

ОЦЕНКА УРОВНЕЙ МОЛЕКУЛ ТРЕС И КРЕС У БОЛЬНЫХ COVID-19 С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Сайтгалина М. А. ¹,

Останкова Ю. В. ¹,

Арсентьева Н. Е. ¹,

Коробова З. Р. ¹,

Любимова Н. Е. ¹,

Кащенко В. А. ^{2,3},

Куликов А. Н. ⁴,

Певцов Д. Э. ⁴,

Станевич О. В. ^{4,5},

Черных Е. И. ²,

Тотолян А. А. ^{1,4}

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

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

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

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

⁵ ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия.

ASSESSMENT OF TREC AND KREC LEVELS IN COVID-19 PATIENTS WITH VARYING DISEASE SEVERITY

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

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

^b The Federal State Budgetary Institution «North-Western District Scientific and Clinical Center Named after L.G. Sokolov Federal Medical and Biological Agency», St. Petersburg, Russian Federation.

^c Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saint-Petersburg State University", St. Petersburg, Russian Federation.

^d I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation.

^e The Federal State Budgetary Institution «Smorodintsev Research Institute of Influenza», St. Petersburg, Russian Federation.

Резюме.

По данным ВОЗ за период пандемии COVID-19 количество зараженных превысило 765,2 млн. человек. Тяжесть состояния пациентов определяется гиперактивацией иммунной системы. Значимую роль в контроле инфекционного процесса играет активация субпопуляций Т- и В-лимфоцитарных клеток. Одними из маркеров созревания функционально активных Т- и В-клеток может служить содержание в периферической крови небольших 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), соответственно.

Цель настоящей работы: дать количественную оценку содержанию молекул TREC и KREC в периферической крови больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 с разной тяжестью течения инфекционного процесса.

Материалы и методы. Материалом служили 1028 образцов крови от пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19 со средне тяжелым, тяжелым или крайне тяжелым течением, а также 717 образцов крови от условно здоровых добровольцев. Оценка содержания ДНК-фрагментов TREC и KREC в тотальной фракции ДНК проводили методом количественной Real-time ПЦР с использованием тест-системы «TREC/KREC-AMP PS» (ФБУН НИИ Пастера, Россия). Для биообразцов, полученных от тяжелых и крайне тяжелых больных, проводили фенотипирование клеток крови методом проточной цитометрии. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения GraphPad Prizm 5 и Microsoft Excel 2010.

Результаты. Уровни TREC и/или KREC у больных COVID-19 достоверно снижены ($p < 0,0001$ при 95% ДИ). Установлена достоверная прямая корреляционная зависимость уровней молекул TREC с количеством CD45+CD3+CD19- Т-клеток ($r = 0,59$, $p < 0,0001$), и уровней молекул KREC с количеством CD45+CD3-CD19+ В-клеток ($r = 0,66$, $p < 0,0001$) в периферической крови. Уровень молекул TREC у больных с тяжелым течением инфекционного процесса достоверно снижен по сравнению с

больными средней тяжести в группах пациентов 30-39 лет ($p = 0,0404$) и 40-49 лет ($p = 0,0356$). Отрицательная корреляционная зависимость между тяжестью клинических проявлений COVID-19 и уровнем TREC в крови больных в возрастном диапазоне 30-49 лет свидетельствует о возможности применения данного анализа как диагностического и прогностического лабораторного маркера состояния пациента. Несложный алгоритм ПЦР-анализа делает актуальным применение описанного способа оценки состояния иммунитета коронавирусных больных в условиях системного негативного влияния вируса SARS-CoV-2 на организм человека.

Ключевые слова: TREC, KREC, COVID-19, SARS-CoV-2, иммунный статус, лабораторные маркеры.

Abstract.

According to the WHO data, the number of infected people exceeded 765.2 million people during the COVID-19 pandemic,. The severity of patient's condition is determined by immune system hyperactivation. Activation of T- and B-lymphocyte subsets plays a prominent role in the control of infectious process. A content of small circular DNA molecules - T-cell receptor excision circles (TREC - T-cell receptor excision circles) and B-cell ("kappa") excision rings (KREC - Kappa-deleting recombination excision circles) - in the peripheral blood can be used as a marker of the functionally active T and B cells maturation. **The purpose** of this work is to quantify peripheral blood TREC and KREC level in patients with the new coronavirus infection COVID-19 of varying severity. **Materials and methods.** The material consisted of 1028 blood samples from patients with a confirmed diagnosis of COVID-19, as well as 717 blood samples from apparently healthy volunteers. The content of TREC and KREC DNA fragments in the total DNA fraction was assessed by quantitative Real-time PCR using the "TREC/KREC-AMP PS" test system (Saint-Petersburg Pasteur Institute, Russia). Blood cell phenotyping was carried out using flow cytometry. **Results.** TREC/KREC levels were significantly reduced in COVID-19 patients ($p < 0.0001$ at 95% CI). A significant direct correlation was established between the levels of peripheral blood TREC molecules and level of CD45+CD3+CD19- T cells ($r = 0.59$, $p < 0.0001$), as well as between KREC level and count of CD45+CD3-CD19+ B cells ($r = 0.66$, $p < 0.0001$). The level of TREC molecules in patients with severe vs. moderate infection was significantly reduced in patients aged 30-39 years old ($p = 0.0404$) and 40-49 years old ($p = 0.0356$). The negative correlation between severity of COVID-19 clinical manifestations and TREC level in the blood of patients in 30-49 year age group indicates about an opportunity of using this analyte as a diagnostic and prognostic laboratory marker of patient's condition. A simple PCR analysis algorithm makes it relevant to use the

described method for assessing a state of immunity in coronavirus patients in the context of systemic negative impact of the SARS-CoV-2 virus on human organism.

Keywords: TREC, KREC, COVID-19, SARS-CoV-2, immune status, laboratory markers.

1 **Введение.**

2 Введение. Накопленные на сегодняшний день знания о воздействии
3 новой коронавирусной инфекции COVID-19 на организм человека, позволяют
4 рассматривать инфекцию как системное заболевание, затрагивающее не
5 только дыхательную, но и сердечно-сосудистую, желудочно-кишечную,
6 кроветворную и иммунную системы. По данным Всемирной организации
7 здравоохранения за период пандемии COVID-19 с марта 2020 г. по май 2023 г.
8 количество зараженных человек превысило 765,2 млн. человек, количество
9 умерших вследствие инфекции – 6,9 млн. человек [29].

10 Клиническая картина больных, инфицированных COVID-19, варьирует
11 от бессимптомных форм до тяжелого течения. Общие особенности
12 инфекционного процесса включают такие симптомы как лихорадка, кашель,
13 одышка, нарушения в работе желудочно-кишечного тракта, кожные
14 проявления [9, 12, 16]. За стадией репликации вируса SARS-CoV-2 в течение
15 нескольких дней с относительно легкими симптомами, следует стадия
16 активации адаптивного иммунного ответа, которая может вызвать внезапное
17 клиническое ухудшение [32]. Тяжелое состояние связывают с
18 проникновением вируса в альвеолярные эпителиальные клетки типа II,
19 вызывая высвобождение провоспалительных молекул. Активный синтез
20 цитокинов привлекает нейтрофилы и Т-клетки, которые, в свою очередь,
21 вызывают значительное повреждение и воспаление легких, что, в конечном
22 итоге, может приводить к острому респираторному дистресс-синдрому,
23 сопровождаться развитием шока, энцефалопатиями, поражениями миокарда,
24 сердечной недостаточностью, дисфункцией свертывания крови, острой
25 почечной недостаточностью [14, 24, 34, 35].

26 Главными факторами риска неблагоприятного исхода заболевания
27 являются возраст, сахарный диабет, хронические легочные и сердечно-
28 сосудистые заболевания, гипертония. По литературным данным вирус с

29 большей вероятностью вызывает тяжелые интерстициальные пневмонии,
30 полиорганную и острую дыхательную недостаточность, летальные исходы у
31 лиц пожилого возраста [20, 24, 33, 35].

32 Ряд опубликованных исследований свидетельствует о том, что тяжесть
33 состояния пациентов определяется гиперактивацией иммунной системы, и,
34 как следствие, высоким уровнем цитокинов, тромбозами, множественными
35 мононуклеарными клеточными инфильтрациями органов, тяжелыми
36 лимфопениями [1, 2, 8, 15, 18, 19, 22, 23, 26]. В исследовании, проведенном
37 Guan W.J. с соавторами среди 1099 госпитализированных пациентов с COVID-
38 19 лимфопении наблюдались в 83% случаев, в 36% случаев присутствовали
39 тромбоцитопении, в 34% случаев - лейкопении [11].

40 Поскольку значимую роль в контроле инфекционного процесса играет
41 активация субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, более легкое течение
42 заболевания ассоциировано с адекватным функционированием CD4+ и CD8+
43 Т-лимфоцитов, а также В-клеточным звеном иммунного ответа. Одними из
44 маркеров созревания функционально активных Т- и В-клеток может служить
45 содержание в периферической крови небольших кольцевых молекул ДНК - Т-
46 клеточных эксцизионных колец (TREC - T-cell receptor excision circles) и В-
47 клеточных («каппа») эксцизионных колец (KREC - Kappa-deleting
48 recombination excision circles) соответственно. Молекулы TREC и KREC
49 образуются в процессе формирования активного рецепторного гена, с
50 которого в дальнейшем будет осуществляться синтез уникальной пептидной
51 последовательности антиген-распознающих Т- и В-клеточных рецепторов.
52 Для формирования такого гена в каждом лимфоците при созревании на стадии
53 антиген-независимой дифференцировки Т-клеток в тимусе и В-клеток в
54 костном мозге должен произойти ряд сложных генетических перестроек и
55 рекомбинаций. Механизм перестройки повторяющихся сегментов пула
56 рецепторных генов носит название V(D)J-реаранжировка. В ходе таких

57 поэтапных генетических реаранжировок небольшие последовательности ДНК
58 вырезаются из генома как побочных продукт, замыкаются в кольца (TREC и
59 KREC) и в дальнейшем существуют в одном из дочерних лимфоцитов в виде
60 кольцевой эписомальной ДНК. ДНК-кольца TREC и KREC не реплицируются
61 с последующими делениями клеток и, как сказано выше, могут служить
62 маркерами образования потенциально активных Т- и В-лимфоцитов [26-28].

63 Учитывая вышесказанное, уровень молекул TREC и KREC в
64 периферической крови можно рассматривать как одну из характеристик
65 иммунного статуса пациента. Поскольку низкие уровни или отсутствие этих
66 молекул в кровотоке свидетельствует о невозможности развития адекватных
67 защитных реакций организма, опосредованных Т- и В-клетками, в ответ на
68 инфекцию, количественное определение этих молекул может дать ценную
69 диагностическую и прогностическую информацию о возможности развития
70 осложнений и критических состояний у пациента.

71 Цель настоящей работы: дать количественную оценку содержанию
72 молекул TREC и KREC в периферической крови больных с новой
73 коронавирусной инфекцией COVID-19 с разной тяжестью течения
74 инфекционного процесса.

75 Материалы и методы. В ходе работы был проанализирован 1028 образец
76 венозной крови, полученной от пациентов инфекционных отделений
77 стационаров Клинической больницы №122 им. Л.Г. Соколова и
78 Университетской клиники Первого Санкт-Петербургского государственного
79 медицинского университета им. акад. И.П. Павлова с подтвержденным
80 диагнозом COVID-19. Образцы крови были получены от больных,
81 инфицированных в период с мая 2021 года по март 2022 года. В работу брали
82 образцы крови пациентов, состояние которых характеризовалось как средне
83 тяжелое (n=747), тяжелое (n=204) или крайне тяжелое (n=77), где n –
84 количество человек в группе (Таблица 1).

85

86 Таблица 1. Группы пациентов, сформированные по возрасту и степени
87 тяжести течения заболевания

88 Table 1. Patient groups formed by age and severity of the disease

89

90 В качестве контрольных в работе использовали образцы цельной крови,
91 полученные от 717 условно здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 108 лет
92 в медицинском центре ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и
93 микробиологии имени Пастера» в рамках программы оценки популяционного
94 иммунитета жителей Санкт-Петербурга.

95 Критерием исключения из исследования являлось наличие у
96 обследуемых диагноза иммунодефицит любого генеза, ВИЧ-инфекция,
97 вирусные гепатиты.

98 Взятие крови осуществляли в пробирку с фиолетовой крышкой с
99 антикоагулянтом ЭДТА. В день взятия образцы транспортировали в
100 лабораторию молекулярной иммунологии НИИ эпидемиологии и
101 микробиологии имени Пастера с соблюдением температурного режима +4 - +8
102 °С. Сразу после транспортировки осуществляли экстракцию тотальной ДНК
103 из 250 мкл лейкоцитарной фракции крови с использованием коммерческого
104 набора «РИБО-преп» (ЦНИИ эпидемиологии, Москва). После чего, для всех
105 образцов ДНК проводили мультиплексную Real-time ПЦР с одновременной
106 амплификацией двух целевых фрагментов ДНК TREC, KREC, и фрагментов
107 двух нормировочных генов HPRT и RPP30. Количественную оценку
108 содержания молекул TREC и KREC проводили с помощью метода построения
109 стандартных кривых с использованием тест-системы «TREC/KREC-AMP PS»
110 (ФБУН НИИ Пастера, Россия) [5]. При анализе результатов учитывали все
111 возможные ошибки на этапе подготовки образца тотальной ДНК, выделенной
112 из клеток крови [6, 7].

113 Для фенотипирования клеток периферической крови больных,
114 инфицированных COVID-19, использовали метод многоцветной проточной
115 цитометрии. Для выявления популяции Т- и В-лимфоцитов 200 мкл образцов
116 цельной крови окрашивали моноклональными антителами (МКА) меченными
117 флюорохромами CD45RA-FITC (Beckman Coulter, США), CD3-APC-AF750
118 (Beckman Coulter, США) и CD19-APC/Cy7 (BioLegend, США),
119 соответственно, согласно инструкциям производителей. Образцы крови
120 инкубировали с МКА при комнатной температуре в темноте в течение 10 мин,
121 после чего лизировали эритроциты в течение 15 мин в присутствии 2 мл
122 лизирующего раствора VersaLyse (Beckman Coulter, США) и 50 мкл
123 фиксирующего раствора IOTest 3 (Beckman Coulter, США). Затем клетки
124 дважды промывали (7 мин, 330 г) стерильным фосфатно-солевым буфером
125 (PBS), содержащим 2% фетальную бычью сыворотку (Sigma-Aldrich, США),
126 инактивированную нагреванием. После чего клетки ресуспендировали в 0,5 мл
127 PBS, содержащем 2% нейтральный забуференный раствор формалина (Sigma-
128 Aldrich, США). Для проведения исследования использовался проточный
129 цитометр Navios (Beckman Coulter, США), оснащенный лазерами с длиной
130 волны 405, 488, 638 нм. Для определения Т-лимфоцитов собирали не менее 20
131 000 событий. Для В-клеточного звена из каждого образца было собрано не
132 менее 5000 CD19+ В-клеток.

133 Фенотипирование лимфоцитов было проведено для образцов крови,
134 полученных от тяжелых и крайне тяжелых больных, наблюдавшихся в
135 инфекционном отделении Университетской клиники Первого Санкт-
136 Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.
137 Павлова.

138 Статистическую обработку данных проводили с помощью
139 программного обеспечения GraphPad Prizm 5 и Microsoft Excel 2010.
140 Нормальность распределения полученных числовых данных проверяли с

141 помощью двух критериев: Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка.
142 Корреляционный анализ проводили с расчетом коэффициента Спирмена,
143 значение которого оценивали по шкале Чеддока. Для сравнения независимых
144 выборок применяли критерии Манна-Уитни, Краскела-Уоллиса, тест Данна, а
145 также ROC-анализ с вычислением значения площади под ROC-кривой (AUC
146 – Area Under the Curve).

147 Результаты и обсуждение. Ранее была установлена отрицательная
148 корреляционная зависимость уровня молекул TREC в периферической крови
149 с возрастом у условно здоровых людей старше 18 лет. В контрольной выборке
150 было выделено шесть возрастных групп людей с интервалом в десять лет, для
151 которых показаны достоверные различия в количественном содержании
152 молекул TREC: 18-29 лет, 30-39 лет, 40-49 лет, 50-59 лет, 60-69 лет и лица
153 старше 70 лет. Было показано отсутствие корреляционной зависимости
154 молекул KREC с возрастом и установлены границы референсных интервалов
155 для уровней TREC и KREC [3].

156 Для всех возрастных групп кроме самой младшей (18-29 лет) уровень
157 молекул TREC у больных COVID-19 был достоверно снижен согласно U-
158 критерию Манна-Уитни ($p < 0,0001$ при 95% ДИ). Уровень молекул KREC у
159 больных также был достоверно снижен ($p < 0,0001$ при 95% ДИ).

160 На рисунках 1 и 2 показаны диаграммы сравнения медианных значений
161 параметров TREC и KREC между образцами, полученными от больных с
162 новой коронавирусной инфекцией, и контрольными образцами. В таблице 2
163 указаны значения медиан уровней TREC для всех описываемых выборок.

164 Рисунок 1. Сравнение уровней молекул TREC у больных COVID-19 и
165 контрольных групп: А) 18-29 лет, Б) 30-39 лет, В) 40-49 лет, Г) 50-59 лет; Д)
166 60-69 лет, Е) >70 лет. На диаграммах указаны медианные значения с
167 интерквартильным размахом

168 Figure 1. Comparison of TREC levels in COVID-19 patients and control
169 groups: A) 18-29 years old, B) 30-39 years old, C) 40-49 years old, D) 50-59 years
170 old; E) 60-69 years old, F) >70 years old. The graphs show median values with
171 interquartile range

172

173 Рисунок 2. Сравнение уровней молекул KREC у больных COVID-19 и
174 контрольной группы. На диаграмме представлены медианные значения с
175 интерквартильным размахом. Числами обозначены значения медиан, нижнего
176 (Q25) и верхнего квартилей (Q75)

177 Figure 2. Comparison of KREC levels in COVID-19 patients and controls.
178 The graph shows median values with interquartile range. The numbers indicate the
179 values of medians, lower (Q25) and upper quartiles (Q75)

180 Таблица 2. Значения медиан уровней TREC

181 Table 2. Median TREC levels

182 Установлена достоверная прямая корреляционная зависимость уровней
183 молекул TREC с количеством CD45+CD3+CD19- Т-клеток (коэффициент
184 корреляции Спирмена $r = 0,59$, $p < 0,0001$), а также уровней молекул KREC с
185 количеством CD45+CD3-CD19+ В-клеток в периферической крови ($r = 0,66$, p
186 $< 0,0001$). На рисунках 3 и 4 представлен корреляционный анализ уровней
187 эксцизионных колец и лимфоцитов соответствующего фенотипа.

188

189 Рисунок 3. Корреляция уровней молекул TREC с уровнем
190 CD45+CD3+CD19- лимфоцитов в крови тяжелых и крайне тяжелых больных
191 COVID-19. На диаграмме представлено уравнение аппроксимирующей
192 функции, коэффициент достоверности аппроксимации (R^2), корреляционный
193 коэффициент Спирмена (r) и критерий уровня значимости p -value

194 Figure 3. Correlation of the TREC levels with the CD45+CD3+CD19-
195 lymphocytes levels in the blood of severe and critical COVID-19 patients. The

196 diagram shows the equation of the approximating function, the approximation
197 reliability coefficient (R^2), the Spearman correlation coefficient (r) and the p-value
198 criterion

199

200 Рисунок 4. Корреляция уровней молекул KREC с уровнем CD45+CD3-
201 CD19+ лимфоцитов в крови тяжелых и крайне тяжелых больных COVID-19.
202 На диаграмме представлено уравнение аппроксимирующей функции,
203 коэффициент достоверности аппроксимации (R^2), корреляционный
204 коэффициент Спирмена (r) и критерий уровня значимости p-value

205 Figure 4. Correlation of the KREC levels with the CD45+CD3-CD19+
206 lymphocytes levels in the blood of severe and critical COVID-19 patients. The
207 diagram shows the equation of the approximating function, the approximation
208 reliability coefficient (R^2), the Spearman correlation coefficient (r) and the p-value
209 criterion

210 Корреляционные коэффициенты r , указанные на рисунках 3 и 4,
211 превышающие значение 0,5, свидетельствуют об умеренной положительной
212 связи сравниваемых параметров.

213 Самой многочисленной из выделенных групп пациентов являлась
214 группа с возрастом больных старше 70 лет. Из таблицы 1 видно, что чем выше
215 возраст пациентов, тем больше наблюдалось тяжелых и крайне тяжелых
216 случаев течения инфекции. Так в возрастной группе > 70 лет 14,6% всех
217 пациентов характеризовались крайне тяжелым состоянием. В то время как в
218 группе 18-29 лет крайне тяжелых случаев не наблюдалось совсем.

219 Среди пациентов старше 70 лет в тяжелом состоянии в 69,1% случаев
220 уровни молекул TREC/KREC были снижены относительно возрастной нормы.
221 В 16,4% случаев у таких пациентов были одновременно снижены TREC и
222 KREC. В группе крайне тяжелых больных старше 70 лет уровни TREC/KREC
223 находились ниже возрастной нормы у 71,4 % пациентов, одновременно

224 сниженные уровни TREC и KREC были установлены у 21,4 % больных
225 (Рисунок 5).

226

227 Рисунок 5. Распределение уровней молекул TREC и KREC у пациентов
228 старше 70 лет с инфекцией COVID-19: А) в тяжелом состоянии, Б) в крайне
229 тяжелом состоянии. Красные линии отделяют значения, находящиеся ниже
230 установленных норм TREC/KREC

231 Figure 5. Distribution of TREC and KREC levels in patients over 70 years of
232 age with COVID-19 infection: A) in severe condition, B) in critical condition. Red
233 lines separate values below the established TREC/KREC norms

234 Значения корреляционных коэффициентов Спирмена позволяют
235 утверждать, что пол пациента не влияет ни на степень тяжести болезни ($r = -$
236 $0,066$), ни на уровни молекул TREC ($r = -0,083$) и KREC ($r = 0,026$) в
237 периферической крови.

238 Присутствует достоверная слабая отрицательная корреляционная
239 зависимость между тяжестью течения заболевания и уровнями молекул TREC
240 в образцах крови пациентов ($r=-0,153$; $p=0,000002$). Однако модуль
241 коэффициента корреляции принимает значение близкое к 0,1 что позволяет
242 говорить лишь об очень слабой взаимосвязи. При этом достоверной
243 зависимости значений анализа KREC от тяжести течения инфекции не
244 выявлено.

245 На рисунках 6, 7 и 8 изображены доли пациентов с уровнями молекул
246 TREC, KREC и одновременно TREC и KREC, соответственно, ниже нормы у
247 групп больных с разной степенью тяжести инфекционного процесса. На
248 рисунке 9 отображены доли пациентов разных по тяжести инфекции COVID-
249 19, у которых хотя бы один целевой анализ был снижен.

250

251

252 Рисунок 6. Доли пациентов с разной степенью тяжести течения
253 инфекционного процесса COVID-19 со сниженными уровнями TREC

254 Figure 6. Proportions of patients with different degrees of COVID-19 severity
255 who have reduced levels of TREC

256

257

258 Рисунок 7. Доли пациентов с разной степенью тяжести течения
259 инфекционного процесса COVID-19 со сниженными уровнями KREC

260 Figure 7. Proportions of patients with different degrees of COVID-19 severity
261 who have reduced levels of KREC

262

263

264 Рисунок 8. Доли пациентов с разной степенью тяжести течения
265 инфекционного процесса COVID-19 с сочетанным снижением уровней TREC
266 и KREC

267 Figure 8. Proportions of patients with different degrees of COVID-19 severity
268 who have combined decrease in TREC and KREC levels

269

270

271 Рисунок 9. Доли пациентов с разной степенью тяжести течения
272 инфекционного процесса COVID-19, у которых снижен хотя бы один целевой
273 анализ.

274 Figure 9. The proportions of patients with different degrees of COVID-19
275 severity who have decreased at least one target analyte

276 Сравнение медиан числовых значений параметров TREC и KREC в
277 пределах каждой возрастной группы между выборками пациентов разных по
278 степени тяжести течения инфекционного процесса с применением критерия
279 Краскела-Уоллиса и теста Данна позволило установить, что уровень молекул

280 TREC в группе пациентов 30-39 лет у больных с тяжелым течением
281 инфекционного процесса достоверно ниже по сравнению с больными средней
282 тяжести ($p=0,0404$). Аналогично для возрастной группы 40-49 лет: уровень
283 TREC у больных с тяжелым течением болезни достоверно ниже по сравнению
284 с пациентами средней тяжести ($p=0,0356$). Однако, в возрастных группах 50-
285 59 лет, 60-69 лет и более 70 лет достоверных различий в значениях TREC
286 между пациентами с разной степенью тяжести инфекционного процесса не
287 выявлено.

288 На рисунке 10 приведены ROC-кривые, полученные при сравнении
289 значений TREC между выборками средне тяжелых и тяжелых больных внутри
290 возрастных групп 30-39 лет ($AUC = 0,69$), 40-49 лет ($AUC = 0,63$), 50-59 лет
291 ($AUC = 0,54$).

292

293 Рисунок 10. ROC-кривые, полученные при сравнении значений TREC
294 между выборками пациентов со среднетяжелым и тяжелым состоянием А)
295 возрастной группы 30-39 лет; Б) возрастной группы 40-49 лет; В) возрастной
296 группы 50-59 лет (достоверных различий нет)

297

298 Figure 10. ROC curves obtained by comparing TREC levels between samples
299 of patients with moderate and severe condition А) age group 30-39 years; В) age
300 group 40-49 years; С) age group 50-59 years (no significant differences)

301

302 При сравнении выборок средне тяжелых и тяжелых пациентов 30-39 лет
303 площадь под ROC-кривой равнялась 0,69. Пороговое значение TREC в точке
304 cut-off составило 22,07 копий/105клеток. Развитие критических состояний
305 прогнозировалось при значении TREC ниже данной величины или равной ей.
306 Чувствительность и специфичность модели составили 81,63 % и 45,45 %
307 соответственно.

308 При сравнении средне тяжелых и тяжелых пациентов 40-49 лет площадь
309 под ROC-кривой равнялась 0,63. Пороговое значение TREC в точке cut-off -
310 17,67 копий/105клеток. Чувствительность и специфичность модели - 65,85% и
311 57,69% соответственно.

312 Полученные результаты соотносятся с литературными данными о
313 снижении абсолютного числа лимфоцитов в подавляющем большинстве
314 случаев в крови больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 с
315 тяжелыми формами проявления [4, 11, 24, 26]. В некоторых проведенных
316 ранее исследованиях сообщается, что рецептор АПФ-2 экспрессируется в том
317 числе на мембранах гемопоэтических стволовых клеток и на небольшой доле
318 лимфоцитов (<5,0%) [31]. Нарушения лимфопоэза могут быть связаны с
319 прямым поражением вирусом SARS-CoV-2 клеток-предшественников
320 лимфоцитов в костном мозге или тимусе до инициации процессов
321 антигеннезависимой дифференцировки и формирования молекул
322 TREC/KREC, что приводит к детекции их сниженных уровней. Кроме того,
323 описаны АПФ-независимые пути негативного воздействия вируса SARS-CoV-
324 2 на лимфоцитарные функции. Например, повышенная экспрессия хемокинов
325 CXCL10/IP-10 и CCL2/MCP-1, зафиксированная в мононуклеарах
326 периферической крови больных, способна подавлять развитие
327 гемопоэтических клеток-предшественников [17, 25, 31]. Описано подавление
328 лимфопоэза посредством прямого воздействия молекул IL-6 на
329 гемопоэтические стволовые клетки/клетки-предшественники, установлена
330 прямая зависимость между количеством IL-6 и тяжестью заболевания [9, 13,
331 17, 30].

332 Выявленная нами отрицательная корреляционная зависимость между
333 тяжестью клинических проявлений инфекции COVID-19 и уровнем молекул
334 TREC в крови пациентов в возрастном диапазоне 30-49 лет говорит о
335 возможности применения данного параметра как диагностического и

336 прогностического лабораторного показателя состояния пациента. Однако
337 применение такого лабораторного теста может быть ограничено возрастными
338 особенностями. Как известно, с увеличением возраста человека функция
339 тимуса истощается, обновление Т-лимфоцитов замедляется, следовательно,
340 количество циркулирующих молекул TREC в крови становится значительно
341 меньше. По-видимому, естественное угасание работы тимуса усугубляется
342 действием инфекционных процессов. В таких случаях не всегда есть
343 возможность установить разницу в содержании молекул TREC у здоровых
344 людей и инфицированных больных.

345 Что касается В-клеток, по некоторым данным содержание В-
346 лимфоцитов в крови у пациентов с тяжелой формой COVID-19 является
347 сниженным по сравнению с легкой или умеренной формой. Однако в других
348 работах значимых различий в количествах В-клеток крови между формами
349 проявления заболевания не установлено [17, 21].

350 Заключение и выводы. Количественный ПЦР-анализ молекул TREC и
351 KREC в крови больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19
352 позволяет дать оценку функциональной активности Т- и В-клеточного звена
353 иммунитета, и, как следствие, своевременно выявлять пациентов
354 нуждающихся в особом внимании, и применять превентивные меры,
355 способствующие снижению числа летальных исходов. Несложный алгоритм
356 ПЦР-анализа делает актуальным применение описанного способа оценки
357 состояния иммунитета коронавирусных больных в условиях стремительного
358 распространения вируса SARS-CoV-2, его системного негативного влияния на
359 организм и тяжестью возможных осложнений у пациентов.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Группы пациентов, сформированные по возрасту и степени тяжести течения заболевания.

Table 1. Patient groups formed by age and severity of the disease.

Степень тяжести Severity	Число пациентов n (%) в возрастных группах Number of patients n (%) in age groups					
	18-29 лет 18-29 years old	30-39 лет 30-39 years old	40-49 лет 40-49 years old	50-59 лет 50-59 years old	60-69 лет 60-69 years old	>70 лет over 70 years old
Средней Тяжести Moderate	27 (96,4)	98 (88,3)	123 (75,9)	149 (76,4)	159 (65,2)	191 (66,3)
Тяжелые Severe	1 (3,6)	12 (10,8)	33 (20,4)	34 (17,4)	69 (28,3)	55 (19,1)
Крайне тяжелые Critical	0	1 (0,9)	6 (3,7)	12 (6,2)	16 (6,5)	42 (14,6)
Всего Total	28	111	162	195	244	288
Общее число пациентов: 1028 Total number of patients: 1028						

Таблица 2. Значения медиан уровней TREC.**Table 2.** Median TREC levels.

Группы сравнения Comparison groups		Количество добровольцев (n) Number of volunteers (n)	TREC Медиана (Q25; Q75) TREC Median (Q25; Q75)	P-value, полученные при сравнении групп с применением критерия Манна-Уитни P-values obtained compared by using the Mann-Whitney U-test
18-29 лет 18-29 years old	Контроль Control	120	553,3 (372,0; 854,5)	0,2283
	COVID-19	28	369,7 (173,0; 1293,0)	
30-39 лет 30-39 years old	Контроль Control	118	248,9 (113,5; 595,0)	<0,0001
	COVID-19	111	110,8 (27,9; 283,8)	
40-49 лет 40-49 years old	Контроль Control	132	191,3 (72,1; 391,4)	<0,0001
	COVID-19	162	38,0 (2,4; 127,5)	
50-59 лет 50-59 years old	Контроль Control	135	131,1 (56,3; 283,2)	<0,0001
	COVID-19	195	34,6 (0,3; 104,8)	
60-69 лет 60-69 years old	Контроль Control	111	74,9 (31,5; 153,2)	<0,0001
	COVID-19	244	10,8 (0,0; 76,8)	
>70 лет	Контроль Control	101	44,7 (23,4; 146,3)	<0,0001

over 70 years old	COVID- 19	288	2,2 (0,0; 24,8)	
----------------------	--------------	-----	-----------------	--

РИСУНКИ

Рисунок 1. Сравнение уровней молекул TREC у больных COVID-19 и контрольных групп: А) 18-29 лет, Б) 30-39 лет, В) 40-49 лет, Г) 50-59 лет; Д) 60-69 лет, Е) >70 лет. На диаграммах указаны медианные значения с интерквартильным размахом.

Figure 1. Comparison of TREC levels in COVID-19 patients and control groups: A) 18-29 years old, B) 30-39 years old, C) 40-49 years old, D) 50-59 years old; E) 60-69 years old, F) >70 years old. The graphs show median values with interquartile range.

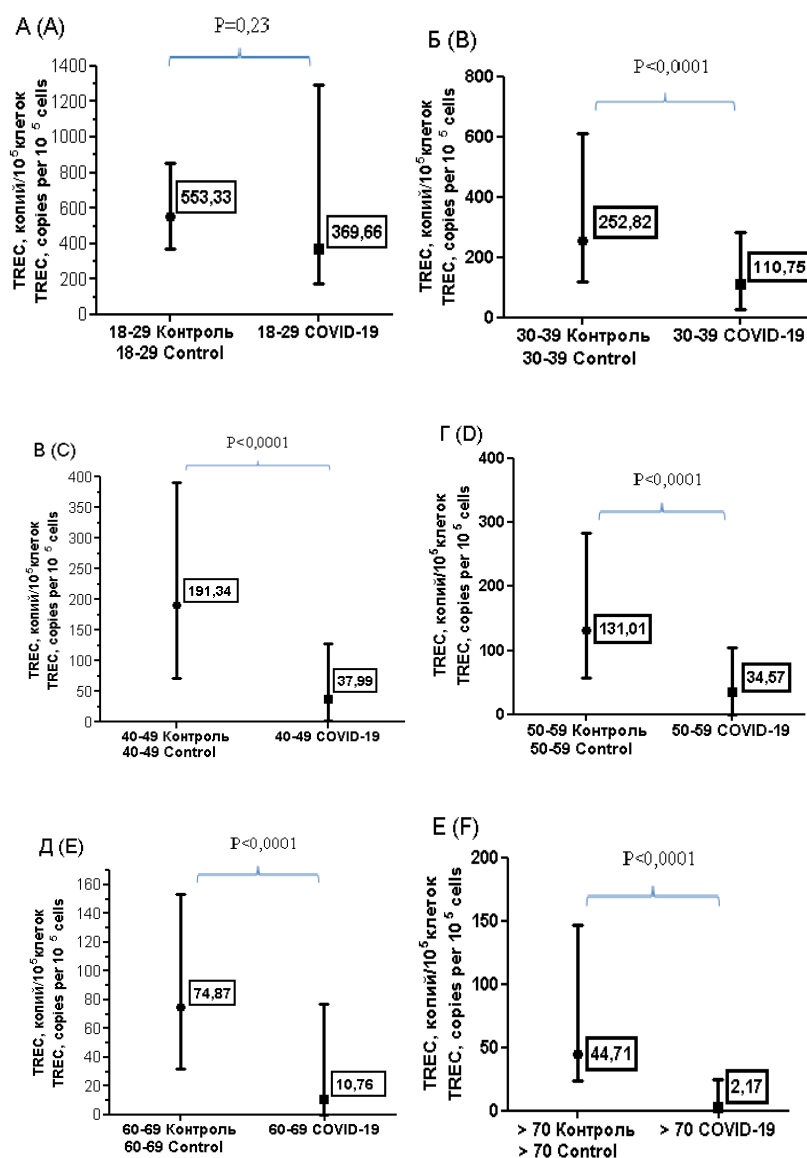


Рисунок 2. Сравнение уровней молекул KREC у больных COVID-19 и контрольной группы. На диаграмме представлены медианные значения с интерквартильным размахом. Числами обозначены значения медиан, нижнего (Q25) и верхнего квартилей (Q75).

Figure 2. Comparison of KREC levels in COVID-19 patients and controls. The graph shows median values with interquartile range. The numbers indicate the values of medians, lower (Q25) and upper quartiles (Q75).

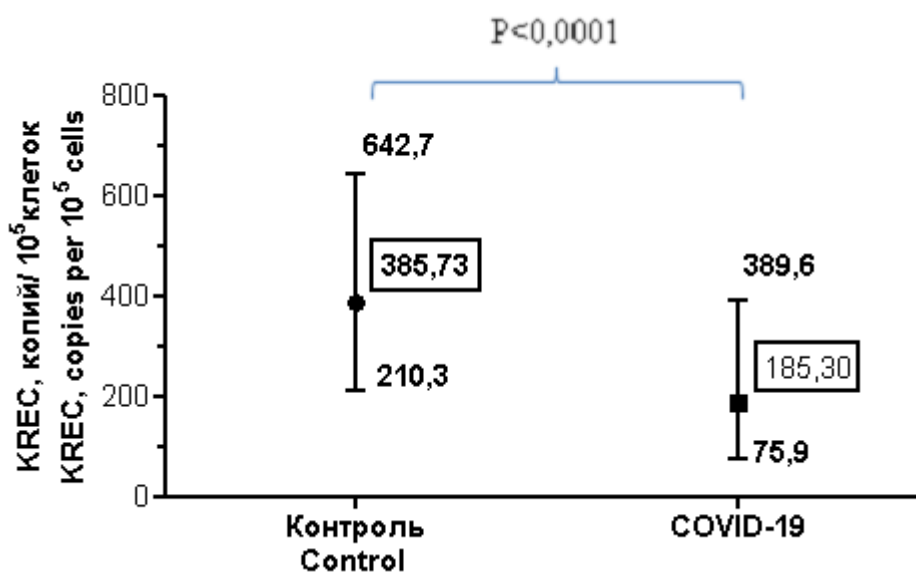


Рисунок 3. Корреляция уровней молекул TREC с уровнем CD45+CD3+CD19-лимфоцитов в крови тяжелых и крайне тяжелых больных COVID-19. На диаграмме представлено уравнение аппроксимирующей функции, коэффициент достоверности аппроксимации (R^2), корреляционный коэффициент Спирмена (r) и критерий уровня значимости p-value.

Figure 3. A correlation between peripheral blood TREC and CD45+CD3+CD19-lymphocyte levels in severe and critical COVID-19 patients. The diagram shows the equation for approximating function, approximation reliability coefficient (R^2), Spearman correlation coefficient (r) and p-value criterion.

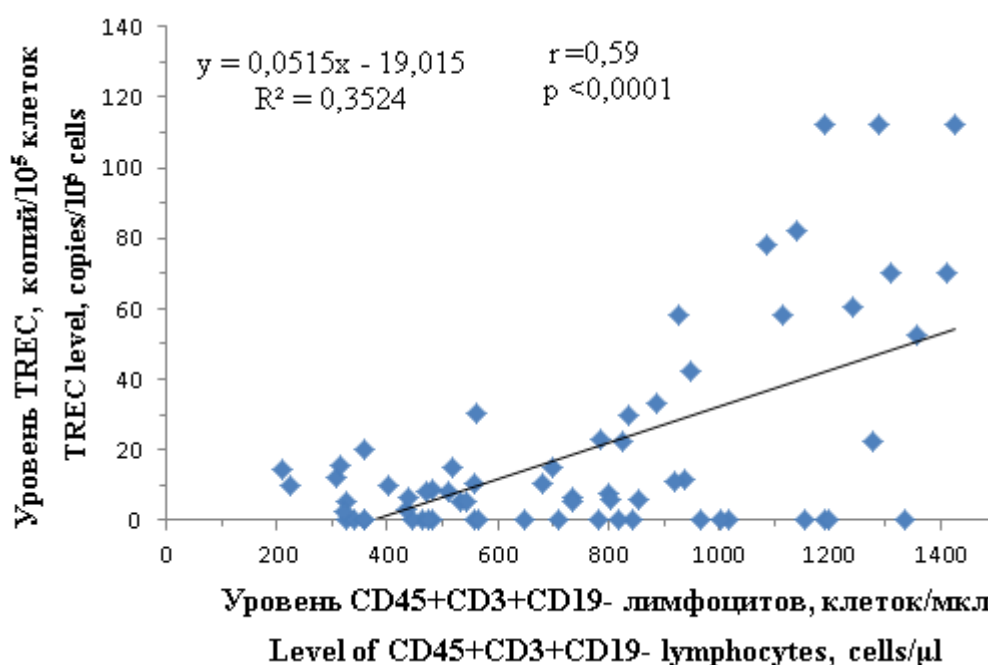


Рисунок 4. Корреляция уровней молекул KREC с уровнем CD45+CD3-CD19+ лимфоцитов в крови тяжелых и крайне тяжелых больных COVID-19. На диаграмме представлено уравнение аппроксимирующей функции, коэффициент достоверности аппроксимации (R^2), корреляционный коэффициент Спирмена (r) и критерий уровня значимости p-value.

Figure 4. A correlation between KREC and CD45+CD3-CD19+ lymphocytes levels in the blood of severe and critical COVID-19 patients. The diagram shows the equation of approximating function, approximation reliability coefficient (R^2), Spearman correlation coefficient (r) and p-value criterion.

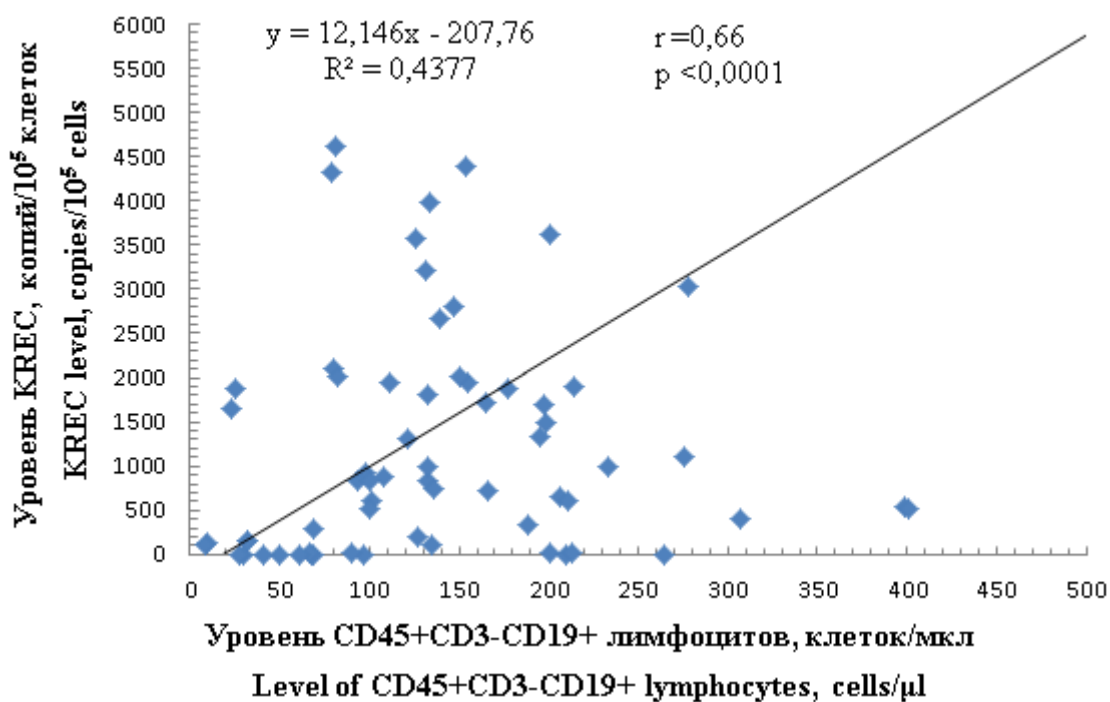


Рисунок 5. Распределение уровней молекул TREC и KREC у пациентов старше 70 лет с инфекцией COVID-19: А) в тяжелом состоянии, Б) в крайне тяжелом состоянии. Красные линии отделяют значения, находящиеся ниже установленных норм TREC/KREC.

Figure 5. Distribution of TREC and KREC levels in COVID-19 patients over 70 years of age: A) severe condition, B) critical condition. Red lines separate values below the established TREC/KREC norms.

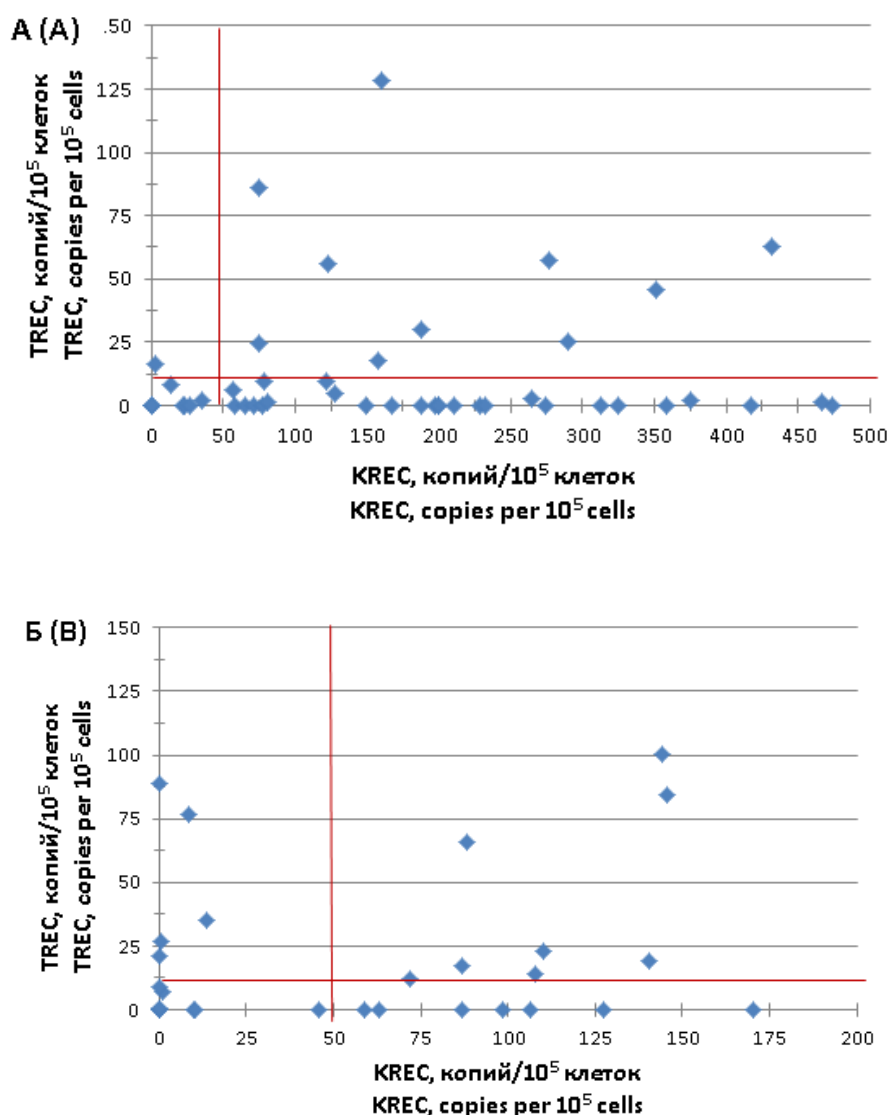


Рисунок 6. Доли пациентов с разной степенью тяжести течения инфекционного процесса COVID-19 со сниженными уровнями TREC.

Figure 6. Proportion of patients with varying COVID-19 severity and reduced TREC levels.

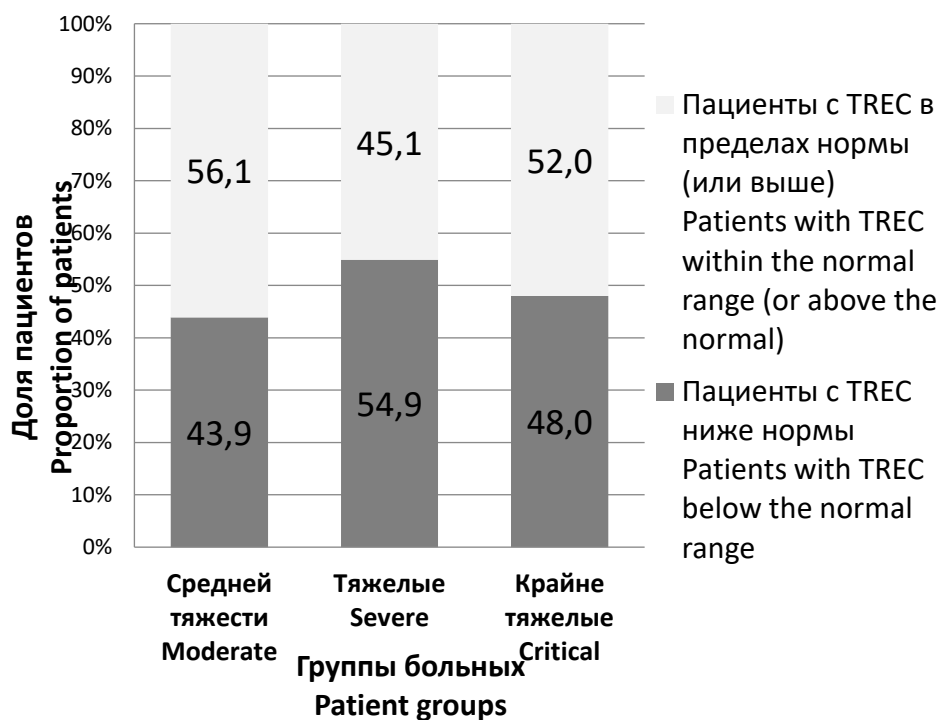


Рисунок 7. Доли пациентов с разной степенью тяжести течения инфекционного процесса COVID-19 со сниженными уровнями KREC.

Figure 7. Proportion of patients with varying COVID-19 severity and reduced KREC levels.

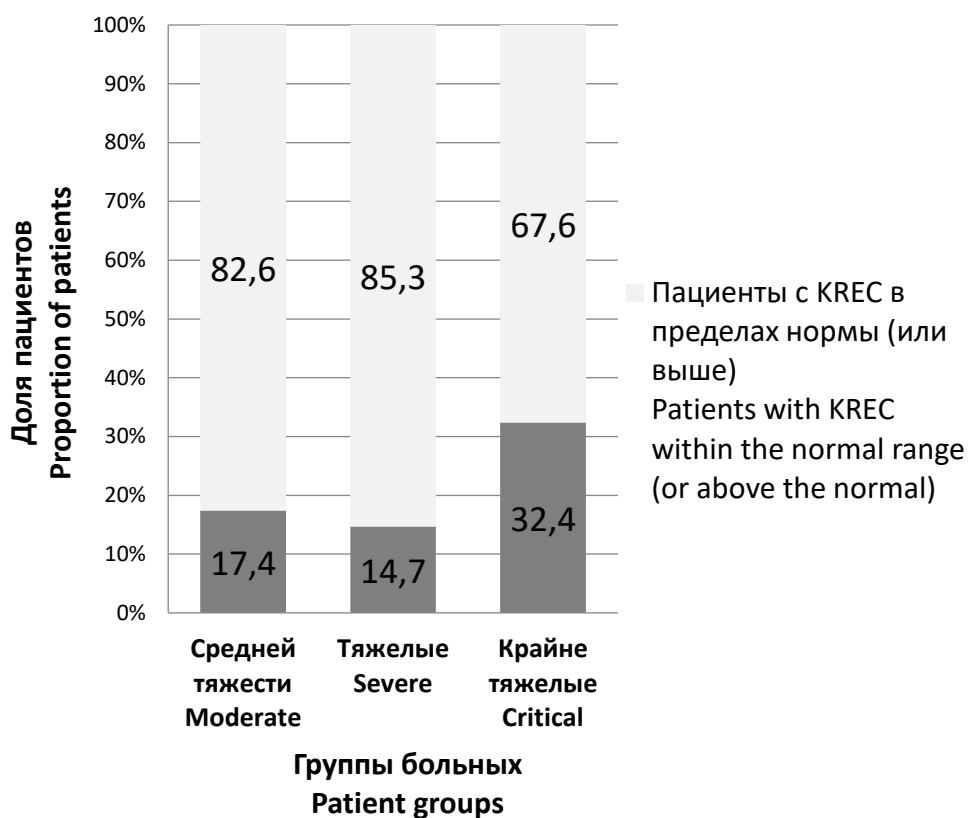


Рисунок 8. Доли пациентов с разной степенью тяжести течения инфекционного процесса COVID-19 с сочетанным снижением уровней TREC и KREC.

Figure 8. Proportion of patients with varying COVID-19 severity and combined TREC / KREC decreased levels.

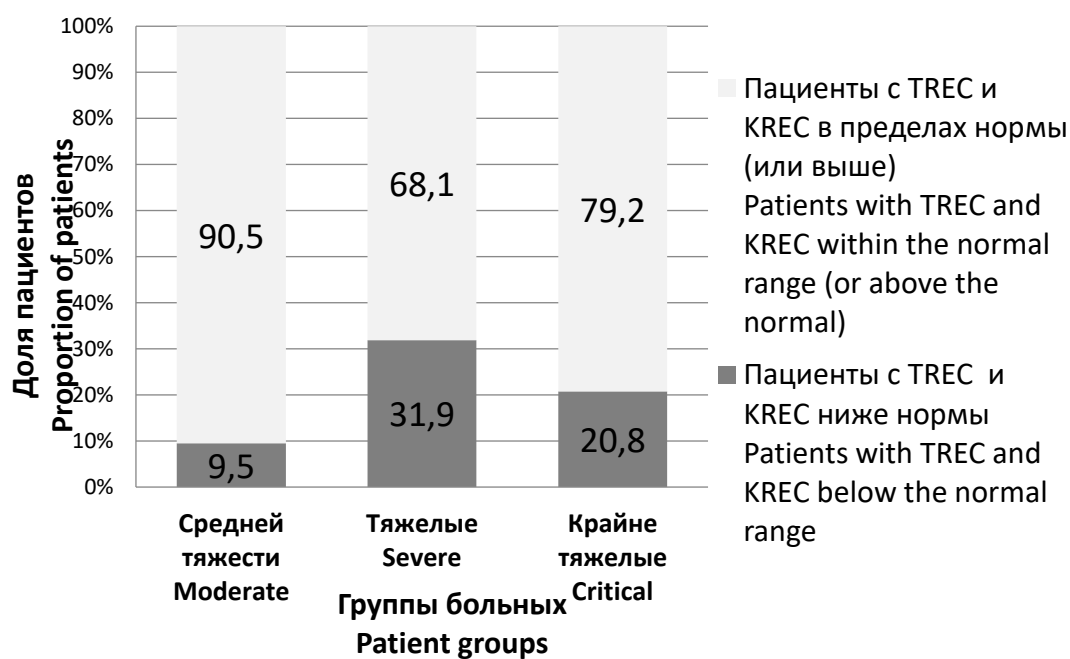


Рисунок 9. Доли пациентов с разной степенью тяжести течения инфекционного процесса COVID-19, у которых снижен хотя бы один целевой анализит.

Figure 9. The proportion of patients with varying COVID-19 severity and decreased at least one target analyte.

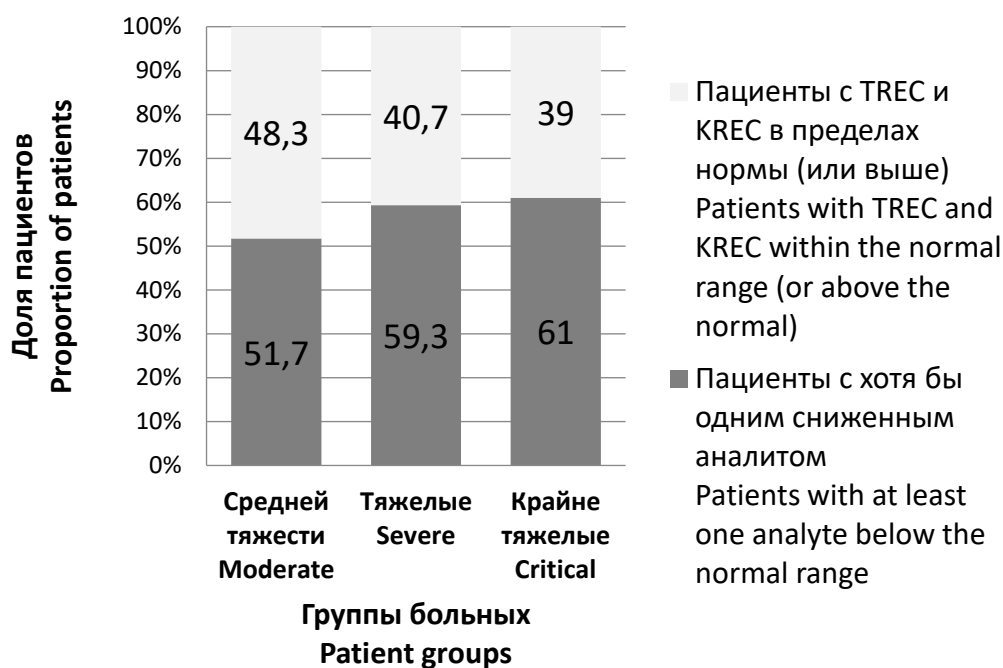
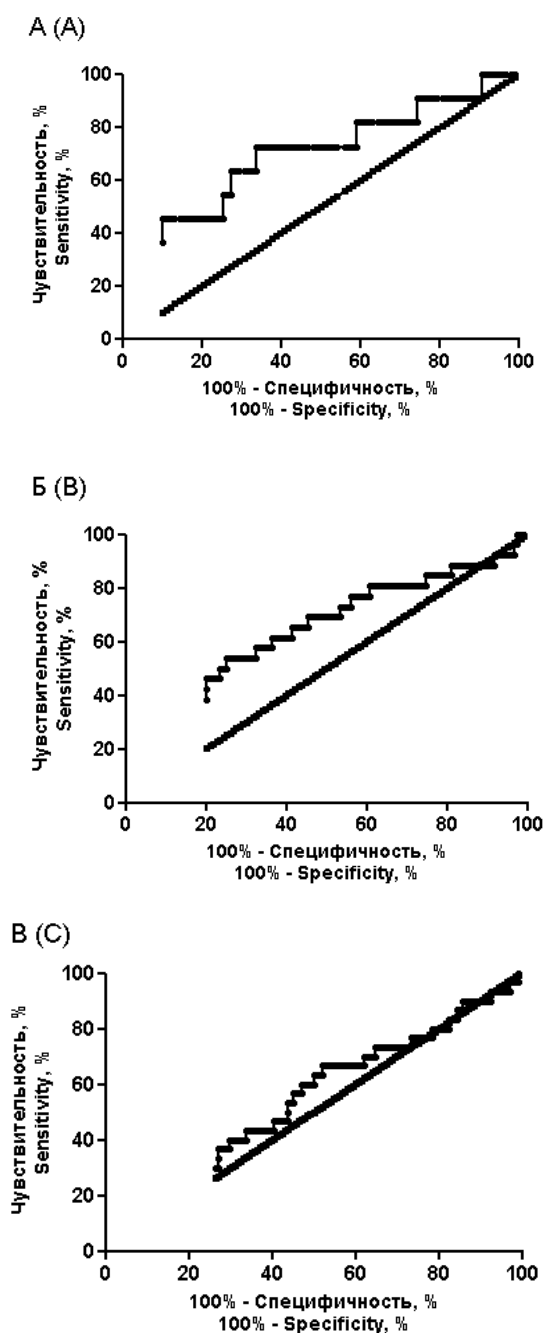


Рисунок 10. ROC-кривые, полученные при сравнении значений TREC между выборками пациентов со среднетяжелым и тяжелым состоянием А) возрастной группы 30-39 лет; Б) возрастной группы 40-49 лет; В) возрастной группы 50-59 лет (достоверных различий нет).

Figure 10. ROC curves obtained by comparing TREC levels between patients with moderate and severe condition А) 30-39-year-old age group; В) 40-49-year-old age group; С) 50-59-year-old age group (no significant differences).



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ**Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку**

Сайтгалина Мария Александровна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека;

индекс: 197101;

телефон: 8(812)233-20-92/8(981)834-66-32;

ORCID iD: [0000-0002-7603-3269](https://orcid.org/0000-0002-7603-3269);

e-mail: Sajgalinam@mail.ru

Saitgalina M. A. – Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Immunology St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

index: 197101;

telephone: 8(812)233-20-92/8(981)834-66-32;

ORCID iD: [0000-0002-7603-3269](https://orcid.org/0000-0002-7603-3269);

e-mail: Sajgalinam@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Останкова Юлия Владимировна – к. б. н., заведующая лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека;

индекс: 197101;

телефон: 8-921-353-81-73;

ORCID iD: [0000-0003-2270-8897](https://orcid.org/0000-0003-2270-8897);

e-mail: shenna1@yandex.ru

Ostankova Yu. V. – PhD (Biology), Head of the Laboratory of Immunology and Virology HIV, Senior Researcher at the Laboratory of Molecular Immunology St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

index: 197101;

telephone: 8-921-353-81-73;

ORCID iD: [0000-0003-2270-8897](https://orcid.org/0000-0003-2270-8897);

e-mail: shenna1@yandex.ru

Арсентьева Наталья Александровна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека;

индекс: 197101;

телефон: 8(904)646-57-58;

ORCID iD: [0000-0003-2490-308X](https://orcid.org/0000-0003-2490-308X);

e-mail: arsentieva_n.a@bk.ru

Arsentieva N. A. – PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

index: 197101;

telephone: 8(904)646-57-58;

ORCID iD: [0000-0003-2490-308X](https://orcid.org/0000-0003-2490-308X);

e-mail: arsentieva_n.a@bk.ru

Коробова Зоя Романовна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека;

индекс: 197101;

телефон: +7-921-400-26-83;

ORCID iD: [0000-0003-0535-5014](https://orcid.org/0000-0003-0535-5014);

e-mail: zoia-korobova@yandex.ru

Korobova Z. R. – junior researcher Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

index: 197101;

telephone: +7-921-400-26-83;

ORCID iD: [0000-0003-0535-5014](https://orcid.org/0000-0003-0535-5014);

e-mail: zoia-korobova@yandex.ru

Любимова Наталья Евгеньевна – к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека;

индекс:197101;

ORCID iD: [0009-0003-7092-6773](https://orcid.org/0009-0003-7092-6773)

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

index:197101;

ORCID iD: [0009-0003-7092-6773](https://orcid.org/0009-0003-7092-6773)

Кашченко Виктор Анатольевич – д.м.н., профессор, заместитель генерального директора по научно-образовательной работе СЗОНКЦ им. Л.Г. Соколова ФМБА России, заведующий кафедрой факультетской хирургии ФГБОУ ВПО СПбГУ;

индекс: 194291;

ORCID ID: 0000-0001-8822-9165;

e-mail: surg122@yandex.ru

Kashchenko V. A. – MD, PhD, professor, head of scientific department of The Federal State Budgetary Institution «North-Western District Scientific and Clinical

Center Named after L.G. Sokolov» Federal Medical and Biological Agency, head of faculty surgery department at Saint-Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation;

index: 194291;

ORCID ID: 0000-0001-8822-9165;

e-mail: surg122@yandex.ru

Куликов Александр Николаевич – д. м. н., профессор ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»;

индекс: 197022;

e-mail: ankulikov2005@yandex.ru

Kulikov A. N. – MD, D.M.Sc., Professor at First St. Petersburg State Medical University named after Academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation;

index: 197022;

e-mail: ankulikov2005@yandex.ru

Певцов Дмитрий Эдуардович – к.м.н., врач-трансфузиолог ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»;

индекс: 197022;

e-mail: dmitriipevtcov@gmail.com

Pevtsov D. E. – MD, PhD, blood transfusion specialist at Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, St. Petersburg, Russian Federation.

index: 197022;

e-mail: dmitriipevtcov@gmail.com

Станевич Оксана Владимировна – врач-инфекционист отдела эпидемиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный

медицинский университет имени академика И.П. Павлова», аспирант ФГБУ «НИИ им. А.А. Смородинцева»;

индекс: 197022;

ORCID ID: 0000-0002-6894-6121;

e-mail: oksana.stanevich@gmail.com

Stanevich O. V. – MD at Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, PhD student Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

index: 197022;

ORCID ID: 0000-0002-6894-6121;

e-mail: oksana.stanevich@gmail.com

Черных Екатерина Ивановна – д. м. н., врач-терапевт приемного отделения ФГБУ «Северо-Западный окружной научно-клинический центр имени Л. Г. Соколова Федерального медико-биологического агентства»;

индекс: 194291;

e-mail: ekaterina_cherny@mail.ru

Chernykh E. I. – MD, PhD at the Federal State Budgetary Institution «North-Western District Scientific and Clinical Center Named after L.G. Sokolov Federal Medical and Biological Agency», St. Petersburg, Russian Federation;

index: 194291;

e-mail: ekaterina_cherny@mail.ru

Тотолян Арег Артемович – Академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, заведующий кафедрой иммунологии Первого Санкт-Петербургского медицинского университета имени академика И.П. Павлова;

индекс: 197101;

телефон: 8(812) 232-00-66;

ORCID iD: [0000-0003-4571-8799](https://orcid.org/0000-0003-4571-8799);

e-mail: totolian@pasteurorg.ru

Totolian Areg A. – Academician of the Russian Academy of Sciences, PhD, MD (Medicine), Professor, Head at the Laboratory of Molecular Immunology, Director of the St. Petersburg Pasteur Institute; head Department of Immunology, First St. Petersburg State Medical University named after Academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation;

index: 197101;

телефон: 8(812) 232-00-66;

ORCID iD: [0000-0003-4571-8799](https://orcid.org/0000-0003-4571-8799);

e-mail: totolian@pasteurorg.ru

Блок 3. Метаданные статьи

ОЦЕНКА УРОВНЕЙ МОЛЕКУЛ TREC И KREC У БОЛЬНЫХ COVID-19 С
РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

ASSESSMENT OF TREC AND KREC LEVELS IN COVID-19 PATIENTS WITH
DIFFERENT DEGREES OF DISEASE SEVERITY

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

УРОВНИ TREC/KREC ПРИ COVID-19

TREC/KREC LEVELS IN COVID-19

Ключевые слова: TREC, KREC, COVID-19, SARS-CoV-2, иммунный статус, лабораторные маркеры.

Keywords: TREC, KREC, COVID-19, SARS-CoV-2, immune status, laboratory markers.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 26, количество таблиц – 2, количество рисунков – 10.

05.10.2023

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

По ря дк ов ый но ме р сс ыл ки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1	Арсентьева Н.А., Любимова Н.Е., Бацунов О.К., Коробова З.Р., Станевич О.В., Лебедева А.А., <u>Воробьев Е. А.</u> , <u>Воробьева С. В.</u> , <u>Куликов А. Н.</u> , <u>Лиознов Д. А.</u> , <u>Шарапова М. А.</u> , <u>Певцов Д. Э.</u> , <u>Тотолян А. А.</u> Цитокины в плазме крови больных COVID-19 в острой фазе заболевания	Arsentieva N.A., Liubimova N.E., Batsunov O.K., Korobova Z.R., Stanevich O.V., Lebedeva A.A., Vorobyov E.A., Vorobyova S.V., Kulikov A.N., Lioznov D.A., Sharapova M.A., Pevtcov D.E., Totolian A.A. Plasma cytokines in patients with COVID-19 during acute phase of the disease and following complete recovery. <i>Meditinskaya immunologiya</i> , 2021, vol. 23, no. 2, pp. 311–326.	doi: 10.15789/1563-0625-PCI-2312

	и фазе полного выздоровления // Медицинская иммунология. 2021. Т. 23, № 2. С. 311–326.		
2	Кудрявцев И.В., Головкин А.С., Тотолян Арег А. Т-хелперы и их клетки-мишени при COVID-19 // Инфекция и иммунитет. Т. 12, № 3. С. 409–426.	Kudryavtsev I.V., Golovkin A.S., Totolian Areg A. T helper cell subsets and related target cells in acute COVID-19. Russian Journal of Infection and Immunity, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 409–426.	doi: 10.15789/2220-7619-THC-1882022.
3	Сайтгалина М.А., Любимова Н.Е., Останкова Ю.В., Кузнецова Р.Н., Тотолян Арег А. Определение референтных интервалов циркулирующих в крови эксцизионных колец TREC и KREC у лиц старше 18 лет // Медицинская иммунология. 2022. Т. 24, № 6. С. 1227-1236.	Saitgalina M.A., Liubimova N.E., Ostankova Yu.V., Kuznetzova R.N., Totolian A.A. Determination of reference values for TREC and KREC in circulating blood of the persons over 18 years. Medical Immunology, 2022, vol 24, no 6, pp. 1227-1236.	doi: 10.15789/1563-0625-DOR-2587

4	<p>Сайтгалина М.А., Останкова Ю.В., Арсентьева Н.А., Коробова З.Р., Любимова Н.Е., Кащенко В.А., Куликов А.Н., Певцов Д.Э., Станевич О.В., Черных Е.И., Тотолян А.А. Значимость определения уровней молекул TREC и KREC в периферической крови для прогноза исхода заболевания COVID-19 в острый период. Российский иммунологический журнал. 2023, Т. 26, № 4. С. 611-618.</p>	<p>Saitgalina M.A., Ostankova Y.V., Arsentieva N.A., Korobova Z.R., Lyubimova N.E., Kashchenko V.A. Kulikov A.N., Pevtsov D.E., Stanevich O.V., Chernykh E.I., Totolian A.A. Levels of TREC and KREC molecules significance determining in peripheral blood for predicting the outcome of COVID-19 disease in the acute period. Russian Journal of Immunology, 2023, Vol. 26, no 4, pp. 611-618.</p>	<p>https://doi.org/10.46235/1028-7221-14714-LOT</p>
5	<p>Сайтгалина М.А., Останкова Ю.В., Любимова Н.Е., Семенов А.В., Кузнецова Р.Н., Тотолян А.А. Модифицированный метод количественного</p>	<p>Saitgalina M.A., Ostankova Y.V., Liubimova N.E., Semenov A.V., Kuznetsova R.N., Totolian A.A. Modified quantitative approach for assessing peripheral blood TREC and KREC levels in immunodeficient patients. Russian Journal of Infection and Immunity, 2022, Vol. 12, no 5, no. 981-996.</p>	<p>Doi: 10.15789/2220-7619-MMF-2039</p>

	определения уровней TREC и KREC в периферической крови у больных с иммунодефицитными состояниями // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12., №5. С. 981-996.		
6	Сайтгалина М.А., Останкова Ю. В., Седых А.В., Тотолян Арег А. Особенности преаналитического этапа при количественном определении TREC/KREC в периферической крови. Медицинская иммунология. 2023.	Saitgalina M.A., Ostankova Yu.V., Sedykh A.V., Totolian Areg A. Features of the preanalytical stage in the quantitative determination of TREC/KREC in peripheral blood. Medical immunology. 2023.	https://doi.org/10.15789/1563-0625-FOT-2909
7	Седых А.В., Сайтгалина М.А., Останкова Ю. В., Тотолян Арег А. Сравнительный анализ наборов реагентов для выделения ДНК из сухих пятен крови.	Sedykh A.V., Saitgalina M.A., Ostankova Yu.V., Totolian Areg A. Comparative analysis of reagent kits for DNA extraction from dried blood spots. Medical immunology. 2023.	https://doi.org/10.15789/1563-0625-CAO-2895

	Медицинская иммунология. 2023.		
8	Bakin E.A., Stanevich O.V., Chmelevsky M.P., Belash V.A., Belash A.A., Savateeva G.A., Bokinova V.A., Arsentieva N.A., Sayenko L.F., Korobekov E.A., Lioznov D.A., Totolian A.A., Polushin Yu.S., Kulikov A.N. A Novel Approach for COVID-19 Patient Condition Tracking: From Instant Prediction to Regular Monitoring. Front Med (Lausanne). 2021, vol. 8, p. 744652.		doi: 10.3389/fmed.2021.744652.
9	Chen R., Yu Y., Li W., Liu Y., Lu J., Chen F., Zhou Q., Xia Zh., Gao L., Meng Q., Ma D. Gastrointestinal symptoms associated with unfavorable prognosis of COVID-19 patients: a retrospective study.		https://doi.org/10.3389/fmed.2020.60825 <u>9</u>

	Frontiers in Medicine, 2020, vol. 7, p. 608259.		
10	Cheung C.Y., Poon L.L., Ng I.H., Luk W., Sia S.F., Wu M.H., Chan K.H., Yuen K.Y., Gordon S., Guan Y., Peiris J.S. Cytokine responses in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected macrophages in vitro: possible relevance to pathogenesis. J Virol., 2005, vol. 79, pp. 7819-7826.		doi: 10.1128/JVI.79.12.7819-7826.2005.
11	Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.Q., He J.X. China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. N Engl J Med, 2020, vol. 382, no.18, pp.1708-1720.		DOI: 10.1056/NEJMoa2002032

12	Guarneri C., Venanzi R.E., Gallizzi R., Ceccarelli M., Cannavò S.P., Nunnari G. Diversity of clinical appearance of cutaneous manifestations in the course of COVID-19. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2020, vol. 34, no. 9, pp. 449-450		doi: 10.1111/jdv.16669
13	Gubernatorova E.O., Gorshkova E.A., Polinova A.I., Drutskaya.M.S. IL-6: Relevance for immunopathology of SARS-CoV-2. Cytokine Growth Factor Rev., 2020, vol. 53, pp. 13-24.		doi: 10.1016/j.cytogfr.2020.05.009.
14	Habas K., Nganwuchu C., Shahzad F., Gopalan R., Haque M., Rahman S., Majumder A.A., Nasim T. Resolution of coronavirus disease 2019 (COVID-19). Expert Rev Anti Infect		DOI: <u>10.1080/14787210.2020.1797487</u>

	Ther., 2020, vol. 18, no. 12, pp. 1201-1211.		
15	Hu B., Huang S., Yin L. The cytokine storm and COVID-19. J Med Virol., 2021, vol. 93, no. 1, pp. 250-256.		DOI: 10.1002/jmv.26232
16	Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X., Cheng Z., Yu T., Xia J., Wei Y., Wu W., Xie X., Yin W., Li H., Liu M., Xiao Y., Gao H., Guo L., Xie J., Wang G., Jiang R., Gao Z., Jin Q., Wang J., Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. The lancet., 2020, vol. 395, № 10223, pp. 497-506.		DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
17	Jafarzadeh A., Jafarzadeh S., Nozari P., Mokhtari P., Nemati M. Lymphopenia an important		doi: 10.1111/sji.12967.

	immunological abnormality in patients with COVID-19: Possible mechanisms. Scand J Immunol, 2021, vol. 93, no. 2, pp. 12967.		
18	Korobova Z.R., Zueva E.V., Arsentieva N.A., Batsunov O.K., Liubimova N.E., Khamitova I.V., Kuznetsova R.N., Rubinstein A.A., Savin T.V., Stanevich O.V., Kulikov A.N., Pevtsov D.E., Totolian A.A. Changes in Anti-SARS-CoV-2 IgG Subclasses over Time and in Association with Disease Severity. Viruses, 2022, vol. 14, no. 5, pp. 941.		doi: 10.3390/v14050941.
19	Kudryavtsev I.V., Arsentieva N.A., Batsunov O.K., Korobova Z.R., Khamitova I.V., Isakov D.V., Kuznetsova R.N.,		https://doi.org/10.3390/cimb44010014

	Rubinstein A.A., Stanevich O.V., Lebedeva A.A., Vorobyov E.A., Vorobyova S.V, Kulikov A.N., Sharapova M.A., Pevtcov D.E., Totolian A.A. Alterations in B Cell and Follicular T-Helper Cell Subsets in Patients with Acute COVID-19 and COVID-19 Convalescents. <i>Curr. Issues Mol. Biol.</i> , 2022, vol. 44, pp. 194–205.	
20	Li B., Yang J., Zhao F., Zhi L., Wang X., Liu L., Bi Z., Zhao Y. Prevalence and impact of cardiovascular metabolic diseases on COVID-19 in China. <i>Clin Res Cardiol</i> , 2020, vol. 109, pp. 531–38.	DOI: 10.1007/s00392-020-01626-9
21	Lin L., Lu L., Cao W., Li T. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review	DOI: 10.1080/22221751.2020.1746199

	of immune changes in patients with viral pneumonia. Emerg Microbes Infect. 2020, vol. 9, pp. 727-732.		
22	Mehta P., McAuley D.F., Brown M., Sanchez E., Tattersall R.S., Manson J.J. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. Lancet, 2020, vol. 395, pp. 1033-1034.		DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30628-0
23	Merad M., Martin J.C. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. Nat Rev Immunol, 2020, vol. 20, pp. 355-362.		DOI: 10.1038/s41577-020-0353-y
24	Pascarella G., Strumia A., Piliago C., Bruno F., Del Buono R, Costa F., Scarlata S., Agrò F.E.		DOI: 10.1111/joim.13091

	COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. <i>J Intern Med</i> , 2020, vol. 288, no. 2, pp. 192-206.		
25	Ratajczak M.Z., Kucia M. SARS-CoV-2 infection and overactivation of Nlrp3 inflammasome as a trigger of cytokine "storm" and risk factor for damage of hematopoietic stem cells. <i>Leukemia.</i> , 2020, vol. 34, pp. 1726-1729.		DOI: 10.1038/s41375-020-0887-9
26	Savchenko A.A., Tikhonova E., Kudryavtsev I., Kudlay D., Korsunsky I., Beleniuk V., Borisov A. TREC/KREC Levels and T and B Lymphocyte Subpopulations in COVID-19 Patients at Different Stages of the Disease. <i>Viruses</i> , 2022, vol. 1, no. 3, pp. 646		DOI: 10.3390/v14030646

27	Serana F., Chiarini M., Zanotti C., Sottini A., Bertoli D., Bosio A., Caimi L., Imberti L. Use of V(D)J recombination excision circles to identify T- and B-cell defects and to monitor the treatment in primary and acquired immunodeficiencies. J Transl Med, 2013, vol. 119, pp. 1-11.		DOI: 10.1186/1479-5876-11-119
28	van Zelm M., van der Burg M., Langerakand A., van Dongen J. PID comes full circle: applications of V(D)J recombination excision circles in research, diagnostics and newborn screening of primary immunodeficiency disorders. Front Immunol. 2011, vol. 2, no. 12, pp. 1-9.		DOI: 10.3389/fimmu.2011.00012
29	WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard		

	https://covid19.who.int/ (дата обращения: 04.10.2023)		
30	Wong C.K., Lam C.W., Wu A.K., Ip W.K., Lee N.L., Chan I.H., Lit L.C., Hui D.S., Chan M.H., Chung S.S., Sung J.J. Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. Clin Exp Immunol, 2004, vol. 136p. 95-103.		DOI: 10.1111/j.1365-2249.2004.02415.x
31	Xu H., Zhong L., Deng J., Peng J., Dan H., Zeng X., Li T., Chen Q. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. Int J Oral Sci, 2020, vol. 12, pp. 8.		DOI: 10.1038/s41368-020-0074-x
32	Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C., Liu S., Zhao P., Liu H.,		DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X

	Zhu L., Tai Y., Bai C., Gao T., Song J., Xia P., Dong J., Zhao J., Wang F.S. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. The Lancet respiratory medicine, 2020, vol. 8, №. 4, pp. 420-422.	
33	Yang J., Zheng Y., Gou X., Pu K., Chen Z., Guo Q, Ji R, Wang H, Wang Y, Zhou Y. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. International journal of infectious diseases, 2020, vol. 94, pp. 91–5.	DOI: 10.1016/j.ijid.2020.03.017
34	Yuki K., Fujiogi M., Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A	DOI: 10.1016/j.clim.2020.108427

	review. Clin Immunol, 2020, vol. 215, pp. 108427.		
35	Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z., Xiang J., Wang Y., Song B., Gu X., Guan L., Wei Y., Li H., Wu X., Xu J., Tu S., Zhang Y., Che H., Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. The Lancet, 2020, vol. 395, pp. 1054–62.		DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3