

ИЗМЕНЕНИЯ ВРОЖДЕННЫХ ФАКТОРОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПО ДАННЫМ ИЗУЧЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ

Добрынина М.А.^{1,2},

Зурочка А.В.^{1,3},

Комелькова М.В.^{1,3},

Зурочка В.А.^{1,3},

Праскурничий Е.А.²,

Рябова Л.В.⁴,

Сарапульцев А.П.^{1,3}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия.

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И.Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации, г.Москва, Россия.

³Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)», г.Челябинск, Россия.

⁴Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г.Челябинск, Россия.

**ALTERATION IN INNATE IMMUNE CUES ASSESSED BY ANALYZING
PERIPHERAL BLOOD IMMUNE SYSTEM IN POST-COVID PATIENTS**

Dobrynina M.A.^{a,b},

Zurochka A.V.^{a,c},

Komelkova M.V.^{a,c},

Zurochka V.A.^{a,c},

Praskurnichiy E.A.^b,

Ryabova L.V.^d,

Sarapultsev A.P.^{a,c}

^aFederal State Budgetary Institution of Science Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia.

^bFederal State Budgetary Institution "State Research Center of the Russian Federation - Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan" of the Federal Medical and Biological Agency of the Russian Federation, Moscow, Russia.

^cFederal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "South Ural State University (National Research University)", Chelyabinsk, Russia.

^dFederal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "South Ural State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia.

Резюме.

Пандемия новой короновирусной инфекции COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, привела к глобальной заболеваемости и смертности во всем мире. Известно, что часть пациентов полностью выздоравливают от COVID-19, тогда как около 45% людей, вне зависимости от тяжести перенесенного заболевания, страдают от различных симптомов (усталость, когнитивные нарушения, нарушение терморегуляции, кожные заболевания и пр.), которые сохраняются не менее четырех месяцев после заражения SARS-CoV-2. Подобные стойкие постинфекционные последствия известны под названиями long-COVID, постострые последствия COVID-19, постковидное состояние.

SARS-CoV-2 инфекция сопровождается повреждением врожденной иммунной системы. Учитывая роль натуральных киллеров и активации системы комплемента при COVID-19, регуляторные свойства CD46 и его потенциальную вовлеченность в процессы проникновения вируса в клетку, мы сочли необходимым изучить параметры иммунной системы, связанные с нарушением этих факторов врожденного иммунитета на различных субпопуляциях лейкоцитов у постковидных пациентов.

Было изучено 92 параметра иммунной системы включающие: панлейкоцитарные маркеры для гейтирования лимфоцитов, типирование Т-лимфоцитов, Т-хелперов индукторов, цитотоксических Т-лимфоцитов), NK- и TNK-клеток, Т-регуляторные клетки/супрессоров, В-лимфоцитов, включая В-клетки памяти, активированные хелперы, ранняя активация лимфоцитов, (активированные Т-лимфоциты - поздняя активация лимфоцитов).

Уровни общих IgM, IgG, IgA, специфических IgM, IgG к коронавирусу COVID-19, C1-ингибитора, C3a и C5a компонентов комплемента проводилось методом иммуноферментного на иммуноферментном анализаторе Multiscan FC ThermoScientific (Китай) с использованием наборов реагентов Вектор Бест (Россия).

Общий анализ крови (исследовано 25 параметров: лейкоцитарный, эритроцитарный и тромбоцитарный ростки кроветворения), количественный и качественный состав ростков кроветворения.

Результаты исследования показали, что у части пациентов спустя 6 месяцев после перенесенного COVID-19 выявлено снижение уровня НК-клеток (48%) и клеток, имеющих панлейкоцитарный маркер CD46⁺ (64,5%). Снижение уровня НК-клеток сопровождалось повышением уровня общих Т- и В-лимфоцитов, нарушением тромбоцитарного и эритроидного ростков кроветворения. У пациентов со сниженной экспрессией CD46⁺ на Т-лимфоцитах значительно снижено как общее количество этих клеток, так и НК-клеток. Полученные нами данные также указывают на возможное участие CD46 и в развитии инфекции SARS-CoV-2 и постковидного состояния.

Таким образом, у 50-65% пациентов перенесших SARS-CoV-2 инфекцию, через 6 месяцев сохраняется повреждение врожденных систем иммунитета, при этом такое нарушение сопровождается и нарушениями эритроидного и тромбоцитарного роста кроветворения. Полученные данные свидетельствуют о необходимости проведения у таких больных иммунокорригирующей терапии.

Ключевые слова: SARS-CoV-2 инфекция, постковидные пациенты, иммунная система, натуральные киллеры (НК-клетки), Т-клетки, Т-лимфоциты, TNK-лимфоциты, В-лимфоциты, CD46.

Abstract.

The COVID-19 pandemic, caused by the SARS-CoV-2 virus, has led to global morbidity and mortality. Some patients fully recover from COVID-19, whereas around 45% subjects suffer from various persistent symptoms (fatigue, cognitive impairment, impaired thermoregulation, skin diseases, etc.) for at least four months after SARS-CoV-2 infection regardless of disease severity. Such persistent post-

infection effects are known as long-COVID, post-acute effects of COVID-19, or post-COVID state.

SARS-CoV-2 infection is accompanied by damage to the innate immune system. Considering the role of natural killer cells and the activation of the complement system in COVID-19 as well as the regulatory properties related to CD46 and its potential involvement in cell virus entry, we found necessary to study immune system parameters associated with impairment of these innate immune cues on various leukocyte subpopulations in post-COVID patients.

We studied 92 immune system parameters, including: pan-leukocyte markers for gated lymphocytes, phenotyping of T cells, T-helper inducers, cytotoxic T-lymphocytes, NK- and TNK-cells, T-regulatory cells/suppressors, B-lymphocytes, including B-memory cells, activated helpers, early activation of lymphocytes, activated T-lymphocytes, and late lymphocyte activation markers. Levels of total IgM, IgG, IgA, specific IgM, IgG to coronavirus COVID-19, C1-inhibitor, C3a, and C5a complement components were measured by enzyme immunoassay using Multiscan FC Thermoscientific enzyme immunoassay analyzer (China) and Vector Best reagent kits (Russia). A complete blood count was conducted to study 25 parameters: leukocyte, erythrocyte, and platelet hematopoietic lineages as well as the quantitative and qualitative composition of hematopoietic lineages.

Our study results showed that in some patients, six months after suffering from COVID-19, there was a decrease in the level of NK cells (48%) and CD46+ pan-leukocyte marker cells (64.5%). A decrease in NK cell levels was accompanied by increased level of total T- and B-lymphocytes, and altered platelet and erythroid hematopoietic lineages. In patients with reduced CD46 expression on T-lymphocytes, both their total count and NK cell count were significantly reduced. Our data also suggest that CD46 might be potentially involved in development of SARS-CoV-2 infection and the post-COVID state.

Thus, in 50-65% of patients who have experienced SARS-CoV-2 infection, damage to the innate immune system persists after six months being accompanied by impaired erythroid and platelet hematopoietic lineages. The data obtained indicate a need for using immunocorrective therapy in such patients.

Keywords: SARS-CoV-2 infection, post-COVID patients, immune system, natural killer cells (NK cells), T cells, T lymphocytes, TNK lymphocytes, B lymphocytes, CD46.

1 **Введение.**

2 Пандемия новой короновирусной инфекции COVID-19, вызванная
3 вирусом SARS-CoV-2, привела к глобальной заболеваемости и смертности во
4 всем мире.

5 Натуральные киллеры (NK-клетки) играют определяющую роль в
6 формировании выраженности ответа врождённого иммунитета у пациентов с
7 COVID-19 [4], способствуя сбалансированности прямого ответа на вирус –
8 путем устранения инфицированных клеток (дендритных клеток, моноцитов и
9 Т-клеток). Нарушение этого баланса оказывается критичным в случае SARS-
10 CoV-2, поскольку сверхактивный цитокиновый ответ, типичный для тяжелых
11 случаев заболевания, приводит к развитию системных осложнений,
12 полиорганной недостаточности и, в конечном итоге, к смерти [16].

13 Согласно данным литературы, при тяжелом течении COVID-
14 19отмечается увеличение количества NK-клеток, экспрессирующих KIR2DS4,
15 CD158i, а также изменения со стороны В-клеток, проявляющиеся снижением
16 CD19⁺ и CD20^{+/-}, и падение уровня IgM [24]. Также, фиксируется уменьшение
17 количества CD3⁺CD4⁺ Т-лимфоцитов, CD3⁺CD8⁺Т-лимфоцитов, CD19⁺В-
18 лимфоцитов и CD16⁺CD56⁺NK-клеток крови [33], что, наряду с бактериальной
19 коинфекцией, является причиной развития бактериальных пневмоний, и
20 приводит к утяжелению состояния и, зачастую, смерти пациента [33].

21 Необходимо отметить, что описанные выше результаты исследований
22 получены у пациентов с острым течением COVID-19, тогда как исследования
23 NK-клеток и их связей с нарушением других компартментов иммунной
24 системы у постковидных пациентов практически не проводилось. В то же
25 время несмотря на то, что часть пациентов полностью выздоравливают от
26 COVID-19, около 45% людей, вне зависимости от тяжести перенесенного
27 заболевания, страдают от различных симптомов (усталость, когнитивные
28 нарушения, нарушение терморегуляции, кожные заболевания и пр.), которые

29 сохраняются не менее, чем четыре месяца после заражения SARS-CoV-2 [21].
30 Подобные стойкие постинфекционные последствия известны под названиями
31 long-COVID, постострые последствия COVID-19, постковидное состояние
32 [26].

33 Согласно литературным данным, основной путь проникновения вируса
34 SARS-Cov-2 в клетки происходит за счет связывания S1 вирусного шипового
35 (S) белка с ACE2 [5, 12, 7, 30, 27]. Однако, могут существовать и другие
36 механизмы проникновения вируса в клетку [10] и в качестве одного из
37 альтернативных рецепторов рассматривается CD46. CD46 – это мембранный
38 гликопротеин I типа, относящийся к панлейкоцитарным рецепторам,
39 экспрессирующийся на всех ядерных клетках человека, ключевой ролью
40 которого является регуляция системы комплемента. В то же время,
41 многочисленные вирусные (вакцинный штамм вируса кори, аденовирусы
42 группы В и D, вирусы герпеса 6 типа) и бактериальные (*Neisseria gonorrhoea*,
43 *Neisseria meningitides*, *Streptococcus pyogenes*) патогены используют его в
44 качестве рецептора. При этом, связывание CD46 комплектом или
45 патогенами влияет на функциональную активность, пролиферацию и
46 дифференцировку различных иммунных клеток (макрофаги, дендритные
47 клетки, Т-клетки) [14,23,28]. Лигирование CD46 меняет полярность Т-клеток,
48 предотвращая нормальные ответы на презентацию антигена, и, как следствие,
49 модулирует иммунный ответ и меняет исход заболеваний [8]. Более того,
50 дефицит CD46 или его лиганда (C3/C3b) приводит к нарушению Th1-ответа,
51 увеличивая риск рецидивирующих инфекций [11]. В то же время, именно
52 нарушение Т-клеточного ответа оказывается критичным в случае SARS-CoV-
53 2 [16], как в ходе самого заболевания [13], так и спустя длительное время после
54 клинического выздоровления [17].

55 Таким образом, учитывая роль натуральных киллеров и активации
56 системы комплемента при COVID-19, регуляторные свойства CD46 и его

57 потенциальную вовлеченность в процессы проникновения вируса в клетку, мы
58 сочли необходимым изучить изменение показателей иммунной системы,
59 связанных с нарушением этих факторов врожденного иммунитета на
60 различных субпопуляциях лейкоцитов у постковидных пациентов.

61 **Материалы и методы исследований**

62 Было обследовано 96 пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию.
63 Критерием включения в группы исследований были: подтвержденный диагноз
64 SARS-CoV-2 инфекции методом полимеразной цепной реакции (ПЦР),
65 наличие IgA, M, G к вирусу SARS-CoV-2 инфекции, данные компьютерной
66 томографии о перенесенной пневмонии (варианты: – поражение от 25% легких
67 до 75% легких). Кроме того, критериями включения являлись наличие жалоб
68 на усталость, боль, симптомы, возникающие после физической нагрузки,
69 изменения в работе и/или учебе, нарушение работы сердечно-сосудистой,
70 нервной систем, наличие когнитивных, психических и физических нарушений
71 [18, 3]. Исследование проводилось не менее чем через 6 месяцев после
72 перенесенной пневмонии вызванной SARS-CoV-2 инфекцией. Все пациенты
73 были предварительно обследованы врачом терапевтом и иммунологом-
74 аллергологом, для выявления сопутствующих заболеваний.

75 Определение групп сравнения проводилось по двум параметрам
76 врожденного иммунитета: по количеству NK-клеток и панлейкоцитарному
77 маркеру CD46⁺.

78 На первом этапе пациенты, участвующие в исследовании, были
79 разделены по количеству NK-клеток. В качестве референсных интервалов и
80 пороговых значений NK-клеток были приняты данные, представленные в
81 монографии Зурочка А.В. и соавт. (2018) [1]. На втором этапе та же выборка
82 пациентов была разделена по уровню панлейкоцитарного маркера CD46⁺ на
83 общей популяции Т-лимфоцитов. Для определения точки отсечения (cut-
84 offvalue) по CD46⁺ был использован ROC-анализ. Кроме того, группы были

85 рандомизированы по полу, возрасту, сопутствующим заболеваниям по
86 критерию χ^2 . Таким образом, нами было выделено 4 группы сравнения:

87 Группа 1 – постковидные пациенты с уровнем НК-клеток ниже нормы,
88 n=46

89 Группа 2 – постковидные пациенты с нормальным уровнем НК-клеток,
90 n=50

91 Группа 3 – постковидные пациенты со сниженным уровнем CD46⁺, n=62

92 Группа 4 – постковидные пациенты с равным или повышенным уровнем
93 CD46⁺, n=34

94 Все исследования были одобрены независимым локальным этическим
95 комитетом при ГАУЗ ОТКЗ «Городская клиническая больница №1» г,
96 Челябинска, протокол №8 от 11.04.2022 на базе которой проводились данные
97 исследования.

98 *Иммунологические исследования*

99 Оценка иммунного статуса осуществлялась методом проточной
100 цитометрии на цитофлюориметре «Navios» (BeckmanCoulter, США) по
101 стандартизированной технологии оценки лимфоцитарного звена иммунитета
102 [1,2].

103 В ходе исследования были определены следующие параметры: CD45⁺ и
104 CD46⁺ (панлейкоцитарный маркер для гейтирования лимфоцитов),
105 CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺ (Т-лимфоциты), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺,CD4⁺ (хелперы
106 индукторы), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, CD8⁺ (цитотоксические Т-лимфоциты),
107 CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺CD16⁺, CD56⁺ (ТНК-клетки) CD45⁺(CD46⁺), CD3⁻, CD16⁺,
108 CD56⁺ (натуральные киллеры), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁻, CD19⁺ CD5⁺ (В-
109 лимфоциты), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, CD4⁺, CD25⁺, CD127⁻ (Т-регуляторные
110 клетки/супрессоры), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, CD4⁺, CD25⁺ (активированные
111 хелперы, ранняя активация лимфоцитов), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, HLA-DR

112 (активированные Т-лимфоциты - поздняя активация лимфоцитов), В-клеток
113 памяти CD27⁺ (BeckmanCoulter, «BioLegend», США).

114 Уровни общих IgM, IgG, IgA, специфических IgM, IgG к коронавирусу
115 COVID-19, С1-ингибитора, С3а и С5а компонентов комплемента проводилось
116 методом иммуноферментного на иммуноферментном анализаторе Multiscan
117 FC ThermoScientific (Китай) с использованием наборов реагентов Вектор Бест
118 (Россия).

119 *Гематологические исследования*

120 Общий анализ крови (исследовано 25 параметров: лейкоцитарный,
121 эритроцитарный и тромбоцитарный ростки кроветворения), количественный
122 и качественный состав ростков кроветворения проведен стандартизованным
123 методом на гематологическом анализаторе Medonic M20 (Швеция).

124 *Статистическая обработка данных*

125 Обработка и анализ данных осуществлялись с помощью R 3.1.1 12 (R
126 Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия) и Microsoft Excel версии
127 14.0. Так как распределение в количественных данных было не нормальным (р-
128 value теста Шапиро-Уилка < 0,05), то использованные статистические критерии
129 были непараметрическими.

130 **Результаты исследований и их обсуждение**

131 В ходе исследования при делении выборки по количеству натуральных
132 киллеров было выявлено, что среди 96 обследованных пациентов 48% (*группа*
133 *1*) имели сниженный уровень абсолютного и относительного числа НК-клеток.
134 Гейтирование лимфоцитов панлейкоцитарными маркерами CD45⁺ и
135 CD46⁺ показало, что у пациентов *группы 1* отмечено снижение НК-клеток
136 более чем в 2 раза по сравнению с пациентами, относящихся к группе 2
137 (таблица 1). При этом снижение натуральных киллеров сопровождалось
138 повышением в 1,2 раза абсолютного и относительного числа общих Т-
139 лимфоцитов, которое, по-видимому, происходило за счет компенсаторного

140 увеличения субпопуляций Т-хелперов и ТНК-лимфоцитов, а также ростом
141 общего числа В-клеток памяти. Установлено, что увеличение общего числа В-
142 лимфоцитов сопровождалось полуторакратным снижением уровня общего
143 IgM (таблица 1).

144 **Таблица 1. Показатели иммунной системы, эритроидного,**
145 **тромбоцитарного ростка кроветворения у постковидных пациентов с**
146 **нарушением уровня НК-клеток**

147 **Table 1. Parameters of the immune system, erythroid, platelet**
148 **hematopoietic lineage in post-COVID patients with impaired NK cell levels**

149 Анализ показателей тромбоцитарного ростка кроветворения у
150 пациентов со сниженным уровнем НК-клеток показал повышение в 1,3 раза
151 количества тромбоцитов, в 1,1 раза тромбоцитокрита на фоне снижения
152 среднего объема тромбоцитов (таблица 1).

153 Постковидные пациенты со сниженным уровнем НК-клеток также
154 характеризовались значительным снижением показателя гематокрита,
155 концентрации гемоглобина в эритроцитах, среднего корпускулярного объема
156 гемоглобина, средней концентрации корпускулярного гемоглобина (таблица
157 1).

158 При делении выборки по уровню панлейкоцитарного маркера CD46⁺
159 было выявлено, что среди 96 обследованных пациентов у 64,5% с
160 постковидным синдромом (*группа 3*) отмечено значительное снижение
161 экспрессии CD46⁺ на Т-лимфоцитах (таблица 2). При этом пациенты *группы 3*
162 характеризуются снижением уровня абсолютного и относительного числа как
163 Т-лимфоцитов, так и клеток, отвечающих за врожденный противовирусный
164 иммунитет (НК-клетки).

165 **Таблица 2. Сравнение показателей субпопуляций лимфоцитов**
166 **постковидных пациентов при гейтировании панлейкоцитарным**
167 **маркером CD46⁺**

168 **Table 2. Comparison of indices of lymphocyte subpopulations in post-**
169 **COVID patients when gated with the CD46⁺ panleukocyte marker**

170

171 При делении выборки по панлейкоцитарному маркеру CD46⁺ видно, что
172 количество Т-лимфоцитов у лиц с патологией врожденного иммунитета
173 значительно ниже (*группа 3*, таблица 2), чем при делении по количеству НК-
174 клеток (*группа 1*, таблица 1). Причиной таких различий может являться то, что
175 процент пациентов, имеющих более низкий уровень CD46⁺ лейкоцитов в 1,3
176 раза больше, чем лиц, имеющих резкое снижение НК-клеток. Из чего следует,
177 что в *группе 3* есть больные, уровень НК-клеток у которых мог быть
178 нормальным или даже повышенным. Об этом свидетельствуют данные
179 таблицы 2, где показано, что количество этих клеток в среднем выше, чем в
180 *группе 1*. В тоже время исходя из данных таблиц 1 и 2, уровень Т-лимфоцитов
181 у постковидных пациентов *группы 1* выше, чем у постковидных пациентов
182 *группы 3*, что, вероятно, связано с наличием в этой группе лиц, у которых
183 несмотря на снижение уровня НК-клеток, общее количество Т-лимфоцитов
184 было в норме или повышено.

185 Таким образом при обсчете по разным исходным точкам иммунной
186 системы (формирование групп по снижению/норме НК-клеток и
187 панлейкоцитарному маркеру CD46⁺ состав групп может сильно различаться и
188 иметь как общие признаки, так и существенные различия. Все это
189 свидетельствует о том, что при анализе полученных результатов, нужно
190 проводить более глубокие исследования популяционного состава лейкоцитов
191 с учетом разных точек повреждения системы иммунитета.

192 Полученные в данном исследовании результаты свидетельствуют о том,
193 что у части пациентов, ранее перенесших SARS-CoV-2 инфекцию и
194 страдающих постковидным синдромом, четко прослеживается фенотип,

195 связанный с нарушением систем врожденного иммунитета, включающего в
196 себя снижение NK-клеток и панлейкоцитарного рецептора CD46⁺.

197 Ранее другими авторами было показано, что в течении первых 3 месяцев
198 после выздоровления у пациентов с лёгкой и средней тяжестью течения
199 острого COVID-19 наблюдалось значительное снижение общего количества
200 NK-клеток [25]. Эти данные согласуются с результатами наших исследований
201 и свидетельствуют о том, что COVID-19 может влиять на количество и
202 функции клеток врожденной иммунной системы (в том числе натуральных
203 киллеров), приводя к развитию постострых последствий заболевания. В силу
204 этого, эпигенетическая память иммунных клеток врожденного иммунитета и
205 их предшественников может играть роль в развитии постковидных нарушений
206 [6].

207 Отмеченные нарушения элементов врожденного иммунитета
208 сопровождались изменениями в эритроцитарном и тромбоцитарном ростках
209 кроветворения. Снижение эритроцитарных индексов может
210 свидетельствовать нарушении оксигенации организма. Было высказано
211 предположение об ингибировании метаболизма гема путем связывания
212 вирусного белка ORF8 с порфирином [15, 32]. Гемоглобин крови является
213 наиболее простым для измерения гемопротеином, однако в метаболизме
214 клеток принимает участие большое количество других важных белков,
215 представляющих собой гемопротеины (миоглобин, каталаза, циклооксигеназа,
216 пероксидаза, цитохром р450 и синтаза оксида азота, митохондриальные
217 белки), которые, по-видимому, также могут снижаться при COVID-19.
218 Подобные события приводят к белковой дисфункции, повреждению клеток,
219 потере энергии митохондриями и утечке железа с последующим повышением
220 уровня ферритина в сыворотке, а также к усталости и объективной мышечной
221 слабости, о которых сообщают пациенты [22].

222 Кроме того, для постковидных пациентов с нарушенным иммунным
223 статусом характерны тромботические осложнения [31]. Установлено
224 повышение общего количества тромбоцитарных пластинок при
225 одновременном снижении их среднего объема. Согласно литературным
226 данным нарушение регуляции врожденной и адаптивной иммунных систем
227 является одним из критических факторов, вызывающих тромбоз при COVID-
228 19[29]. Sumbalova Z. и соавт (2022) показали, что у пациентов после COVID-
229 19 снижены функция дыхательной цепи митохондрий тромбоцитов,
230 окислительное фосфорилирование и уровень эндогенного CoQ10, что
231 приводит к нарушению их функциональной активности [29].

232 Согласно литературным данным, CD46 играет значительную роль во
233 врожденных и адаптивных иммунных реакциях, а нарушения CD46-
234 опосредованных сигнальных путей приводят к врожденным
235 иммунодефицитом. Так, пациенты с мутациями в CD46 не генерируют Th1
236 ответ, что приводит к развитию у них тяжелых рецидивирующих инфекций
237 [11]. Oliaro J и соавт. (2006) установили, что лигирование CD46 на НК-клетках
238 влияет на поляризацию в направлении клеток-мишеней и снижает их
239 цитотоксичность [20]. Эти результаты демонстрируют возможный механизм
240 нарушения нормальной передачи сигналов между иммунными клетками,
241 опосредованный патогенами, которые связывают CD46 [20].

242 Результаты настоящего исследования показали значительное снижение
243 у постковидных пациентов как общего количества Т-лимфоцитов, так и НК-
244 клеток, несущих на своей поверхности рецептор CD46. По-видимому, именно
245 лигирование CD46 вирусом индуцирует его подавление [19]. Известно, что в
246 супернатантах CD46-активированных Т-клеток выделение CD46 приводит к
247 образованию растворимого CD46 (sCD46), способного связывать лиганды. В
248 свою очередь, активированные Т-клетки секретируют С3b, который в свою
249 очередь, связывается с выделенным sCD46 и приводит к ингибированию Т-

250 клеток в петле отрицательной обратной связи [19]. Вероятно, именно эти
251 механизмы иммунопатогенеза определяют дисфункцию Т-клеточного звена и,
252 как следствие, развитию постострых симптомов COVID-19, что требует
253 создания принципиально новых подходов к иммунокоррекции.

254 **Выводы**

255 1. У части постковидных пациентов через 6 месяцев и более
256 сохранялось повреждение врожденных факторов иммунной системы, а
257 именно снижение уровня НК-клеток(48 %) и клеток, имеющих
258 панлейкоцитарный маркер CD46⁺ (64,5%).

259 2. Снижение натуральных киллеров сопровождалось повышением
260 уровня общих Т-лимфоцитов, преимущественно за счет Т-хелперов и ТНК-
261 лимфоцитов, и ростом общих В-клеток памяти, которое сочеталось со
262 снижением уровня общего IgM.

263 3. Снижение уровня НК-клеток сопровождалось нарушением
264 тромбоцитарного (повышением уровня тромбоцитов, тромбоцитокрита на
265 фоне снижения среднего объема тромбоцитов) и эритроидного (снижением
266 гемоглобина, гематокрита, среднего корпускулярного объема гемоглобина,
267 средней концентрации корпускулярного гемоглобина) ростков кроветворения.

268 4. У пациентов со сниженной экспрессией CD46⁺ на Т-лимфоцитах
269 значительно снижено как общее количество этих клеток, так и НК-клеток.
270 Полученные нами данные указывают на возможное участие CD46 в развитии
271 инфекции SARS-CoV-2 и постковидного состояния.

272

273 *Исследование выполнено при поддержке гранта ФГБУ «РЦНИ» № 20-*
274 *515-55003 «Китай_т» «Иммуноопосредованные механизмы SARS-CoV-2*
275 *инфекции: новые направления и новые вызовы».*

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Показатели иммунной системы, эритроидного, тромбоцитарного ростка кроветворения у постковидных пациентов с нарушением уровня НК-клеток

Table 1. Parameters of the immune system, erythroid and platelet hematopoietic lineage in post-COVID patients with impaired NK cell levels

<p>Показатели иммунной системы Indicators of immune system</p>	<p><i>Группа 1</i> Постковидные пациенты со сниженным уровнем НК- клеток (n=46) <i>Group 1</i> Postcovid patients with reduced NK cells (n=46)</p>	<p><i>Группа 2</i> Постковидные пациенты с нормальным уровнем НК- клеток (n=50) <i>Group 2</i> Postcovid patients with normal NK cell levels (n=50)</p>
<p>НК-клетки (CD45⁺CD3⁻16⁺56⁺) отн, % NK cells (CD45⁺CD3⁻16⁺56⁺) relative, %</p>	<p>6,29±0,36*</p>	<p>14,63±0,48</p>
<p>НК-клетки (CD45⁺CD3⁻16⁺56⁺) абс, 10⁶кл/л NK cells (CD45⁺CD3⁻16⁺56⁺) abs, 10⁶ cells/l</p>	<p>142,7±10,59*</p>	<p>305,76±16,37</p>
<p>НК-клетки (CD46⁺CD3⁻16⁺56⁺) отн, % NK cells (CD46⁺CD3⁻16⁺56⁺) relative, %</p>	<p>5,98±0,39</p>	<p>13,41±0,54</p>

НК-клетки (CD46 ⁺ CD3 ⁻ 16 ⁺ 56 ⁺) абс, 10 ⁶ кл/л NK cells (CD46 ⁺ CD3 ⁻ 16 ⁺ 56 ⁺) abs, 10 ⁶ cells/l	132,68±10,41*	276,74±15,02
Общее число Т-лимфоцитов (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) отн, % Total number of T-lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) relative, %	77,49±0,84*	69,33±0,86
Общее число Т-лимфоцитов (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) абс, 10 ⁶ кл/л Total number of T-lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) abs, 10 ⁶ cells/l	1769,44 ±86,82*	1465,89±78,24
Общее число Т-лимфоцитов (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) отн, % Total number of T-lymphocytes (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) relative, %	74,61±0,95*	66,57±1,02
Общее число Т-лимфоцитов (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) абс, 10 ⁶ кл/л Total number of T-lymphocytes (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) abs, 10 ⁶ cells/l	1711,64±86,435*	1409,63±78,93
Т-хелперы (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺) отн, % T-helpers (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺) relative, %	51,32±1,8*	44,50±1,06

<p>Т-хелперы (CD45⁺CD3⁺CD4⁺) абс, 10⁶кл/л Т-helpers (CD45⁺CD3⁺CD4⁺) abs, 10⁶ cells/l</p>	<p>1108,72±100,16*</p>	<p>985,35±51,79</p>
<p>ТНК-лимфоциты (CD46⁺CD3⁺16⁺56⁺) отн, % TNK lymphocytes (CD46⁺CD3⁺16⁺56⁺) rel, %</p>	<p>6,48±0,61</p>	<p>5,22±0,52</p>
<p>ТНК-лимфоциты (CD46⁺CD3⁺16⁺56⁺) абс, 10⁶кл/л TNK lymphocytes (CD46⁺CD3⁺16⁺56⁺) abs, 10⁶ cells/l</p>	<p>145,46±15,97 *</p>	<p>106,37±11,24</p>
<p>Общее число В-лимфоцитов памяти (CD45⁺CD3⁻ CD19⁺CD27⁺) отн, % Total number of memory B- lymphocytes (CD45⁺CD3⁻ CD19⁺CD27⁺) relative, %</p>	<p>4,15±0,45*</p>	<p>2,81±0,23</p>
<p>Общее число В-лимфоцитов памяти (CD45⁺CD3⁻ CD19⁺CD27⁺) абс, 10⁶кл/л Total number of memory B- lymphocytes (CD45⁺CD3⁻ CD19⁺CD27⁺) abs, 10⁶ cells/l</p>	<p>99,04±13,45 *</p>	<p>59,78±6,48</p>

IgM общий, г/л IgM total, g/l	0,68±0,06*	1,03±0,12
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ клеток/л The number of platelets 10 ⁹ cells/l	267,86±10,89 *	211,94±7,65
Тромбоцитокрит, % Thrombocytocrit, %	0,19±0,01 *	0,17±0,01
Средний объем тромбоцита, fL Average platelet volume, fL	7,61±0,15 *	8,05±0,13
Концентрация гемоглобина, г/л Hemoglobin concentration, g/l	130,96±2,28*	141,94±2,17
Гематокрит, % Hematocrit, %	38,94±0,62 *	41,672±0,59
Средний корпускулярный объем гемоглобина, пг Average corpuscular volume of hemoglobin, pg	28,66±0,41*	30,1±0,25
Средняя концентрация корпускулярного гемоглобина, г/л Average concentration of corpuscular hemoglobin, g/l	337,08±1,44*	341,76±1,28

Примечание: данные представлены в виде $M \pm m$; * - достоверность различий между группами $p < 0,05$.

Note: data are presented as $M \pm m$; * - significant differences between groups, $p < 0.05$.

Таблица 2. Сравнение показателей субпопуляций лимфоцитов постковидных пациентов при гейтировании панлейкоцитарным маркером CD46⁺

Table 2. Comparison of indices of lymphocyte subpopulations in post-COVID patients gated on CD46⁺ pan-leukocyte marker

<p>Показатели субпопуляций лимфоцитов Indicators subpopulations of lymphocytes</p>	<p>Группа 3 Постковидные пациенты со сниженным уровнем CD46⁺ (n=62) Group 3 Post-COVID patients with reduced CD46⁺ levels (n=62)</p>	<p>Группа 4 Постковидные пациенты с равным или повышенным уровнем CD46⁺ (n=34) Group 4 Post-COVID patients with equal or elevated CD46⁺ levels (n=34)</p>
<p>Общее число Т-лимфоцитов (CD46⁺CD3⁺CD19⁻) отн, % Total number of T-lymphocytes (CD46⁺CD3⁺CD19⁻) relative, %</p>	<p>69,75±1,51 *</p>	<p>74,85±0,90</p>
<p>Общее число Т-лимфоцитов (CD46⁺CD3⁺CD19⁻) абс, 10⁶ кл/л Total number of T-lymphocytes (CD46⁺CD3⁺CD19⁻) abs, 10⁶ cells/l</p>	<p>1427,46±57,93*</p>	<p>1753,30±112,50</p>
<p>НК-клетки (CD46⁺CD3⁻16⁺56⁺) отн, % NK cells (CD46⁺CD3⁻16⁺56⁺) rel.</p>	<p>6,48±0,39*</p>	<p>13,13±1,14</p>

%		
НК-клетки (CD46 ⁺ CD3 ⁻ 16 ⁺ 56 ⁺) абс, 10 ⁶ кл/л NK cells (CD46 ⁺ CD3 ⁻ 16 ⁺ 56 ⁺) abs, 10 ⁶ cells/l	145,50±15,97*	276,90±26,45

Примечание: данные представлены в виде $M \pm m$; * - достоверность различий между группами $p < 0,05$.

Note: data are presented as $M \pm m$; * - reliability of differences between groups $p < 0.05$.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Добрынина Мария Александровна, к.м.н., научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, доцент кафедры терапии Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства, mzurochka@mail.ru
+79823404000

Dobrynina Maria Aleksandrovna, PhD, Researcher, Laboratory of Immunology of Inflammation, FSBIS «Institute of Immunology and Physiology», Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation, assistant professor of the Department of Therapy of the University of Innovation and Continuing Education of the State Research Center – Burnazyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, mzurochka@mail.ru
+79823404000

Блок 2. Информация об авторах

Зурочка Александр Владимирович, ЗДН РФ, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, заведующий лабораторией биотехнологий Научно-образовательного Российско-Китайского Центра системной патологии Южно-Уральского Государственного Университета (Научного исследовательского университета), av_zurochka@mail.ru
Russian Journal of Infection and Immunity

Zurochka Aleksandr Vladimirovich, Honored Worker of Science of the Russian Federation, MD, professor, leading researcher at the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Head of the Biotechnology Laboratory of the Russian-Chinese Center of the South Ural State University (NRU), av_zurochka@mail.ru

Комелькова Мария Владимировна, д.б.н., заведующий лабораторией системной патологии и перспективных лекарственных средств Научно-образовательного Российско-Китайского Центра системной патологии Южно-Уральского Государственного Университета (Научного исследовательского университета), mkomelkova@mail.ru

Komelkova Mariia Vladimirovna, MD, ScD., Head of the Laboratory of Systemic Pathology and Promising Medicines, Scientific and Educational Russian-Chinese Center for Systemic Pathology, FSAEI HE «SUSU NRU)», mkomelkova@mail.ru

Зурочка Владимир Александрович, д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологий Научно-образовательного Российско-Китайского Центра системной патологии Южно-Уральского Государственного Университета (Научного исследовательского университета), v_zurochka@mail.ru

Zurochka Vladimir Aleksandrovich, MD, Senior Researcher, Laboratory of Inflammatory Immunology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Biotechnology, Russian-Chinese Center, South Ural State University (NRU), v_zurochka@mail .RU

Праскурничий Евгений Аркадьевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой терапии Медико-биологического университета инноваций и

непрерывного образования ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства, praskurnichey@mail.ru

Praskurnichiy Evgeny Arkadyevich, MD, professor, Head of the Department of Therapy of the University of Innovation and Continuing Education of the State Research Center –Burnazyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, praskurnichey@mail.ru

Рябова Лиана Валентиновна, д.м.н., доцент, профессор кафедры безопасности жизнедеятельности, медицины катастроф, скорой и неотложной медицинской помощи Федерального Государственного Бюджетного Образовательного Учреждения Высшего Образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, lianarabowa@rambler.ru

Ryabova Liana Valentinovna, MD, Associate Professor, Professor of the Department of Life Safety, Disaster Medicine, Emergency Medicine, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "South Ural State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, lianarabowa@rambler.ru

Сарапульцев Алексей Петрович, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, руководитель Научно-образовательного Российско-Китайского Центра системной патологии Южно-Уральского Государственного Университета (Научного исследовательского университета) a.sarapultsev@gmail.com

Sarapultsev Alexey Petrovich, MD, ScD., leading researcher, Institute of Immunology and Physiology of Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Russian Journal of Infection and Immunity

Head of the Russian-Chinese Center of the South Ural State University (NRU)

a.sarapultsev@gmail.com

Блок 3. Метаданные статьи

**ИЗМЕНЕНИЯ ВРОЖДЕННЫХ ФАКТОРОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ
ПО ДАННЫМ ИЗУЧЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ
CHANGES IN CONGENITAL FACTORS OF THE IMMUNE SYSTEM
ACCORDING TO THE STUDY OF THE PERIPHERAL BLOOD IMMUNE
SYSTEM IN POST-COVID PATIENTS**

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ВРОЖДЕННЫЕ ФАКТОРЫ ИММУНИТЕТА В ПОСТКОВИДЕ

INGENITAL IMMUNE FACTORS IN POSTCOVID

Ключевые слова: SARS-CoV-2 инфекция, постковидные пациенты, иммунная система, натуральные киллеры (NK-клетки), Т-клетки, Т-лимфоциты, TNK-лимфоциты, В-лимфоциты, CD46.

Keywords: SARS-CoV-2 infection, post-COVID patients, immune system, natural killer cells (NK cells), T cells, T lymphocytes, TNK lymphocytes, B lymphocytes, CD46.

Оригинальные статьи

Количество страниц текста – 10, количество таблиц – 2, количество рисунков – 0.

04.05.2023

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет адрес или DOI
1	Зурочка А.В. Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2018.- 720с. ISBN 978-5-7691-2374-0.	Zurochka A.V. Khaidukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshev V.A. Flow cytometry in biomedical research. Ekaterinburg: RIO Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2018,720 p.	ISBN 978-5-7691-2374-0],
2	Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с	Khaydukov S.V., Baidun L.A., Zurochka A.V., Totolyan A.A. Standardized technology "Study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorometer-analyzers".	eLIBRARY ID: 22801164

	применением проточных цитофлюориметров-анализаторов»// Российский иммунологический журнал, 2014, Т.-8 (17),№.-4.- С.974-992.	Russian Journal of Immunology, 2014, Vol. 8 (17), no. 4, pp. 974-992.	
3	Agergaard J, Ullahammer WM, Gunst JD, Østergaard L, Schiøttz-Christensen B. Characteristics of a Danish Post-COVID Cohort Referred for Examination due to Persistent Symptoms Six Months after Mild Acute COVID-19. J Clin Med. 2022 Dec 10;11(24):7338.	Agergaard J, Ullahammer WM, Gunst JD, Østergaard L, Schiøttz-Christensen B. Characteristics of a Danish Post-COVID Cohort Referred for Examination due to Persistent Symptoms Six Months after Mild Acute COVID-19. J Clin Med. 2022 Dec 10;11(24):7338.	doi: 10.3390/jcm11247338.
4	d'Alessandro M, Bergantini L, Cameli P, Curatola G, Remediani L, Sestini P, Bargagli E; Siena COVID Unit. Peripheral biomarkers' panel for severe	d'Alessandro M, Bergantini L, Cameli P, Curatola G, Remediani L, Sestini P, Bargagli E; Siena COVID Unit. Peripheral biomarkers' panel for	doi: 10.1016/j.febslet.2010.09.003.

	COVID-19 patients. J Med Virol. 2021 Mar;93(3):1230-1232. doi: 10.1002/jmv.26577. Epub 2020 Oct 10.	severe COVID-19 patients. J Med Virol. 2021 Mar;93(3):1230-1232. doi: 10.1002/jmv.26577. Epub 2020 Oct 10.	
5	Ashraf UM, Abokor AA, Edwards JM, Waigi EW, Royfman RS, Hasan SA, Smedlund KB, Hardy AMG, Chakravarti R, Koch LG. SARS-CoV-2, ACE2 expression, and systemic organ invasion. Physiol Genomics. 2021 Feb 1;53(2):51-60.	Ashraf UM, Abokor AA, Edwards JM, Waigi EW, Royfman RS, Hasan SA, Smedlund KB, Hardy AMG, Chakravarti R, Koch LG. SARS-CoV-2, ACE2 expression, and systemic organ invasion. Physiol Genomics. 2021 Feb 1;53(2):51-60.	doi: 10.1152/physiolgenomics.00087.2020. Epub 2020 Dec 4.
6	Cheong J.-G., Ravishankar A., Sharma S., Parkhurst C.N., Nehar-Belaid D., Ma S., et al. Epigenetic memory of COVID-19 in innate immune cells and their progenitors. bioRxiv. 2022:2022.02.09.479588.	Cheong J.-G., Ravishankar A., Sharma S., Parkhurst C.N., Nehar-Belaid D., Ma S., et al. Epigenetic memory of COVID-19 in innate immune cells and their progenitors. bioRxiv. 2022:2022.02.09.479588.	<ul style="list-style-type: none"> • doi: • 10.1101/2022.02.09.479588

7	Costa LB, Perez LG, Palmeira VA, Macedo E Cordeiro T, Ribeiro VT, Lanza K, Simões E Silva AC. Insights on SARS-CoV-2 Molecular Interactions With the Renin-Angiotensin System. Front Cell Dev Biol. 2020 Sep 16;8:559841.	Costa LB, Perez LG, Palmeira VA, Macedo E Cordeiro T, Ribeiro VT, Lanza K, Simões E Silva AC. Insights on SARS-CoV-2 Molecular Interactions With the Renin-Angiotensin System. Front Cell Dev Biol. 2020 Sep 16;8:559841.	doi: 10.3389/fcell.2020.559841.
8	Hawkins ED, Oliaro J. CD46 signaling in T cells: linking pathogens with polarity. FEBS Lett. 2010 Dec 15;584(24):4838-44.	Hawkins ED, Oliaro J. CD46 signaling in T cells: linking pathogens with polarity. FEBS Lett. 2010 Dec 15;584(24):4838-44.	• doi: 10.1016/j.febslet.2010.09.003
9	Iba T, Levy JH. Thrombosis and thrombocytopenia in COVID-19 and after COVID-19 vaccination. Trends Cardiovasc Med. 2022 Jul;32(5):249-256.	Iba T, Levy JH. Thrombosis and thrombocytopenia in COVID-19 and after COVID-19 vaccination. Trends Cardiovasc Med. 2022 Jul;32(5):249-256.	doi: 10.1016/j.tcm.2022.02.008. Epub 2022 Feb 22.

10	Koch J, Uckeley ZM, Doldan P, Stanifer M, Boulant S, Lozach PY. TMPRSS2 expression dictates the entry route used by SARS-CoV-2 to infect host cells. EMBO J. 2021 Aug 16;40(16):e107821.	Koch J, Uckeley ZM, Doldan P, Stanifer M, Boulant S, Lozach PY. TMPRSS2 expression dictates the entry route used by SARS-CoV-2 to infect host cells. EMBO J. 2021 Aug 16;40(16):e107821.	doi: 10.15252/embj.2021107821. Epub 2021 Jul 13.
11	Le Friec G, Sheppard D, Whiteman P, Karsten CM, Shamoun SA, Laing A, Bugeon L, Dallman MJ, Melchionna T, Chillakuri C, Smith RA, Drouet C, Couzi L, Fremeaux-Bacchi V, Köhl J, Waddington SN, McDonnell JM, Baker A, Handford PA, Lea SM, Kemper C. The CD46-Jagged1 interaction is critical for human TH1 immunity. Nat Immunol. 2012 Dec;13(12):1213-21.	Le Friec G, Sheppard D, Whiteman P, Karsten CM, Shamoun SA, Laing A, Bugeon L, Dallman MJ, Melchionna T, Chillakuri C, Smith RA, Drouet C, Couzi L, Fremeaux-Bacchi V, Köhl J, Waddington SN, McDonnell JM, Baker A, Handford PA, Lea SM, Kemper C. The CD46-Jagged1 interaction is critical for human TH1 immunity. Nat Immunol. 2012 Dec;13(12):1213-21.	doi: 10.1038/ni.2454.

12	Leowattana W, Leowattana T, Leowattana P. Circulating angiotensin converting enzyme 2 and COVID-19. World J Clin Cases. 2022 Dec 6;10(34):12470-12483.	Leowattana W, Leowattana T, Leowattana P. Circulating angiotensin converting enzyme 2 and COVID-19. World J Clin Cases. 2022 Dec 6;10(34):12470-12483.	doi: 10.12998/wjcc.v10.i34.12470.
13	Li M, Guo W, Dong Y, Wang X, Dai D, Liu X, Wu Y, Li M, Zhang W, Zhou H, Zhang Z, Lin L, Kang Z, Yu T, Tian C, Qin R, Gui Y, Jiang F, Fan H, Heissmeyer V, Sarapultsev A, Wang L, Luo S, Hu D. Elevated Exhaustion Levels of NK and CD8 ⁺ T Cells as Indicators for Progression and Prognosis of COVID-19 Disease. Front Immunol. 2020 Oct 14;11:580237.	Li M, Guo W, Dong Y, Wang X, Dai D, Liu X, Wu Y, Li M, Zhang W, Zhou H, Zhang Z, Lin L, Kang Z, Yu T, Tian C, Qin R, Gui Y, Jiang F, Fan H, Heissmeyer V, Sarapultsev A, Wang L, Luo S, Hu D. Elevated Exhaustion Levels of NK and CD8 ⁺ T Cells as Indicators for Progression and Prognosis of COVID-19 Disease. Front Immunol. 2020 Oct 14;11:580237.	doi: 10.3389/fimmu.2020.580237.

14	Liszewski MK, Atkinson JP. Membrane cofactor protein (MCP; CD46): deficiency states and pathogen connections. <i>Curr Opin Immunol.</i> 2021 Oct;72:126-134.	Liszewski MK, Atkinson JP. Membrane cofactor protein (MCP; CD46): deficiency states and pathogen connections. <i>Curr Opin Immunol.</i> 2021 Oct;72:126-134.	doi: 10.1016/j.coi.2021.04.005. Epub 2021 May 15.
15	Liu W, Li H. COVID-19: Attacks the 1-beta Chain of Hemoglobin to disrupt respiratory function and escape immunity. 2022.	Liu W, Li H. COVID-19: Attacks the 1-beta Chain of Hemoglobin to disrupt respiratory function and escape immunity. 2022.	doi:10.26434/chemrxiv-2021-dtpv3-v12.
16	Masselli E, Vaccarezza M, Carubbi C, Pozzi G, Presta V, Mirandola P, Vitale M. NK cells: A double edge sword against SARS-CoV-2. <i>Adv Biol Regul.</i> 2020 Aug;77:100737.	Masselli E, Vaccarezza M, Carubbi C, Pozzi G, Presta V, Mirandola P, Vitale M. NK cells: A double edge sword against SARS-CoV-2. <i>Adv Biol Regul.</i> 2020 Aug;77:100737.	doi: 10.1016/j.jbior.2020.100737. Epub 2020 Jun 13.
17	Mitsuyama Y, Yamakawa K, Kayano K, Maruyama M, Wada T, Fujimi S. Prolonged enhancement of cytotoxic T	Mitsuyama Y, Yamakawa K, Kayano K, Maruyama M, Wada T, Fujimi S. Prolonged enhancement of cytotoxic	doi: 10.1186/s40560-021-00591-3.

	lymphocytes in the post-recovery state of severe COVID-19. J Intensive Care. 2021 Dec 20;9(1):76.	T lymphocytes in the post-recovery state of severe COVID-19. J Intensive Care. 2021 Dec 20;9(1):76.	
18	Munblit D, Nicholson T, Akrami A, Apfelbacher C, Chen J, De Groot W, Diaz JV, Gorst SL, Harman N, Kokorina A, Olliaro P, Parr C, Preller J, Schiess N, Schmitt J, Seylanova N, Simpson F, Tong A, Needham DM, Williamson PR; PC-COS project steering committee. A core outcome set for post-COVID-19 condition in adults for use in clinical practice and research: an international Delphi consensus study. Lancet Respir Med. 2022 Jul;10(7):715-724.	Munblit D, Nicholson T, Akrami A, Apfelbacher C, Chen J, De Groot W, Diaz JV, Gorst SL, Harman N, Kokorina A, Olliaro P, Parr C, Preller J, Schiess N, Schmitt J, Seylanova N, Simpson F, Tong A, Needham DM, Williamson PR; PC-COS project steering committee. A core outcome set for post-COVID-19 condition in adults for use in clinical practice and research: an international Delphi consensus study. Lancet Respir Med. 2022 Jul;10(7):715-724.	doi: 10.1016/S2213-2600(22)00169-2.

19	Ni Choileain S, Astier AL. CD46 processing: a means of expression. Immunobiology. 2012 Feb;217(2):169-75.	Ni Choileain S, Astier AL. CD46 processing: a means of expression. Immunobiology. 2012 Feb;217(2):169-75.	doi: 10.1016/j.imbio.2011.06.003 . Epub 2011 Jul 13.
20	Oliaro J, Pasam A, Waterhouse NJ, Browne KA, Ludford-Menting MJ, Trapani JA, Russell SM. Ligation of the cell surface receptor, CD46, alters T cell polarity and response to antigen presentation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Dec 5;103(49):18685-90.	Oliaro J, Pasam A, Waterhouse NJ, Browne KA, Ludford-Menting MJ, Trapani JA, Russell SM. Ligation of the cell surface receptor, CD46, alters T cell polarity and response to antigen presentation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Dec 5;103(49):18685-90.	doi: 10.1073/pnas.0602458103.
21	O'Mahoney LL, Routen A, Gillies C, Ekezie W, Welford A, Zhang A, Karamchandani U, Simms-Williams N, Cassambai S, Ardavani A, Wilkinson TJ, Hawthorne G, Curtis F, Kingsnorth	O'Mahoney LL, Routen A, Gillies C, Ekezie W, Welford A, Zhang A, Karamchandani U, Simms-Williams N, Cassambai S, Ardavani A, Wilkinson TJ, Hawthorne G, Curtis	doi: 10.1016/j.eclinm.2022.101762.

	<p>AP, Almaqhawi A, Ward T, Ayoubkhani D, Banerjee A, Calvert M, Shafran R, Stephenson T, Sterne J, Ward H, Evans RA, Zaccardi F, Wright S, Khunti K. The prevalence and long-term health effects of Long Covid among hospitalised and non-hospitalised populations: A systematic review and meta-analysis. <i>EClinicalMedicine</i>. 2022 Dec 1;55:101762.</p>	<p>F, Kingsnorth AP, Almaqhawi A, Ward T, Ayoubkhani D, Banerjee A, Calvert M, Shafran R, Stephenson T, Sterne J, Ward H, Evans RA, Zaccardi F, Wright S, Khunti K. The prevalence and long-term health effects of Long Covid among hospitalised and non-hospitalised populations: A systematic review and meta-analysis. <i>EClinicalMedicine</i>. 2022 Dec 1;55:101762.</p>	
22	<p>Pasini E, Corsetti G, Romano C, Scarabelli TM, Chen-Scarabelli C, Saravolatz L, Dioguardi FS. Serum Metabolic Profile in Patients With Long-Covid (PASC) Syndrome:</p>	<p>Pasini E, Corsetti G, Romano C, Scarabelli TM, Chen-Scarabelli C, Saravolatz L, Dioguardi FS. Serum Metabolic Profile in Patients With Long-Covid (PASC) Syndrome:</p>	<p>doi: 10.3389/fmed.2021.714426.</p>

	Clinical Implications. Front Med (Lausanne). 2021 Jul 22;8:714426.	Clinical Implications. Front Med (Lausanne). 2021 Jul 22;8:714426.	
23	Persson BD, John L, Rafie K, Strebl M, Frängsmyr L, Ballmann MZ, Mindler K, Havenga M, Lemckert A, Stehle T, Carlson LA, Arnberg N. Human species D adenovirus hexon capsid protein mediates cell entry through a direct interaction with CD46. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021 Jan 19;118(3):e2020732118.	Persson BD, John L, Rafie K, Strebl M, Frängsmyr L, Ballmann MZ, Mindler K, Havenga M, Lemckert A, Stehle T, Carlson LA, Arnberg N. Human species D adenovirus hexon capsid protein mediates cell entry through a direct interaction with CD46. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021 Jan 19;118(3):e2020732118.	doi: 10.1073/pnas.2020732118.
24	Rendeiro AF, Casano J, Vorkas CK, Singh H, Morales A, DeSimone RA, Ellsworth GB, Soave R, Kapadia SN, Saito K, Brown CD, Hsu J, Kyriakides C, Chiu S, Cappelli LV, Cacciapuoti MT, Tam W, Galluzzi L, Simonson PD,	Rendeiro AF, Casano J, Vorkas CK, Singh H, Morales A, DeSimone RA, Ellsworth GB, Soave R, Kapadia SN, Saito K, Brown CD, Hsu J, Kyriakides C, Chiu S, Cappelli LV, Cacciapuoti MT, Tam W, Galluzzi L,	doi: 10.26508/lsa.202000955.

	<p>Elemento O, Salvatore M, Inghirami G. Profiling of immune dysfunction in COVID-19 patients allows early prediction of disease progression. Life Sci Alliance. 2020 Dec 24;4(2):e202000955.</p>	<p>Simonson PD, Elemento O, Salvatore M, Inghirami G. Profiling of immune dysfunction in COVID-19 patients allows early prediction of disease progression. Life Sci Alliance. 2020 Dec 24;4(2):e202000955.</p>	
25	<p>Ruenjaiman V, Sodsai P, Kueanjinda P, Bunrasmee W, Klinchanhom S, Reantragoon R, Tunvirachaisakul C, Manothummetha K, Mejun N, Liengswangwong K, Torvorapanit P, Paitoonpong L, Pucharoen O, Palaga T, Hirankarn N; study team. Impact of SARS-CoV-2 infection on the profiles and responses of innate immune cells after recovery. J Microbiol Immunol Infect. 2022 Dec;55(6 Pt 1):993-1004.</p>	<p>Ruenjaiman V, Sodsai P, Kueanjinda P, Bunrasmee W, Klinchanhom S, Reantragoon R, Tunvirachaisakul C, Manothummetha K, Mejun N, Liengswangwong K, Torvorapanit P, Paitoonpong L, Pucharoen O, Palaga T, Hirankarn N; study team. Impact of SARS-CoV-2 infection on the profiles and responses of innate immune cells after recovery. J</p>	<p>doi: 10.1016/j.jmii.2022.09.001.</p>

		Microbiol Immunol Infect. 2022 Dec;55(6 Pt 1):993-1004.	
26	Soriano JB, Murthy S, Marshall JC, Relan P, Diaz JV; WHO Clinical Case Definition Working Group on Post-COVID-19 Condition. A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a Delphi consensus. Lancet Infect Dis. 2022 Apr;22(4):e102-e107.	Soriano JB, Murthy S, Marshall JC, Relan P, Diaz JV; WHO Clinical Case Definition Working Group on Post-COVID-19 Condition. A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a Delphi consensus. Lancet Infect Dis. 2022 Apr;22(4):e102-e107.	doi: 10.1016/S1473-3099(21)00703-9. Epub 2021 Dec 21.
27	Steenblock C, Toepfner N, Beuschlein F, Perakakis N, Mohan Anjana R, Mohan V, Mahapatra NR, Bornstein SR. SARS-CoV-2 infection and its effects on the endocrine system. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2023 Mar 5:101761.	Steenblock C, Toepfner N, Beuschlein F, Perakakis N, Mohan Anjana R, Mohan V, Mahapatra NR, Bornstein SR. SARS-CoV-2 infection and its effects on the endocrine system. Best Pract Res	doi: 10.1016/j.beem.2023.101761 .

		Clin Endocrinol Metab. 2023 Mar 5:101761.	
28	Stein KR, Gardner TJ, Hernandez RE, Kraus TA, Duty JA, Ubarretxena-Belandia I, Moran TM, Tortorella D. CD46 facilitates entry and dissemination of human cytomegalovirus. Nat Commun. 2019 Jun 20;10(1):2699.	Stein KR, Gardner TJ, Hernandez RE, Kraus TA, Duty JA, Ubarretxena-Belandia I, Moran TM, Tortorella D. CD46 facilitates entry and dissemination of human cytomegalovirus. Nat Commun. 2019 Jun 20;10(1):2699.	doi: 10.1038/s41467-019-10587-1.
29	Sumbalova Z, Kucharska J, Palacka P, Rausova Z, Langsjoen PH, Langsjoen AM, Gvozdjakova A. Platelet mitochondrial function and endogenous coenzyme Q10 levels are reduced in patients after COVID-19. BratislLekListy. 2022;123(1):9-15.	Sumbalova Z, Kucharska J, Palacka P, Rausova Z, Langsjoen PH, Langsjoen AM, Gvozdjakova A. Platelet mitochondrial function and endogenous coenzyme Q10 levels are reduced in patients after COVID-19. BratislLekListy. 2022;123(1):9-15.	doi: 10.4149/BLL_2022_002.

30	Verdecchia P, Cavallini C, Spanevello A, Angeli F. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. Eur J Intern Med. 2020 Jun;76:14-20.	Verdecchia P, Cavallini C, Spanevello A, Angeli F. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. Eur J Intern Med. 2020 Jun;76:14-20.	doi: 10.1016/j.ejim.2020.04.037. Epub 2020 Apr 20.
31	Wang C, Yu C, Jing H, Wu X, Novakovic VA, Xie R, Shi J. Long COVID: The Nature of Thrombotic Sequelae Determines the Necessity of Early Anticoagulation. Front Cell Infect Microbiol. 2022 Apr 5;12:861703.	Wang C, Yu C, Jing H, Wu X, Novakovic VA, Xie R, Shi J. Long COVID: The Nature of Thrombotic Sequelae Determines the Necessity of Early Anticoagulation. Front Cell Infect Microbiol. 2022 Apr 5;12:861703.	doi: 10.3389/fcimb.2022.861703.
32	Wenzhong L, Hualan L. COVID-19:Attacks the 1-Beta Chain of hemoglobin and captures the porphyrin to inhibit human heme metabolism. 2020	Wenzhong L, Hualan L. COVID-19:Attacks the 1-Beta Chain of hemoglobin and captures the porphyrin to inhibit human heme metabolism. 2020	doi:10.26434/chemrxiv.11938173.v9.

33	Wu Y, Huang X, Sun J, Xie T, Lei Y, Muhammad J, Li X, Zeng X, Zhou F, Qin H, Shao L, Zhang Q. Clinical Characteristics and Immune Injury Mechanisms in 71 Patients with COVID-19. mSphere. 2020 Jul 15;5(4):e00362-20	Wu Y, Huang X, Sun J, Xie T, Lei Y, Muhammad J, Li X, Zeng X, Zhou F, Qin H, Shao L, Zhang Q. Clinical Characteristics and Immune Injury Mechanisms in 71 Patients with COVID-19. mSphere. 2020 Jul 15;5(4):e00362-20	doi:10.1128/mSphere.00362-20.
----	---	---	-------------------------------