients with different clinical stages : a network meta-analysis / V. Yan, D. Chen, F. M. Bigambo [et al.] // *BMC Infectious Diseases*. – 2021. – Vol. 21. – P. 156.
111. Differential diagnoses of acute ground-glass opacity in chest computed tomography : pictorial essay / M. J. R. Matos, M. E. E. Rosa, V. M. Brito [et al.] // *Einstein (Sao Paulo)*. – 2021. – Vol. 19. – P. eRW5772.
112. Diffuse alveolar damage (DAD) resulting from coronavirus disease 2019 Infection is Morphologically Indistinguishable from Other Causes of DAD / K. E.

Konopka, T. Nguyen, J. M. Jentzen [et al.] // *Histopathology*. – 2016. – Vol. 77, № 4. – P. 570–578.

113. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China / C. Qin, L. Zhou, Z. Hu [et al.] // *Clin Infect Dis*. – 2020. – Vol. 71. – P. 762–768.

114. Early administration of tocilizumab in hospitalized COVID-19 patients with elevated inflammatory markers; COVIDSTORM – a prospective, randomized, single-centre, open-label study / N. Broman, T. Feuth, T. Vuorinen [et al.] // *Clin Microbiol Infect*. – 2022. – Vol. 28, № 6. – P. 844–851.

115. Early identification of COVID-19 cytokine storm and treatment with anakinra or tocilizumab / A. Langer-Gould, J. B. Smith, E. G. Gonzales [et al.] // *Int J Infect Dis*. – 2020. – Vol. 99. – P. 291–297.

116. Early induction of functional SARS-CoV-2-specific T cells associates with rapid viral clearance and mild disease in COVID-19 patients / A. T. Tan, M. Linster, C. W. Tan [et al.] // *Cell Rep*. – 2021. – Vol. 34, № 6. – P. 108728.

117. Ebola virus-mediated T-lymphocyte depletion is the result of an abortive infection / P. Younan, R. I. Santos, P. Ramanathan [et al.] // *PLoS Pathog*. – 2019. – Vol. 15. – P. e1008068.

118. EBV DNA increase in COVID-19 patients with impaired lymphocyte subpopulation count / S. Paolucci, I. Cassaniti, F. Novazzi [et al.] // *Int J Infect Dis*. – 2021. – Vol. 104. – P. 315–319.

119. Effect of Comorbidities on the Mortality of Patients With COVID-19 : A Systematic Review of Reviews and Meta-Analyses / K. L. T. Ganaza-Domingues, Á.C. F. H. Ramos-Milaré, D. S. S. L. Lera-Nonose [et al.] // *Rev Med Virol*. – 2025. – Vol. 35, № 2. – P. e70024.

120. Effects of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus infection on peripheral blood lymphocytes and their subsets / Z. He, C. Zhao, Q. Dong [et al.] // *Int J Infect Dis*. – 2005. – Vol. 9, № 6. – P. 323–330.

121. Effects of TNF-alpha on leukocyte adhesion molecule expressions in cultured human lymphatic endothelium / Y. Sawa, Y. Sugimoto, T. Ueki [et al.] // *J Histochem Cytochem.* – 2007. – Vol. 55, № 7. – P. 721–733.
122. Elevated C-reactive protein in early COVID-19 predicts worse survival among hospitalized geriatric patients / A. Villoteau, M. Asfar, M. Otekpo [et al.] // *PLoS ONE.* – 2021. – Vol. 16, № 9. – P. e0256931.
123. Elmore, S. Apoptosis : A review of programmed cell death / S. Elmore // *Toxicol Pathol.* – 2007. – Vol. 35, № 4. – P. 495–516.
124. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 / Z. Varga, A. J. Flammer, P. Steiger [et al.] // *Lancet.* – 2020. – Vol. 395, № 10234. – P. 1417–1418.
125. Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19 / A. Bonaventura, A. Vecchié, L. Dagna [et al.] // *Nat Rev Immunol.* – 2021. – Vol. 21, № 5. – P. 319–329.
126. Endothelial Dysfunction in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases and Beyond : From Mechanism to Pharmacotherapies / S. Xu, I. Ilyas, P. J. Little [et al.] // *J. Pharmacol Rev.* – 2021. – Vol. 73, № 3. – P. 924–967.
127. Engelmann, B. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity / B. Engelmann, S. Massberg // *Nat. Rev. Immunol.* – 2013. – Vol. 13, № 1. – P. 34–45.
128. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019 : a model-based analysis / R. Verity, L. C. Okell, I. Dorigatti [et al.] // *Lancet Infect Dis.* – 2020. – Vol. 20. – P. 669–677.
129. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues / Y. Li, M. L. Li, Y. Zhang, X. S. Wang // *Infect Dis Poverty.* – 2020. – № 9. – P. 45.
130. Extremely high incidence of lower extremity deep venous thrombosis in 48 Patients with severe COVID-19 in Wuhan / B. Ren, F. Yan, Z. Deng [et al.] // *Circulation.* – 2020. – Vol. 142, № 2. – P. 181–183.
131. Fajgenbaum, D. C. Cytokine Storm / D. C. Fajgenbaum, C. H. June // *N Engl J Med.* – 2020. – Vol. 383, № 23. – P. 2255–2273.

132. Fas ligand and Fas are expressed constitutively in human astrocytes and the expression increases with IL-1, IL6, TNF-alpha, or IFN-gamma / C. Choi, J. Y. Park, J. Lee [et al.] // J Immunol. – 1999. – Vol. 162. – P. 1889–1895.
133. FcgammaR-mediated SARS-CoV-2 infection of monocytes activates inflammation / C. Junqueira, A. Crespo, S. Ranjbar [et al.] // Nature. – 2022. – Vol. 606. – P. 576–584.
134. Feng, Z. The novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) directly decimates human spleens and lymph nodes / Z. Feng, B. Diao, R. Wang [et al.] // medRxiv. – 2020.
135. Ferritin is associated with the severity of lung involvement but not with worse prognosis in patients with COVID-19 : data from two Italian COVID-19 units / F. Carubbi, L. Salvati, A. Alunno [et al.] // Sci Rep. – 2021. – № 11. – P. 4863.
136. Ferritin level : A predictor of severity and mortality in hospitalized COVID-19 patients / M. Alroomi, R. Rajan, A. A. Omar [et al.] // Immun Inflamm Dis. – 2021. – Vol. 9, № 4. – P. 1648–1655.
137. Fine Analysis of Lymphocyte Subpopulations in SARS-CoV-2 Infected Patients : Differential Profiling of Patients With Severe Outcome / T. Raskovalova, A. Vilotitch, M. Pernollet [et al.] // Front. Immunol. – 2022. – Vol. 13. – P. 889813.
138. Flow Cytometric Analysis of Lymphocyte Subsets of Covid-19 Patients from A Single Centre in Turkey / T. Elverdi, A. Erçalışkan, R. Karaal [et al.] // Acıbadem Univ. Sağlık Bilim. Derg. – 2023. – Vol. 14, № 4. – P. 534–541.
139. Gerstner, G. Case Report of Multisystem Inflammatory Syndrome in Adults (MIS-A) : A 31-Year-Old Man with Fever, Rash, and Cardiac Symptoms 6 Weeks Following SARS-CoV-2 Infection, Successfully Resuscitated Following Cardiac Arrest / G. Gerstner, T. A. Rafalski, D. Pankiewicz // Am J Case Rep. – 2022. – Vol. 23. – P. e938127.
140. Global mortality impact of the 1957-1959 influenza pandemic / C. Viboud, L. Simonsen, R. Fuentes [et al.] // J Infect Dis. – 2016. – Vol. 213, № 5. – P. 738–745.

141. Global prevalence of COVID-19-induced acute respiratory distress syndrome : systematic review and meta-analysis / A. W. Azagew, Z. W. Beko, Y. M. Ferede [et al.] // *Syst Rev.* – 2023. – Vol. 12. – P. 212.
142. Ground-glass opacity (GGO) : a review of the differential diagnosis in the era of COVID-19 / D. Cozzi, E. Cavigli, C. Moroni [et al.] // *Jpn J Radiol.* – 2021. – Vol. 39, № 8. – P. 721–732.
143. Gupta, S. Tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis in T cells from aged humans : A role of TNFR-I and downstream signaling molecules / S. Gupta // *Exp Gerontol.* – 2002. – Vol. 37, № 2–3. – P. 293–299.
144. Hacker, G. The morphology of apoptosis / G. Hacker // *Cell Tissue Res.* – 2000. – Vol. 301, № 1. – P. 5–17.
145. Haemophagocytic syndrome and COVID-19 / S. Retamozo, P. Brito-Zerón, A. Sisó-Almirall [et al.] // *Clin Rheumatol.* – 2021. – Vol. 40, № 4. – P. 1233–1244.
146. Hamidi, A. A. Mild/moderate and severe COVID-19 pneumonia : Can the clinical course be predicted / A. A. Hamidi, Y. Ulu // *Maltepe Tıp Dergisi.* – 2021. – Vol. 13, № 3. – P. 92–96.
147. Hantavirus cardiopulmonary syndrome : immune response and pathogenesis / A. A. Borges, G. M. Campos, M. L. Moreli [et al.] // *Microbes Infect.* – 2006. – Vol. 8, № 8. – P. 2324–2330.
148. Hermida, M. Histological disorganization of spleen compartments and severe visceral leishmaniasis / M. Hermida, C. V. B. de Melo, I. Lima, G. Oliveira, W. L. C. dos-Santos // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* – 2018. – Vol. 8. – Art. 394.
149. Highly functional virus-specific cellular immune response in asymptomatic SARS-CoV-2 infection / N. Le Bert, H. E. Clapham, A. T. Tan [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2021. – Vol. 218, № 5. – P. e20202617.
150. Hildebrandt, X. Cell Death and Inflammation During Obesity : Know My Methods, WAT(son) / X. Hildebrandt, M. Ibrahim, N. Peltzer // *Cell Death & Differentiation.* – 2023. – Vol. 30, № 2. – P. 279–292.

151. HLH-2004 : Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis / J.-I. Henter, A. C. Horne, M. Arico' [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2007. – Vol. 48. – P. 124–131.
152. Hotchkiss, R. S. Prevention of Lymphocyte Apoptosis – A potential Treatment of Sepsis? / R. S. Hotchkiss, C. M. Coopersmith, I. E. Karl // *Clin. Inf. Diseases*. – 2005. – Vol. 41, Supl. 7 – P. 465–469.
153. Hyperferritinemia in critically ill COVID-19 patients – Is ferritin the product of inflammation or a pathogenic mediator? / J. Gómez-Pastora, M. Weigand, J. Kim [et al.] // *Clinica Chimica Acta*. – 2020. – Vol. 509. – P. 249–251.
154. Hyperglycemic Condition Causes Pro-Inflammatory and Permeability Alterations Associated With Monocyte Recruitment and Deregulated NFκB/PPARγ Pathways on Cerebral Endothelial Cells : Evidence for Polyphenols Uptake and Protective Effect / J. Taïlé, J. Patché, B. Veeren, M. P. Gonthier // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 3. – P. 1385.
155. Iba, T. Viral-Induced Inflammatory Coagulation Disorders : Preparing for Another Epidemic / T. Iba, J. H. Levy, M. Levi // *Thromb Haemost.* – 2022. – Vol. 122, № 1. – P. 8–19.
156. IL-19 Induces Production of IL-6 and TNF-α and Results in Cell Apoptosis Through TNF-α / Y.-C. Liao, W.-G. Liang, F.-W. Chen [et al.] // *J. Immunol.* – 2002. – Vol. 169. – P. 4288–4297.
157. Immune Cells Profiles In The Peripheral Blood Of Patients With Moderate To Severe COVID-19 And Healthy Subjects With And Without Vaccination With The Pfizer-BioNTech mRNA Vaccine / R. Al-Attiah, H. A. Safar, L. Botras [et al.] // *Front. Immunol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 851765.
158. Immune Response and COVID-19 : A mirror image of Sepsis / E. López-Collazo, J. Avendaño-Ortiz, A. Martín-Quirós, L. A. Aguirre // *Aguirre Int J Biol Sci.* – 2020. – Vol. 16, № 14. – P. 2479–2489.
159. Immunological memory cells / W. Ratajczak, P. Niedźwiedzka-Rystwej, B. Tokarz-Deptuła, W. Deptuła // *Cent. Eur. J. Immunol.* – 2018. – Vol. 43. – P. 194–203.

160. Immunology of COVID-19 : Current State of the Science / N. Vabret, G. J. Britton, C. Gruber [et al.] // *Immunity*. – 2020. – Vol. 52, № 6. – P. 910–941.
161. Immunothrombosis in Acute Respiratory Dysfunction of COVID-19 / X.-Z. Fang, Y.-X. Wang, J.-Q. Xu [et al.] // *Front. Immunol.* – 2021. – № 12. – P. 651545.
162. Impact of sepsis on CD4 T cell immunity / J. Cabrera-Perez, S. A. Condotta, V. P. Badovinac, T. S. Griffith // *J Leukoc Biol.* – 2014. – Vol. 96, № 5. – P. 767–777.
163. Impact of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral Load on Risk of Intubation and Mortality Among Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 / R. Magleby, L. F. Westblade, A. Trzebucki [et al.] // *Clin Infect Dis.* – 2021. – Vol. 73, № 11. – P. e4197-e4205.
164. Impact of severe lymphopenia on the early prediction of clinical outcome in hospitalized patients with pneumococcal community-acquired pneumonia / L. A. Ruiz, L. Serrano, S. Pérez [et al.] // *Infection*. – 2023. – Vol. 51. – P. 1319–1327.
165. Increased age, neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and white blood cells count are associated with higher COVID-19 mortality / E. Vafadar Moradi, A. Teimouri, R. Rezaee [et al.] // *Am J Emerg Med.* – 2021. – Vol. 40. – P. 11–14.
166. Infections, hospitalisations, and deaths averted via a nationwide vaccination campaign using the Pfizer-BioNTech BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in Israel : a retrospective surveillance study / E. J. Haas., J. M. McLaughlin, F. Khan [et al.] // *Lancet Infect Dis.* – 2022. – Vol. 22. – P. 357–366.
167. Integrated longitudinal immunophenotypic, transcriptional and repertoire analyses delineate immune responses in COVID-19 patients / S. Notarbartolo, V. Ranzani, A. Bandera [et al.] // *Sci. Immunol.* – 2021. – Vol. 6, № 62. – P. eabg5021.
168. Investigation of CYP2E1 and Caspase-3 Gene Expressions in COVID-19 patients / S. Karabulut Uzuncakmak, E. Dirican, M. E. Naldan [et al.] // *Gene Rep.* – 2022. – Vol. 26. – P. 101497.
169. Jialal, I. Clinical Utility of Lactate Dehydrogenase : A Historical Perspective / I. Jialal, L. J. Sokoll // *American Journal of Clinical Pathology*. – 2015. – Vol. 143. – P. 158–159.

170. Johnson, N. P. Updating the accounts : global mortality of the 1918-1920 "Spanish" influenza pandemic / N. P. Johnson, J. Mueller // *Bull Hist Med.* – 2002. – Vol. 76. – P. 105e15.
171. Kain, T. Preparing intensive care for the next pandemic influenza / T. Kain, R. Fowler // *Crit Care.* – 2019. – № 23. – P. 337.
172. Kany, S. Cytokines in inflammatory disease / S. Kany, J. T. Vollrath, B. Relja // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2019. – Vol. 20, № 23. – P. 6008.
173. Kupferschmidt, K. Evolving threat / K. Kupferschmidt // *Science.* – 2021. – Vol. 373, № 6557. – P. 844–849.
174. Laboratory Biomarkers for Diagnosis and Prognosis in COVID-19 / D. Battaglini, M. Lopes-Pacheco, H. C. Castro-Faria-Neto [et al.] // *Front. Immunol.* – 2022. – № 13. – P. 857573.
175. Lactate dehydrogenase levels predict coronavirus disease 2019 (COVID-19) severity and mortality : A pooled analysis / B. M. Henry, G. Aggarwal, J. Wong [et al.] // *Am J Emerg Med.* – 2020. – Vol. 38, № 9. – P. 1722–1726.
176. Lactate dehydrogenase predicts disease progression outcome in COVID-19 patients treated with Azvudine / M. Mao, Y. Dian, Y. Sun [et al.] // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2023. – Vol. 13. – P. 1237277.
177. Lactic dehydrogenase-lymphocyte ratio for predicting prognosis of severe COVID-19 / G. Li, F. Xu, X. Yin [et al.] // *Medicine.* – 2021. – Vol. 100, № 4. – P. e2444.
178. Lagunas-Rangel, F. A. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and lymphocyte-to-C-reactive protein ratio in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) : A meta-analysis / F. A. Lagunas-Rangel // *J Med Virol.* – 2020. – Vol. 92, № 10. – P. 1733–1734.
179. Lamers, M. M. SARS-CoV-2 pathogenesis / M. M. Lamers, B. L. Haagmans // *Nat Rev Microbiol.* – 2022. – Vol. 20. – P. 270–284.
180. Letko, M. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses / M. Letko, A. Marzi, V. Munster // *Nat Microbiol.* – 2020. – № 5. – P. 562–569.

181. Liu, Y. C. COVID-19 : The first documented coronavirus pandemic in history / Y. C. Liu, R. L. Kuo, S. R. Shih // *Biomed J.* – 2020. – Vol. 43, № 4. – P. 328–333.
182. Longitudinal analysis reveals that delayed bystander CD8<sup>+</sup> T cell activation and early immune pathology distinguish severe COVID-19 from mild disease / L. Bergamaschi, F. Mescia, L. Turner [et al.] // *Immunity.* – 2021. – Vol. 54, № 6. – P. 1257–1275.
183. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients / J. Liu, S. Li, J. Liu [et al.] // *EBioMedicine.* – 2020. – Vol. 55. – P. 102763.
184. Lossi, L. The concept of intrinsic versus extrinsic apoptosis / L. Lossi // *Biochem J.* – 2022. – Vol. 479, № 3. – P. 357–384.
185. Lymphocyte Population Changes at Two Time Points during the Acute Period of COVID-19 Infection / G. Scalia, M. Raia, M. Gelzo [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2022. – Vol. 11. – P. 4306.
186. Lymphopenia an important immunological abnormality in patients with covid-19 : possible mechanisms / A. Jafarzadeh, S. Jafarzadeh, P. Nozari [et al.] // *Scand J Immunol.* – 2021. – Vol. 93. – P. e12967.
187. Lymphopenia and neutrophilia at admission predicts severity and mortality in patients with COVID-19 : A meta-analysis / B. Henry, I. Cheruiyot, J. Vikse [et al.] // *Acta Bio Med. Atenei Parm.* – 2020. – Vol. 91. – P. e2020008.
188. Lymphopenia and risk of infection and infection-related death in 98,344 individuals from a prospective Danish population-based study / M. Warny, J. Helby, B. G. Nordestgaard [et al.] // *PLoS Med.* – 2018. – Vol. 15, № 11. – P. e1002685.
189. Lymphopenia as a Biological Predictor of Outcomes in COVID-19 Patients : A Nationwide Cohort Study / J. Lee, S.-S. Park, T. Y. Kim [et al.] // *Cancers.* – 2021. – Vol. 13. – P. 471.
190. Lymphopenia as a prognostic factor for overall survival in advanced carcinomas, sarcomas, and lymphomas / I. Ray-Coquard, M. Van Glabbeke, C. Sebban [et al.] // *Cancer Res.* – 2009. – Vol. 69. – P. 5383–5391.

191. Lymphopenia Caused by Virus Infections and the Mechanisms Beyond / Z. Guo, Z. Zhang, M. Prajapati, Y. Li // *Viruses*. – 2021. – Vol. 13. – P. 1876.
192. Lymphopenia in sepsis : a narrative review / Z. Wang, W. Zhang, L. Chen [et al.] // *Crit Care*. – 2024. – Vol. 28, № 1. – P. 315.
193. Lymphopenia in sepsis – an acquired immunodeficiency? / S. Finfer, B. Venkatesh, R. S. Hotchkiss, S. C. Sasson // *Immunology & Cell Biology*. – 2023. – Vol. 101, № 6. – P. 535–544.
194. Lymphopenia is an important prognostic factor in peripheral T cell lymphoma (NOS) treated with anthracycline-containing chemotherapy / Y. R. Kim, S. J. Kim, H. A. Jung [et al.] // *J. Hematol. Oncol.* – 2011. – № 4. – P. 34.
195. Lymphopenia is associated with broad host response aberrations in community-acquired pneumonia / S. E. Doleman, T. D. Y. Reijnders, S. C. M. Joosten [et al.] // *J Infect.* – 2024. – Vol. 88, № 4. – P. 106131.
196. Lymphopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections : A systemic review and meta-analysis / Q. Zhao, M. Meng, R. Kumar [et al.] // *International Journal of Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 96. – P. 131–135.
197. Lymphopenic Community Acquired Pneumonia (L-CAP), an Immunological Phenotype Associated with Higher Risk of Mortality / J. F. Bermejo-Martin, C. Cilloniz, R. Mendez [et al.] // *EBioMedicine*. – 2017. – Vol. 24. – P. 231–236.
198. Majrashi, N. A. A. The value of chest X-ray and CT severity scoring systems in the diagnosis of COVID-19 : A review / N. A. A. Majrashi // *Front. Med.* – 2023. – № 9. – P. 1076184.
199. Malireddi, R. K. S. Innate Immunity in Protection and Pathogenesis During Coronavirus Infections and COVID-19 / R. K. S. Malireddi, B. R. Sharma, T. D. Kanneganti // *Annu Rev Immunol.* – 2024. – Vol. 42, № 1. – P. 615–645.
200. Mebius, R. E. Structure and function of the spleen / R. E. Mebius, G. Kraal // *Nature Reviews Immunology*. – 2005. – Vol. 5. – P. 606–616.

201. Mechanisms Contributing to Adverse Outcomes of COVID-19 in Obesity / M. Sudhakar, S. B. Winfred, G. Meiyazhagan, D. P. Venkatachalam // *Molecular and Cellular Biochemistry*. – 2022. – Vol. 477, № 4. – P. 1155–1193.
202. Mechanisms of endothelial activation, hypercoagulation and thrombosis in COVID-19 : a link with diabetes mellitus / I. Valencia, J. Lumpuy-Castillo, G. Magalhaes [et al.] // *Cardiovasc Diabetol*. – 2024. – Vol. 23, № 1. – P. 75.
203. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells / C. B. Jackson, M. Farzan, B. Chen, H. Choe // *Nat Rev Mol Cell Biol*. – 2022. – Vol. 23, № 1. – P. 3–20.
204. Merad, M. Pathological Inflammation in Patients With Covid-19 : A Key Role for Monocytes and Macrophages / M. Merad, J. C. Martin // *Nat Rev Immunol*. – 2020. – Vol. 20, № 6. – P. 355–362.
205. Mesquita, B. R. Lymphocyte loss and plasmacytosis are associated with IL-6- and TNF-producing cells in the spleens of fatal COVID-19 cases / B. R. Mesquita, L. V. D. S. Carvalho, L. C. G. Baqueiro [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2025. – Vol. 15.
206. Meyer, N. J. Acute respiratory distress syndrome / N. J. Meyer, L. Gattinoni, C. S. Calfee // *Lancet*. – 2021. – Vol. 398, № 10300. – P. 622–637.
207. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) : An Overview / S. L. Deshmane, S. Kremlev, S. Amini, B. Sawaya // *J Interferon Cytokine Res*. – 2009. – Vol. 29, № 6. – P. 313–326.
208. Moore, J. B. Cytokine release syndrome in severe COVID-19 / J. B. Moore, C. H. June // *Science*. – 2020. – Vol. 368, № 6490. – P. 473–474.
209. Mortality in COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome and corticosteroids use : a systematic review and meta-analysis / S. S. Hasan, T. Capstick, R. Ahmed [et al.] // *Expert Rev Respir Med*. – 2020. – Vol. 14, № 11. – P. 1149–1163.
210. Neutrophil to lymphocyte ratio as prognostic and predictive factor in patients with coronavirus disease 2019 : A retrospective cross-sectional study / X. Yan, F. Li, X. Wang [et al.] // *J Med Virol*. – 2020. – Vol. 9, № 11. – P. 2573–2581.

211. Nonviral infection-related lymphocytopenia for the prediction of adult sepsis and its persistence indicates a higher mortality / J. Jiang, H. Du, Y. Su [et al.] // *Medicine*. – 2019. – Vol. 98, № 29. – P. e16535.
212. Obesity and Inflammation : The Linking Mechanism and the Complications / M. S. Ellulu, I. Patimah, H. Khaza'ai [et al.] // *Archives of Medical Science*. – 2017. – Vol. 13, № 4. – P. 851–863.
213. Older age and comorbidity are independent mortality predictors in a large cohort of 1305 COVID-19 patients in Michigan, United States / Z. Imam, F. Odish, I. Gill [et al.] // *J Intern Med*. – 2020. – Vol. 288, № 4. – P. 469–476.
214. Opportunistic Infections in COVID-19 : A Systematic Review and Meta-Analysis / N. Kurra, P. I. Woodard, N. Gandrakota [et al.] // *Cureus*. – 2022. – Vol. 14, № 3. – P. e23687.
215. Orthogonal SARS-CoV-2 Serological Assays Enable Surveillance of Low-Prevalence Communities and Reveal Durable Humoral Immunity / T. J. Ripberger, J. L. Uhrlaub, M. Watanabe [et al.] // *Immunity*. – 2020. – Vol. 53, № 5. – P. 925–933.
216. Pandemic versus epidemic influenza mortality : a pattern of changing age distribution / L. Simonsen, M. J. Clarke, L. B. Schonberger [et al.] // *J Infect Dis*. – 1998. – Vol. 178, № 1. – P. 53–60.
217. Pathophysiology of COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome : a multicentre prospective observational study / G. Grasselli, T. Tonetti, A. Protti [et al.] // *The Lancet Respiratory Medicine*. – 2020. – Vol. 8, № 12. – P. 1201–1208.
218. Patterns of Comorbidity and In-Hospital Mortality in Older Patients With COVID-19 Infection / M. Mahmoud, L. Carmisciano, L. Tagliafico [et al.] // *Front. Med*. – 2021. – Vol. 8. – P. 726837.
219. Peripheral and lung resident memory T cell responses against SARS-CoV-2 / J. Grau-Expósito, N. Sánchez-Gaona, N. Massana [et al.] // *Nat. Commun*. – 2021. – Vol. 12, № 1. – P. 3010.
220. Persistent lymphopenia after diagnosis of sepsis predicts mortality / A. M. Drewry, N. Samra, L. P. Skrupky [et al.] // *Shock*. – 2014. – Vol. 42. – P. 383–391.

221. PIMS-TS National Consensus Management Study Group. A national consensus management pathway for paediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with COVID-19 (PIMS-TS) : results of a national Delphi process / R. Harwood, B. Allin, C. E. Jones [et al.] // *Lancet Child Adolesc Health*. – 2021. – Vol. 5, № 2. – P. 133–141.
222. Population risk factors for severe disease and mortality in COVID19 : A global systematic review and meta-analysis / A. Booth, A. B. Reed, S. Ponzo [et al.] // *PLoS ONE*. – 2021. – Vol. 16, № 3. – P. e0247461.
223. Postmortem Findings Associated With SARS-CoV-2 : Systematic Review and Meta-analysis / S. Satturwar, M. Fowkes, C. Farver [et al.] // *Am J Surg Pathol*. – 2021. – Vol. 45, № 5. – P. 587–603.
224. Postmortem findings in COVID-19 fatalities : A systematic review of current evidence / R. G. Menezes, T. Rizwan, S. Saad Ali [et al.] // *Leg Med (Tokyo)*. – 2022. – Vol. 54. – P. 102001.
225. Predictive value of C-reactive protein for disease severity and survival in COVID-19 patients : a systematic review and meta-analysis / L. Chi, S. Wang, X. Wang [et al.] // *Clin Exp Med*. – 2023. – Vol. 23. – P. 2001–2008.
226. Predictive values of neutrophil-to-lymphocyte ratio on disease severity and mortality in COVID-19 patients : a systematic review and meta-analysis / X. Li, C. Liu, Z. Mao [et al.] // *Crit Care*. – 2020. – Vol. 24. – P. 647.
227. Predictors of mortality among hospitalized COVID-19 patients and risk score formulation for prioritizing tertiary care – An experience from South India / N. Gopalan, S. Senthil, N. L. Prabakar [et al.] // *PLoS ONE*. – 2022. – Vol. 17, № 2. – P. e0263471.
228. Predictors of mortality in patients with coronavirus disease 2019 : a systematic review and meta-analysis / C. Shi, L. Wang, J. Ye [et al.] // *BMC Infect Dis*. – 2021. – Vol. 21. – P. 663.
229. Preliminary predictive criteria for COVID-19 cytokine storm / R. Caricchio, M. Gallucci, C. Dass [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2021. – Vol. 80, № 1. – P. 88–95.

230. Prevalence of venous thromboembolism in patients with severe novel coronavirus pneumonia / S. Cui, S. Chen, X. Li [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2020. – Vol. 18, № 6. – P. 1421–1424.
231. Prognostic implications of neutrophil-lymphocyte ratio in COVID-19 / S. Jimeno, P. S. Ventura, J. M. Castellano [et al.] // *Eur J Clin Invest.* – 2021. – Vol. 51, № 1. – P. e13404.
232. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in COVID-19 compared with Influenza and respiratory syncytial virus infection / L. Prozan, E. Shusterman, J. Ablin [et al.] // *Sci Rep.* – 2021. – Vol. 11. – P. 21519.
233. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy : a two-centre descriptive study / L. Carsana, A. Sonzogni, A. Nasr [et al.] // *Lancet Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 20. – P. 1135–1140.
234. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19 / M. Ackermann, S. E. Verleden, M. Kuehnel [et al.] // *N Engl J Med.* – 2020. – Vol. 383, № 2. – P. 120–128.
235. Putter, J. S. T-cell lymphocytopenia : An omnipresent predictor of morbidity and mortality in consequence of SARS-CoV disease and influenza A infections / J. S. Putter, J. Seghatchian // *Cytokine.* – 2023. – Vol. 165. – P. 156163.
236. Pyroptosis in the lung and spleen of patients died from COVID-19 / X. Tong, H. Ping, X. Gong [et al.] // *European Journal of Inflammation.* – 2022. – Vol. 20. – P. 1–12.
237. Pyroptotic macrophages stimulate the SARS-CoV-2-associated cytokine storm / J. Zhang, H. Wu, X. Yao [et al.] // *Cellular & molecular immunology.* – 2021. – Vol. 18. – P. 1305–1307.
238. Pyroptotic Patterns in Blood Leukocytes Predict Disease Severity and Outcome in COVID-19 Patients / Y. Tang, P. Zhang, Q. Liu [et al.] // *Front. Immunol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 888661.
239. Rapid Generation of Neutralizing Antibody Responses in COVID-19 Patients / M. S. Suthar, M. G. Zimmerman, R. C. Kauffman [et al.] // *Cell Rep Med.* – 2020. – Vol. 1, № 3. – P. 100040.

240. Raut, D. Causes of death in COVID-19 patients : A literature review / D. Raut, P. Shrivastav, S. Parwe // International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. – 2021. – Vol. 11, № 1. – P. 1918–1924.
241. Recombinant interleukin-2 stimulates lymphocyte recovery in patients with severe COVID-19 / M.-E. Zhu, Q. Wang, S. Zhou [et al.] // Experimental and Therapeutic Medicine. – 2021. – Vol. 21. – P. 227.
242. Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) / B. Diao, C. Wang Y. Tan [et al.] // Front. Immunol. – 2020. – Vol. 11. – P. 827.
243. Revisiting IL-2 : Biology and therapeutic prospects / A. K. Abbas, E. Trotta, D. R. Simeonov [et al.] // Sci. Immunol. – 2018. – Vol. 3, № 25. – P. eaat1482.
244. Risk and Protective Factors for COVID 19 Morbidity, Severity, and Mortality / J. J. Zhang, X. Dong, G. H. Liu, Y. D. Gao // Clinical Reviews in Allergy & Immunology. – 2023. – Vol. 64. – P. 90–107.
245. Role and clinical implication of autophagy in COVID-19 / T. Shan, L.-Y. Li, M. Yang [et al.] // Virol J. – 2023. – Vol. 20. – P. 125.
246. Saguil, A. Acute Respiratory Distress Syndrome : Diagnosis and Management / A. Saguil, M. V. Fargo // Am Fam Physician. – 2020. – Vol. 101, № 12. – P. 730–738.
247. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor / M. Hoffmann, H. Kleine-Weber, S. Schroeder [et al.] // Cell. – 2020. – Vol. 181, № 2. – P. 271–280.
248. SARS-CoV-2 induces lymphocytopenia by promoting inflammation and decimates secondary lymphoid organs / Q. Xiang, Z. Feng, B. Diao [et al.] // Front. Immunol. – 2021. – Vol. 12. – P. 661052.
249. SARS-CoV-2 infection of thymus induces loss of function that correlates with disease severity / M. Rosichini, V. Bordoni, D. F. Silvestris [et al.] // J Allergy Clin Immunol. – 2023. – Vol. 151, № 4. – P. 911–921.

250. SARS-CoV-2, inflammatory apoptosis, and cytokine storm syndrome / C. A. A. Hu, I. Murphy, S. Klimaj [et al.] // *Open COVID Journal*. – 2021. – № 1. – P. 22–31.
251. SARS-CoV-2 Mutations and their Viral Variants / B. Cosar, Z. Y. Karagulleoglu, S. Unal [et al.] // *Cytokine Growth Factor Rev*. – 2022. – Vol. 63. – P. 10–22.
252. SARS-CoV-2 : Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development / M.-Y. Wang, R. Zhao, L.-J. Gao [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol*. – 2020. – № 10. – P. 587269.
253. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients / L. Zou, F. Ruan, M. Huang [et al.] // *N. Engl. J. Med*. – 2020. – Vol. 382. – P. 1177–1179.
254. SARS-CoV-2-reactive T cells in healthy donors and patients with COVID-19 / J. Braun, L. Loyal, M. Frentsch [et al.] // *Nature*. – 2020. – Vol. 587. – P. 270–274.
255. SARS-CoV-2's Variants of Concern : A Brief Characterization / A. M. Scovino, E. C. Dahab, G. F. Vieira [et al.] // *Histopathology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 834098.
256. Schulte, W. Cytokines in sepsis : potent immunoregulators and potential therapeutic targets--an updated view / W. Schulte, J. Bernhagen, R. Bucala // *Mediators Inflamm*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 165974.
257. Secondary infections in patients hospitalized with COVID-19 : incidence and predictive factors / M. Ripa, L. Galli, A. Poli [et al.] // *Clin Microbiol Infect*. – 2021. – Vol. 27, № 3. – P. 451–457.
258. Sette, A. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19 / A. Sette, S. Crotty // *Cell*. – 2021. – Vol. 184, № 4. – P. 861–880.
259. Severe lymphopenia in hospitalized patients with influenza virus infection as a marker of a poor outcome / A. Lalueza, D. Folgueira, C. Díaz-Pedroche [et al.] // *Infect Dis (Lond)*. – 2019. – Vol. 51, № 7. – P. 543–546.

260. Severe lymphopenia is associated with elevated plasma interleukin-15 levels and increased mortality during severe sepsis / K. P. Chung, H. T. Chang S. C. Lo [et al.] // Shock. – 2015. – Vol. 43, № 6. – P. 569–575.
261. Severe Pandemic H1N1 2009 Infection Is Associated with Transient NK and T Deficiency and Aberrant CD8 Responses / A. Fox, L. N. M. Hoa, P. Horby [et al.] // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7, № 2. – P. e31535.
262. Sharing CD4+ T Cell Loss : When COVID-19 and HIV Collide on Immune System / X. Peng, J. Ouyang, S. Isnard [et al.] // Front. Immunol. – 2011. – Vol. 11. – P. 596631.
263. Shekhanawar, M. Role of D-Dimer and LDH in Assessment of Severity of Covid-19 / M. Shekhanawar, H. T. Sarala, R. A. Shaik // Asian Journal of Medical Research. – 2021. – Vol. 10, № 2. – P. 1–8.
264. Single-cell RNAseq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection / X. Zou, K. Chen, J. Zou [et al.] // Front Med. – 2020. – № 14. – P. 185–192.
265. Srikiatkachorn, A. Immune-mediated cytokine storm and its role in severe dengue / A. Srikiatkachorn, A. Mathew, A. L. Rothman // Semin Immunopathol. – 2017. – Vol. 39, № 5. – P. 563–574.
266. Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2 / Q. Wang, Y. Zhang, L. Wu [et al.] // Cell. – 2020. – Vol. 181, № 4. – P. 894–904.
267. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein / A. C. Walls, Y. J. Park, M. A. Tortorici [et al.] // Cell. – 2020. – Vol. 181, № 2. – P. 281–292.
268. T cell apoptosis characterizes severe COVID-19 disease / S. André, M. Picard, R. Cezar [et al.] // Cell Death Differ. – 2021. – Vol. 29, № 8. – P. 1486–1499.
269. The common risk factors for progression and mortality in COVID-19 patients : a meta-analysis / L. Zhang, J. Hou, F. Z. Ma [et al.] // Arch Virol. – 2021. – Vol. 166, № 8. – P. 2071–2087.

270. The evaluation of both the expression and serum protein levels of caspase-3 gene in patients with different degrees of SARS-CoV-2 infection / P. Yildiz Gulhan, R. Erozu, O. Ataoglu [et al.] // J Med Virol. – 2022. – Vol. 94, № 3. – P. 897–905.
271. The IL-6-Soluble IL-6Ralpha Autocrine Loop of Endothelial Activation as an Intermediate Between Acute and Chronic Inflammation : An Experimental Model Involving Thrombin / V. Marin, F. A. Montero-Julian, S. Grès [et al.] // J. Immunol. – 2001. – Vol. 167. – P. 3435–4342.
272. The immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 immunopathology. Current perspectives / J. L. Boechat, I. Chora, A. Morais, L. Delgado // Pulmonology. – 2021. – Vol. 27, № 5. – P. 423–437.
273. The Importance of Understanding the Stages of COVID-19 in Treatment and Trials / D. O. Griffin, D. Brennan-Rieder, B. Ngo [et al.] // AIDS Rev. – 2021. – Vol. 23, № 1. – P. 40–47.
274. The Important Role of Interleukin-2 in COVID-19 / L. G. Naeini, L. Abbasi, F. Karimi [et al.] // J. Immunol. Res. – 2023. – Vol. 2023. – P. 7097329.
275. The Interplay Between Coagulation and Inflammation Pathways in COVID-19-Associated Respiratory Failure : A Narrative Review / R. Bhattacharyya, P. Iyer, Gh. Ch. Phua, J. H. Lee // Pulm Ther. – 2020. – Vol. 6, № 2. – P. 215–231.
276. The Johns Hopkins coronavirus resource center, 2025. – URL: <https://www.coronavirus.jhu.edu> (accessed: 30.04.2026).
277. The main causes of death in patients with COVID-19 / P. Oboza, N. Ogarek, M. Olszanecka-Glinianowicz, P. Kocelak // Eur Rev Med Pharmacol Sci. – 2023. – № 27. – P. 2165–2172.
278. The ORF3a protein of SARS-CoV-2 induces apoptosis in cells / Y. Ren, T. Shu, D. Wu [et al.] // Cell Mol Immunol. – 2020. – Vol. 17. – P. 881–883.
279. The prognostic significance of lymphopenia in peripheral T cell and natural killer/T cell lymphomas : A study of 826 cases from the International Peripheral T cell Lymphoma Project / Z. Mitrovic, J. Suzumiya, J. O. Armitage [et al.] // Am. J. Hematol. – 2012. – Vol. 87. – P. 790–794.

280. The role of C-reactive protein as a prognostic marker in COVID-19 / D. Stringer, P. Braude, P. K. Myint [et al.] // *Int J Epidemiol.* – 2021. – Vol. 50, № 2. – P. 420–429.
281. The Role of Cytokines and Chemokines in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infections / S. Y. Hu, P. C. T. Chong, K. Y. Yap [et al.] // *Front. Immunol.* – 2022. – № 13. – P. 832394.
282. The signal pathways and treatment of cytokine storm in COVID-19 / L. Yang, X. Xie, Z. Tu [et al.] // *Signal Transduct Target Ther.* – 2021. – Vol. 6, № 1. – P. 255.
283. Three fatal cases of pandemic 2009 influenza A virus infection in Shenzhen are associated with cytokine storm / X. W. Cheng, J. Lu, C. L. Wu [et al.] // *Respir Physiol Neurobiol.* – 2011. – Vol. 175, № 1. – P.185-187.
284. Thrombocytopathy and endotheliopathy : crucial contributors to COVID-19 thromboinflammation / S. X. Gu, T. Tyagi, K. Jain [et al.] // *Nat Rev Cardiol.* – 2021. – Vol. 18, № 3. – P. 194–209.
285. Thrombus Structural Composition in Cardiovascular Disease / G. Alkarithi, C. Duval, Y. Shi [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2021. – Vol. 41, № 9. – P. 2370–2383.
286. Tocilizumab in hospitalized patients with severe covid-19 pneumonia / I. O. Rosas, N. Bräu, M. Waters [et al.] // *N Engl J Med.* – 2021. – Vol. 384, № 16. – P. 1503–1516.
287. Treatment of endothelial cell dysfunction in atherosclerosis : a new perspective integrating traditional and modern approaches / L. Yang, X. Li, L. Ni, Y. Lin // *Front. Physiol.* – 2025. – Vol. 16. – P. 1555118.
288. TREC/KREC Levels and T and B Lymphocyte Subpopulations in COVID-19 Patients at Different Stages of the Disease / A. A. Savchenko, E. Tikhonova, I. Kudryavtsev [et al.] // *Viruses.* – 2022. – Vol. 14. – P. 646.
289. TREC/KREC Levels in Young COVID-19 Patients / M. B. Khadzhieva, E. V. Kalinina, S. S. Larin [et al.] // *Diagnostics.* – 2021. – Vol. 11. – P. 1486.

290. Understanding COVID-19-associated coagulopathy / E. M. Conway, N. Mackman, R. Q. Warren [et al.] // *Nat Rev Immunol.* – 2022. – № 22. – P. 639–649.
291. Viral Load Difference between Symptomatic and Asymptomatic COVID-19 Patients : Systematic Review and Meta-Analysis / M. Zuin, V. Gentili, C. Cervellati [et al.] // *Infect Dis Rep.* – 2021. – Vol. 13, № 3. – P. 645–653.
292. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2 / M. Cevik, K. Kuppalli, J. Kindrachuk, M. Peiris // *BMJ.* – 2020. – Vol. 23. – P. 371.
293. Wang, M. Pyroptotic cell death in SARS-CoV-2 infection : revealing its roles during the immunopathogenesis of COVID-19 / M. Wang, W. Chang, L. Zhang // *Int J Biol Sci.* – 2022. – Vol. 18, № 15. – P. 5827–5848.
294. Wu, Z. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China : summary of a Report of 72314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention / Z. Wu, J. M. McGoogan // *JAMA.* – 2020. – Vol. 323, № 13. – P. 1239–1242.
295. Yamaoka-Tojo, M. Vascular Endothelial Glycocalyx Damage in COVID-19 / M. Yamaoka-Tojo // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 24. – P. 9712.

## СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

|                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Рисунок 1 - Стадии тяжелого течения коронавирусной инфекции COVID-19 .....                                                                 | 19 |
| Таблица 1 - Критерии гипервоспалительного синдрома при COVID-19 .....                                                                      | 20 |
| Рисунок 2 - Иммунный ответ при коронавирусной инфекции COVID-19 .....                                                                      | 24 |
| Рисунок 3 – Возможные причины лимфопении при COVID-19 .....                                                                                | 26 |
| Рисунок 4 – Пути активации апоптоза клетки.....                                                                                            | 29 |
| Таблица 2 - Характеристика выбранных групп и дизайны исследования .....                                                                    | 45 |
| Таблица 3 - Характеристика используемых МКАТ. ....                                                                                         | 50 |
| Таблица 4 – Клиническая характеристика пациентов с COVID-19 .....                                                                          | 53 |
| Таблица 5 – Лабораторная характеристика пациентов с COVID-19.....                                                                          | 55 |
| Таблица 6 – Характеристика пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19 .....                                                    | 57 |
| Таблица 7 – Динамика абсолютного числа лимфоцитов периферической крови ( $10 \times 9 / \text{л}$ ) у пациентов с COVID-19, Ме [МКР] ..... | 59 |
| Таблица 8 – Абсолютное количество лимфоцитов периферической крови и объем поражения легких у пациентов с COVID-19 .....                    | 61 |
| Таблица 9 – Уровень лактатдегидрогеназы крови у пациентов с COVID-19 при различных объемах поражения легких .....                          | 62 |
| Таблица 10 – Лимфопения у пациентов с различными исходами COVID-19 при госпитализации .....                                                | 63 |
| Таблица 11 – Лимфопения у пациентов с различными исходами COVID-19 в финале заболевания .....                                              | 64 |
| Таблица 12 – Характеристика обследованных пациентов .....                                                                                  | 65 |
| Таблица 13 – Показатели цитокинов в сыворотке крови у пациентов с COVID-19 (Ме; МКР).....                                                  | 67 |
| Таблица 14 – Показатели цитокинов в сыворотке крови у пациентов с COVID-19 с учетом объема поражения легких (Ме; МКР) .....                | 68 |

|                                                                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Таблица 15 – Корреляционный анализ между уровнем провоспалительных цитокинов и лимфоцитов в крови у пациентов с COVID-19.....                                                  | 69 |
| Таблица 16 – Показатели маркеров воспаления у пациентов с COVID-19 в динамике заболевания (Me, [МКР]).....                                                                     | 70 |
| Таблица 17 – Корреляционный анализ между показателями маркеров воспаления и числом лимфоцитов в крови у пациентов с COVID-19 .....                                             | 71 |
| Таблица 18 – Клинико-лабораторная характеристика пациентов.....                                                                                                                | 72 |
| Рисунок 5 – Апоптоз лимфоцитов крови у пациентов с COVID-19 и контрольной группы.....                                                                                          | 73 |
| Рисунок 6 – Результаты исследования апоптоза лимфоцитов методом проточной цитометрии (А – контроль; В – пациент с COVID-19) .....                                              | 74 |
| Таблица 19 – Показатели апоптоза лимфоцитов крови у пациентов с COVID-19 различных возрастных групп, Me [МКР].....                                                             | 74 |
| Таблица 20 – Показатели апоптоза лимфоцитов крови у пациентов с COVID-19 в зависимости от тяжести заболевания, Me [МКР].....                                                   | 75 |
| Таблица 21 – Показатели апоптоза лимфоцитов крови у пациентов с COVID-19 в зависимости от исхода заболевания, Me [МКР].....                                                    | 75 |
| Таблица 22 – Апоптоз лимфоцитов и риск летальности при COVID-19 .....                                                                                                          | 76 |
| Таблица 23 - Клинико-лабораторная характеристика умерших пациентов .....                                                                                                       | 77 |
| Таблица 24 – Площадь кровеносных сосудов легкого (в % от общей площади среза, M+m) .....                                                                                       | 78 |
| Рисунок 7 – Расширение просвета, полнокровие и тромбообразование в кровеносных сосудах легкого у пациента с COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение × 200. .... | 80 |
| Рисунок 8 – Высокая экспрессия МКАТ против CD31 в эндотелии сосудов легкого у пациента с COVID-19. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение × 200. ....               | 80 |
| Рисунок 9 – Деталь рисунка 8. Увеличение × 400.....                                                                                                                            | 80 |
| Рисунок 10 – Скопление мононуклеаров в кровеносном сосуде легкого у пациента с COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение × 200. ....                              | 81 |

|                                                                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Рисунок 11 – Деталь рисунка 10. Увеличение $\times 400$ .....                                                                                                          | 81 |
| Рисунок 12 – Деструкция и десквамация эпителия бронха у пациента с COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$ . ....                          | 82 |
| Рисунок 13 – Экссудативная стадия диффузного альвеолярного повреждения легких у пациента с COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$ .....   | 83 |
| Рисунок 14 – Деталь рисунка 13. Увеличение $\times 400$ .....                                                                                                          | 83 |
| Таблица 25 – Содержание иммунокомпетентных клеток в легком (в % от общего числа клеточных элементов, M+m).....                                                         | 84 |
| Рисунок 15 – CD3+ Т-лимфоциты в легком у пациента с COVID-19. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение $\times 400$ .....                                     | 84 |
| Рисунок 16 – CD68+ макрофаги в легком у пациента с COVID-19. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение $\times 400$ .....                                      | 85 |
| Рисунок 17 – Фолликулярная структура из CD20+ В-лимфоцитов в легком у пациента с COVID-19. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение $\times 400$ . ....       | 86 |
| Рисунок 18 – Пролиферативная стадия диффузного альвеолярного повреждения легких у пациента с COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$ ..... | 87 |
| Рисунок 19 – Деталь рисунка 18. Увеличение $\times 400$ .....                                                                                                          | 87 |
| Рисунок 20 – Выраженное полнокровие и кровоизлияния в красной пульпе селезенки у пациента с COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$ . .... | 87 |
| Таблица 26 – Площади Т- и В-зависимых зон селезенки (в % от общей площади среза, M+m). ....                                                                            | 88 |
| Таблица 27 – Содержание иммунокомпетентных клеток в селезенке (в % от общего числа клеточных элементов, M+m).....                                                      | 88 |
| Рисунок 21 – CD3+ клетки в Т-зависимой периартериальной зоне селезенки у пациента без COVID-19. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение $\times 200$ . ....  | 89 |

|                                                                                                                                                                                                                     |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Рисунок 22 – Деталь рисунка 21. Увеличение $\times 400$ .....                                                                                                                                                       | 89  |
| Рисунок 23 – Уменьшение содержания CD3+ клеток в Т-зависимой периартериальной зоне селезенки у пациента с COVID-19. Реакция с МКАТ против CD3. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение $\times 200$ ..... | 90  |
| Рисунок 24 – Деталь рисунка 23. Увеличение $\times 400$ .....                                                                                                                                                       | 91  |
| Рисунок 25 – В-зависимая зона - лимфоидный фолликул селезенки у пациента без COVID-19. Реакция с МКАТ против CD20. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение $\times 200$ .....                             | 91  |
| Рисунок 26 – Атрофия лимфоидного фолликула селезенки у пациента с COVID-19. Реакция с МКАТ против CD20. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение $\times 200$ .....                                        | 91  |
| Рисунок 27 – CD68+ макрофаги в селезенке у пациента с COVID-19. LSAB-метод с докраской гематоксилином. Увеличение $\times 200$ .....                                                                                | 92  |
| Рисунок 28 – Деталь рисунка 27. Увеличение $\times 400$ .....                                                                                                                                                       | 92  |
| Таблица 28 – Частота развития вторичных инфекций у пациентов с COVID-19 в зависимости от уровня лимфоцитов в крови.....                                                                                             | 94  |
| Таблица 29 – Частота развития вторичных инфекций у пациентов с COVID-19 с тяжелой лимфопенией.....                                                                                                                  | 95  |
| Таблица 30 – Характеристики связи предикторов модели с шансами развития бактериальных инфекций у пациентов с COVID-19.....                                                                                          | 96  |
| Рисунок 29 – Оценки отношения шансов (ОШ и 95% ДИ) для изучаемых предикторов бактериальных инфекций.....                                                                                                            | 97  |
| Рисунок 30 – ROC-кривая, характеризующая дискриминационную способность регрессионной модели при прогнозировании бактериальных инфекций.....                                                                         | 98  |
| Таблица 31 – Характеристика связи предикторов модели с шансами развития грибковых инфекций.....                                                                                                                     | 99  |
| Рисунок 31 – Оценки отношения шансов с 95% ДИ для изучаемых предикторов грибковых инфекций.....                                                                                                                     | 100 |
| Рисунок 32 – ROC-кривая, характеризующая дискриминационную способность регрессионной модели при прогнозировании грибковых инфекций.....                                                                             | 100 |

|                                                                                                                                         |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Таблица 32 – Маркеры воспаления в крови у пациентов с COVID-19 (Ме, МКР) при госпитализации .....                                       | 102 |
| Таблица 33 – Маркеры воспаления в крови у пациентов с COVID-19 (Ме, МКР) в финале заболевания .....                                     | 102 |
| Таблица 34 – Биомаркеры воспаления при госпитализации и риск летальности при коронавирусной инфекции COVID-19.....                      | 104 |
| Таблица 35 – Характеристики связи предикторов модели с шансами выявления исхода заболевания .....                                       | 106 |
| Рисунок 33 – Оценки отношения шансов с 95% ДИ для изучаемых предикторов исхода заболевания .....                                        | 108 |
| Рисунок 34 – ROC-кривая, характеризующая дискриминационную способность регрессионной модели при прогнозировании исхода заболевания..... | 109 |
| Рисунок 35 – Механизмы формирования лимфопении при COVID-19.....                                                                        | 118 |