Раздел: КЛИНИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

***С.М. Костенко*[1], *И.А Тулинова*[1],**
***А.М Земсков*[2], *В.В. Хамбуров*[2], *Т.А. Муха*[1], *Д.С. Костенко*[2]**

Оценка функциональной активности интерлейкина 6 и ферритина как факторов формирования иммунного ответа при коронавирусной инфекции

[1]БУЗ ВО «ВОКЦПиБС», [2]ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России

Резюме. Дисрегулируемую иммунную систему, несбалансированную выработку цитокинов относят к особенностям воздействия вируса SARS-CoV-2 на организм человека. Иммунологические аспекты этой инфекции изучены в недостаточной мере. Основными биомаркерами прогноза течения новой коронавирусной инфекции являются интерлейкин-6 и ферритин. До настоящего времени не ясна их роль формировании противовирусного ответа. Поэтому, дальнейшее изучение клинических, патофизиологических и иммунологических вариантов течения новой коронавирусной инфекции является актуальным.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, интерлейкин 6, ферритин, врожденный иммунитет, адаптивный иммунный ответ.

Актуальность. Эффективный иммунный ответ против SARS-CoV-2 требует согласованной работы врожденной и адаптивной иммунных систем. Врожденная иммунная система, как первая линия защиты, отвечает за быстрое распознавание инфекции и запуск сигналов тревоги. Адаптивная иммунная система необходима для распознавания и уничтожения вирусной инфекции путем сотрудничества антиген-специфических иммунных реакций трех её компонентов – $CD4^+$ Т-клетки, $CD8^+$ Т-клетки, В-клетки. Понимание взаимодействия между SARS-CoV-2 и иммунной системой имеет большое значение для оценки патогенеза, прогрессирования заболевания, стратегий лечения и разработки вакцины против COVID-19 [1].

У пациентов с COVID-19 обычно наблюдаются аномальные гематологические изменения, включая снижение лейкоцитов, лимфопению и тромбоцитопению. Подавляющее большинство пациентов при поступлении имеют лимфоцитопению (83,2%), тогда как 36,2% имели тромбоцитопению, а 33,7% - лейкопению [2, 3].

Раннее высвобождение наряду с адекватной продукцией и правильной локализацией эффекторных клеток и противовирусных цитокинов связано с успешным контролем SARS-CoV-2 [4].

Моноциты, макрофаги, нейтрофилы, NK-клетки и дентритные клетки играют роль ключевых факторов гипервоспаления, наблюдаемой у пациентов с COVID-19 с тяжелым заболеванием. Дисрегулированная функция этих клеток, приводит к избыточной продукции цитокинов. Однако их вклад в острый врожденный ответ, который приводит к успешному контролю SARS-CoV-2, остается плохо изученным [5].

Отношение нейтрофилов к лимфоцитам (NLR) может служить фактором риска для прогнозирования ранней стадии COVID-19 у пациентов, чей возраст превышает 50 лет. Если NLR превышает 3,13, то прогноз менее благоприятный [6].

Если адаптивный иммунный ответ запаздывает, то летальное течение COVID-19, по-видимому, представляет собой ситуацию, когда вирусная нагрузка высока при

отсутствии существенного адаптивного иммунного ответа. Вполне вероятно, что врожденная иммунная система пытается заполнить вакуум, оставленный отсутствием Т-клеточного ответа, пытаясь контролировать вирус с помощью постоянно расширяющегося врожденного иммунного ответа. Это решение оказывается несостоятельным, поскольку массивный врожденный ответ приводит к чрезмерной иммунопатологии легких [7].

Одна из проблем, обсуждаемых в литературе заключается в том, что пациентам отделения интенсивной терапии (ОИТ) чаще всего выполняют исследования Т-клеток. Но это соответсвует поздней стадии заболевания и может затруднить интерпретацию результатов. Особый интерес представляет ситуация на ранних стадиях острого заболевания, когда SARS-CoV-2-специфические $CD4^+$ Т-клетки исследуются уже на 2-4-й день после появления симптомов. В частности, SARS-CoV-2-специфичные $CD4^+$ Т-клетки имели самую сильную связь с уменьшением тяжести заболевания COVID-19 по сравнению с антителами и $CD8^+$ Т-клетками. Быстрая индукция SARS-CoV-2-специфичных $CD4^+$ Т-клеток при остром COVID-19 была связана с легким заболеванием и ускоренным клиренсом вируса. Напротив, длительное отсутствие SARS-CoV-2-специфичных $CD4^+$ Т-клеток было связано с тяжелым или фатальным течением COVID-19 [8].

В основе развития новой коронавирусной инфекции лежат два иммунопатофизиологических синдрома: синдром активации макрофагов и синдром цитокинового шторма. Биомаркером первого является ферритин, второго – ИЛ-6.

В адаптивном иммунном ответе IL-6 играет критическую роль в В-клетках, индуцируя дифференцировку плазматических клеток и способность вырабатывать антитела. IL-6 играет важную роль в дифференцировке CD4-позитивных подмножеств Т-клеток [9].

IL-6 является важным фактором для развития Т-фолликулярных хелперных клеток (Tfh), которые необходимы для индукции образования зародышевого центра, где в В-клетках происходит рекомбинация с переключением классов и соматическая гипермутация, вызывающая выработку высокоаффинных антител [10].

Ферритин выполняет широкий спектр функций: хранение железа и поддержание концентрации клеточного железа, связывание железа, защита от окислительного стресса [11]. Значительная часть сывороточного ферритина образуется макрофагами [12, 13], в организме человека находится внутри клеток, а небольшое количество присутствует в сыворотке крови, где он может переносить железо. Уровень сывороточного ферритина часто используется для оценки содержания железа в организме, и он обычно используется в качестве диагностического фактора.

Гиперферритинемия (сывороточный ферритин ≥500 нг/мл) является потенциальным маркером для выделения подгруппы госпитализированных пациентов с подтвержденной инфекцией гриппа А, представляющее высокий риск развития неблагоприятных исходов, таких как дыхательная недостаточность, госпитализация в отделение интенсивной терапии или госпитальной смертности.

Сывороточные биомаркеры воспаления, интерлейкин-6, показатели свертываемости крови и ферритин указывают на потенциальную воспалительную бурю у большинства пациентов с тяжёлой формой COVID-19. Важный вопрос заключается в том, является ли ферритин медиатором или следствием воспаления. Ферритин, по-видимому, модулирует реакцию макрофагов на иммунные стимулы и играет важную роль в защите от окислительного стресса, вызванного железом [14].

Накопленные данные указывают на роль ферритина как сигнальной молекулы и прямого медиатора иммунной системы [15], может работать как иммуномодулирующая молекула, проявляя как провоспалительные, так и иммуносупрессивные функции [16].

Таким образом, новая коронавирусная инфекция требует изучения патофизиологических механизмов. Многочисленные исследования не дают однозначного ответа.

Цель работы – изучение роли интерлейкина 6 и ферритина в формировании врожденного и адаптивного иммунитета у больных новой коронавирусной инфекцией средней тяжести.

Материал и методы исследования. В работе использованы результаты обследования 63 пациентов новой коронавирусной инфекцией, госпитализированных в провизорный госпиталь БУЗ ВО «Воронежский областной клинический центр профилактики и борьбе со СПИД» в период с 1.12.2020 по 29.12.2020. Средний возраст пациентов составлял 53,3±1,5 лет. Среди них мужчин – 35, женщин – 28.

Клиническое исследование выполнено в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г., WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects (2013), Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266. Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

В первый день поступления в сиационар выполняли: компьютерную томографию органов грудной клетки, оценивали уровень сатурации крови кислородом, данные электрокардиографии. Выполняли биохимические, иммунологические, гематологические исследования.

Определение SARS-CoV-2 проводилось методом ПЦР. Общий анализ крови исследовался на гематологическом анализаторе (BC-5150 Mindray) и включал следующие показатели: лейкоциты, нейтрофилы, лимфоциты, моноциты, эозинофилы, базофилы, тромбоциты, эритроциты, гемоглобин.

Биохимические показатели (BS-120, Mindray) включали определение СРБ, АЛТ, АСТ, гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТ), общего белка, альбумина, мочевины, креатина, глюкозы, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), амилазы, билирубина, холестерина, мочевой кислоты. Иммунофенотипирование лимфоцитов выполняли на проточном цитометре. Применяли меченые моноклональные антитела CD3 конъюгированные с

FITC, CD16 и CD56 конъюгированные PE, CD45 конъюгированные ECD, CD8 конъюгированные PC7, CD4 и CD19 конъюгированные APC. Определялись следующие популяции лимфоцитов: $CD45^+CD3^+$ Т-лимфоциты, $CD45^+CD3^+CD4^+$ Т-хелперы, $CD45^+CD3^+CD8^+$ Т-цитотоксические, $CD45^+CD3\text{-}CD19^+$ В-лимфоциты, $CD45^+CD3\text{-}CD(16^+56)^+$ натуральные киллеры.

Ферритин определяли методом ИФА с помощью наборов Алкорбио РФ, ИЛ-6 методом ИФА с помощью наборов Вектор Бест РФ.

Статистический анализ выполняли с помощью прикладных статистических программ, расчитывали показатели описательной статистики. Количественные признаки представляли в виде медианы и межквартильного размаха (25-й и 75-й перцентили). Сравнение медиан в группах осуществляли с помощью теста Вилкоксона и критерия Манна-Уитни.

Все больные были разделены на 4 группы в зависимости от уровня ИЛ-6 и ферритина:

1 группа. ИЛ-6 нормальный уровень (до10 пг\мл) и ферритин нормальный уровень (до 350 нг/мл)- 21 пациент; мужчин -9, женщин – 12, средний возраст - 59±5,03 года.

2 группа. ИЛ-6 выше нормы (выше 10 пг/мл) и ферритин нормальный уровень (до 350 нг/мл) - 9 человек; мужчин – 2, женщин – 7, средний возраст – 57,0±5,8 лет.

3 группа. ИЛ-6 6 нормальный уровень (до 10 пг\мл) и ферритин выше нормы (выше 350 нг/мл) – 23 пациента; мужчин – 17, женщин – 6, средний возраст -53,0±2,8 года.

4 группа. ИЛ-6 высокий уровень (выше 10 пг\мл), ферритин выше нормы (выше 350 нг/мл) – 10 пациентов; мужчин – 7, женщин – 3, средний возраст – 45,0±10,43.

Полученные результаты и их обсуждение. Наиболее распространенными клиничесими симптомами при поступлении в тационар были лихорадка, кашель, слабость и одышка. Распределение частоты встречаемости по группам представлено в таблице 1.

Таблица1 – Частота встречаемости клинических симптомов в группах исследования

Симптом		группа 1 абс.(%)	группа 2 абс.(%)	группа 3 абс.(%)	группа 4 абс.(%)
Температура	свыше 40 С°	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
	39-40 С°	3 (14,28 %)	1 (11,11 %)	6 (26,08 %)	2 (20 %)
	38-39 С°	16 (76,19 %)	8 (88,89 %)	15 (65,22 %)	6 (60 %)
	менее 38С°	2 (9,52 %)	0 (0 %)	2 (8,7 %)	2 (20 %)
Кашель		20 (95,24 %)	8 (88,89 %)	23 (100 %)	8 (80 %)
Боли в горле		6 (28,57 %)	0 (0 %)	3 (13,4 %)	0 (0 %)
Слабость		16 (76,19 %)	9 (100 %)	23 (100 %)	9 (90 %)
Одышка		7 (33,33 %)	3 (33,33 %)	5 (21,74 %)	2 (20 %)
Потеря обоняния		4 (19,04 %)	0 (0 %)	4 (17,39 %)	1 (10 %)

В первой группе сопутствующими заболеваниями были: артериальная гипертензия у 23,8 % пациентов, сахарный диабет у 4,7%, ишемическая болезнь сердца у 14,2%. Во второй группе сопутствующими заболеваниями были: артериальная гипертензия у 22,2% пациентов, сахарный диабет у 11,7%, ишемическая

болезнь сердца у 11,1%. В третьей группе сопутствующими заболеваниями были: артериальная гипертензия у 30,4% пациентов, сахарный диабет у 21,7%, ишемическая болезнь сердца у 4,3%. В четвертой группе сопутствующими заболеваниями были: артериальная гипертензия у 30,0% пациентов, сахарный диабет у 10%, ишемическая болезнь сердца у 10,0%. (таблица № 2). Переведен в отделение интенсивной терапии в первой группе 2 пациент, во второй - 2 и в третьей – 1, четвертой - 1.

Таблица 2 – Сопутствующие заболевания в группах

Пациенты	ГБ	СД2	ИБС	ОНМК	Хр.бронхит	БА
1 группа	5 (23,8%)	1 (4,7%)	3 (14,2%)	0 (0%)	1 (4,7%)	1 (4,7%)
2 группа	2 (22,2%)	1 (11,7%)	1 (11,1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
3 группа	7 (30,4%)	5 (21,7%)	1 (4,3%)	0 (0%)	1 (4,3%)	0 (0%)
4 группа	3 (30,0%)	1- 10,0%)	1- 10,0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (10,0%)

Обозначения: ГБ – гипертоническая болезнь, СД2 – сахарный диабет 2-го типа, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, Хр. бронхит – хронический бронхит, БА – бронхиальная астма

Среднее время госпитализации составило 11 ± 0,39 дней. Объем повреждения легких в первой группе составил 25 ± 1,22%, во второй группе 19,78 ±2,2% и в третьей группе 27,91 ± 1,8%, в четвертой 25,9±2,31% (M ± m).

Пациенты получали лечение в соответствии с временными рекомендациями Министерства здравоохранения Российской Федерации. Назначались этиотропные препараты (Гидроксихлорин, Коронавир), превентивная противовоспалительная терапия и патогенетическое лечение, включая глюкокортикостероиды, низкомолекулярные гепарины, превентивная противовоспалительная терапия блокаторами Янус-киназ и ингибиторами IL-6 (Олумиант и моноклональные антитела (Тоцилизумаб и Артлегия)).

В первой группе 19% пациентов получали проактивное противовоспалительное лечение, во второй группе соответственно 44,5%, а в третьей группе 30,4% пациентов и в четвертой 70%. Больше пациентов имели различный уровень ферритина (нормальным и высоким), но с высоким содержанием ИЛ-6. В 4-й группе, где содержание интерлейкина и ферритина было, самым высоким, лечение получили 70% пациентов.

При расчете различий в параметрах между группами указана медиана, значения 1-го и 3-го квартилей (табл. 3).

Удельное содержание интерлейкина-6 в группах составило: 1 группа – 1,0 (0-3) пг/мл, 2 группа - 27,0 (20-38) пг/мл, 3 группа- 1,0 (0-3) пг/мл, 4 группа - 25,0 (14-39). Уровень ферритина в 1-й группе составил 182,5 (85-251,0) нг/мл, во второй – 281,0 (242,0-381,0) нг/мл, в 3-й – 500,0 (422,0 – 705,0) нг/мл и 4-й – 1065.0 (617,0 – 1708,5) нг/мл (табл. 3). Таким образом, содержание ферритина в четырех группах пациентов статистически увеличивалось – 182,0; 281,0; 500,0 и 1065 нг/мл - от малого к большему.

СРБ статистически отличался в группах с высоким уровнем содержания ферритина от групп с нормальным содержанием его. В первой группе он составил 22,0

мг/л (17,25 – 31,25), во второй – 42,0(23,0 – 49,0), в третьей - 46,0 (37,0 – 60,0) и в четвертой - 69,0 (37,0 – 69,0). Видна высокая связь СРБ с ферритином (табл.3).

Таблица 3 – Уровень основных биомаркеров в группах исследования

Статистический параметр	Группы исследования				Достоверность различий между группами
	1	2	3	4	
ИЛ-6					гр.1 - гр. 2: 0,005*; гр.1 - гр. 3: 0,81; гр.1 - гр. 4: 0,05*; гр.2 - гр. 3: 0,004*; гр.2 - гр. 4: 0,362; гр.3 - гр. 4: 0,05*
медиана ± ДИ	1±0,86	27±10,01	1±0,81	25±31	
кв.1 : кв.3	0 : 3	20 : 38	0 : 3	14 : 39	
Ферритин					гр.1 - гр. 2: 0,08*; гр.1 - гр. 3: 0,00004*; гр.1 - гр. 4: 0,005*; гр.2 - гр. 3: 0,007*; гр.2 - гр. 4: 0,003*; гр.3 - гр. 4: 0,09
медиана ± ДИ	182,5±37,03	281±34,31	500±152,42	1065±374,11	
кв.1 : кв.3	85 : 251	242 : 318	422,2 : 705	617 : 1708,5	
СРБ					гр.1 - гр. 2: 0,1; гр.1 - гр. 3: 0,001*; гр.1 - гр. 4: 0,059; гр.2 - гр. 3: 0,31; гр.2 - гр. 4: 0,12; гр.3 - гр. 4: 0,32
медиана ± ДИ	22±4,76	42±10,84	46±7,74	69±19,34	
кв.1 : кв.3	17,25 : 31,25	23 : 49	37 : 60	37 : 76	

Примечания: ДИ – доверительный интервал, кв. 1– квартиль 1 (25%); кв.3 – квартиль 3 (75%); * – различия статистически значимы при $p<0,05$

Абсолютное количество лейкоцитов в первой и третьей группах было достоверно самым низким, составив $3,63*10^9/л$ (2,82 - 5,01) и 5,12(3,77 – 5,98). Наиболее высокими были значения во второй 9,52 (7,51 –10,79) и четвертой 8,22(6,15 – 10,62) группах. Статистическая разница $P <0,05$. Видимо уровень ИЛ-6 определяет выраженность воспалительной реакции при НКИ. Такая же тенденция отмечается и в количестве нейтрофилов. Следует отметить, что статистически достоверно более высокие значения процентного содержания лимфоцитов во 2 и 4 группах, где уровень ИЛ-6 повышен, а уровень ферритина имеет разнонаправленную динамику.

В абсолютном количестве моноцитов были выявлены интересные тенденции. Так в 1 группе они составили - $0,165*10^9/л$ (0,097 - 0,277), во 2 гр. - 0,46 (0,32 - 0,63), в 3 гр. - 0,24 (0,12 - 0,345), в 4 гр. - 0,32 (0,28 - 0,515). Наименьшие значения выявлены в 1 и 3 группах, где количество ИЛ-6 низкое, а ферритина разное. Напротив, более высокие значения оказались во 2 и 4 группах, где ИЛ-6 высокий, а ферритин разный. Действие на атигенпрезинтирующие клетки, основное звено врожденного иммунитета у ИЛ-6 стимулирующее. Статистическая достоверность получена между 1 и 2 группами $P<0.005$. Статистически значимых различий содержания моноцитов в группах не выявлено.

Уровень иммунологичкеских показателей в группах исследдования праедставлен в таблице 4.

Т-лимфоциты абсолютные составили в 1 гр. - 0,459(0,353 - 1,083), во 2 гр. - 0,92 (0,710 - 0,957), в 3 гр. - 0,640 (0,436 - 0,788), в 4 гр. - 0,74 (0,607 - 1,064). Т-лимфоциты % составили в 1 гр.65,00 (45,00 - 71,00), во 2 гр. – 71 (64.0 – 76.0), в 3-й – 58,00 (50,0 – 69,0) и в 4-й – 69,0 (56,0 – 74,0).

Таблица 4 – Иммунологические показатели в исследуемых группах

Статистический параметр	Группы исследования				Достоверность различий между группами
	1	2	3	4	
Т-лимфоциты абс.					гр.1 - гр. 2: 0,264; гр.1 - гр. 3: 0,557; гр.1 - гр. 4: 0,295; гр.2 - гр. 3: 0,02; гр.2 - гр. 4: 0,602; гр.3 - гр. 4: 0,159;
медиана ± ДИ	0,459±0,19	0,92±0,1	0,64±0,1	0,74±0,3	
кв.1 : кв.3	0,353 : 1,083	0,71 : 0,957	0,436 : 0,788	0,607 : 1,064	
Т-лимфоциты %					гр.1 - гр. 2: 0,514; гр.1 - гр. 3: 0,909; гр.1 - гр. 4: 0,202; гр.2 - гр. 3: 0,02; гр.2 - гр. 4: 0,602; гр.3 - гр. 4: 0,159;
медиана ± ДИ	65±5,88	71±4,75	58±3,66	69±5,92	
кв.1 : кв.3	45 : 71	64 : 76	50 : 69	56,5 : 74	
Т-хелперы абс.					гр.1 - гр. 2: 0,339; гр.1 - гр. 3: 0,227; гр.1 - гр. 4: 0,218; гр.2 - гр. 3: 0,136; гр.2 - гр. 4: 0,449; гр.3 - гр. 4: 0,046;
медиана ± ДИ	0,268±0,12	0,5±0,08	0,263±0,07	0,53±0,2	
кв.1 : кв.3	0,225 : 0,517	0,464 : 0,651	0,205 : 0,343	0,37 : 0,764	
Т-хелперы %					гр.1 - гр. 2: 0,209; гр.1 - гр. 3: 0,079; гр.1 - гр. 4: 0,539; гр.2 - гр. 3: 0,07; гр.2 - гр. 4: 0,815; гр.3 - гр. 4: 0,01;
медиана ± ДИ	35,5±4,28	40±4,8	29±2,98	42±5,09	
кв.1 : кв.3	31 : 46	36 : 44	24,5 : 33,5	37,25 : 50	
Т-цитотокс. абс.					гр.1 - гр. 2: 0,462; гр.1 - гр. 3: 0,716; гр.1 - гр. 4: 0,654; гр.2 - гр. 3: 0,622; гр.2 - гр. 4: 0,978; гр.3 - гр. 4: 0,803;
медиана ± ДИ	0,164±0,07	0,27±0,05	0,249±0,06	0,19±0,12	
кв.1 : кв.3	0,1 : 0,399	0,243 : 0,313	0,139 : 0,385	0,146 : 0,367	
Т-цитотокс. %					гр.1 - гр. 2: 0,343; гр.1 - гр. 3: 0,141; гр.1 - гр. 4: 0,543; гр.2 - гр. 3: 0,684; гр.2 - гр. 4: 0,174; гр.3 - гр. 4: 0,507;
медиана ± ДИ	18,5±2,59	24±3,78	26±3,48	20,5±3,15	
кв.1 : кв.3	15,25 : 27	18 : 27	15,5 : 31	15 : 22,75	
CD4/CD8					гр.1 - гр. 2: 0,962; гр.1 - гр. 3: 0,482; гр.1 - гр. 4: 0,19; гр.2 - гр. 3: 0,531; гр.2 - гр. 4: 0,237; гр.3 - гр. 4: 0,108
медиана ± ДИ	1,95±0,31	1,63±0,5	1,21±0,46	2,22±0,76	
кв.1 : кв.3	1,267 : 2,534	1,481 : 2,571	0,929 : 1,779	1,919 : 3,107	
В-лимфоциты абс.					гр.1 - гр. 2: 0,028; гр.1 - гр. 3: 0,357; гр.1 - гр. 4: 0,49; гр.2 - гр. 3: 0,336; гр.2 - гр. 4: 0,109; гр.3 - гр. 4: 0,005
медиана ± ДИ	0,12±0,02	0,2±0,05	0,128±0,03	0,1±0,04	
кв.1 : кв.3	0,101 : 0,156	0,139 : 0,252	0,098 : 0,189	0,073 : 0,148	
В-лимфоциты %					гр.1 - гр. 2: 0,09; гр.1 - гр. 3: 0,333; гр.1 - гр. 4: 0,059; гр.2 - гр. 3: 0,738; гр.2 - гр. 4: 0,15; гр.3 - гр. 4: 0,435
медиана ± ДИ	13±1,78	17±3	15±1,81	20±3,97	
кв.1 : кв.3	8 : 15	11 : 20	11 : 17,5	15 : 22,75	
Натуральные киллеры абс.					гр.1 - гр. 2: 0,374; гр.1 - гр. 3: 0,678; гр.1 - гр. 4: 0,09; гр.2 - гр. 3: 0,268; гр.2 - гр. 4: 0,138; гр.3 - гр. 4: 0,059
медиана ± ДИ	0,199±0,07	0,2±0,05	0,24±0,05	0,12±0,05	
кв.1 : кв.3	0,159 : 0,339	0,116 : 0,233	0,164 : 0,31	0,094 : 0,171	
Натуральные киллеры %					гр.1 - гр. 2: 0,09; гр.1 - гр. 3: 0,723; гр.1 - гр. 4: 0,07; гр.2 - гр. 3: 0,0506; гр.2 - гр. 4: 0,5; гр.3 - гр. 4: 0,009
медиана ± ДИ	24±5,59	15±3,94	24±3,75	9,5±3,45	
кв.1 : кв.3	13 : 36,25	10 : 18	14,5 : 33	6,25 : 14,75	

Примечания: ДИ – доверительный интервал, кв. 1– квартиль 1 (25%); кв.3 – квартиль 3 (75%); * – различия статистически значимы при $p<0,05$

Количество Т-хелперов в абс. измерении составило в 1-й гр. – 0,268 (0,225 – 0,517), во 2-й -0,50 (0,464 – 0,651), в 3-й – 0,263 (0,205 – 0,343) и в 4-й – 0,53 (0,37 – 0,764). В процентном количестве уровень Т-хелперов было в 1-й гр. – 35,5 (31 – 46), во второй – 40,0 (36,0 – 44,0), в третьей – 29,0 (24,5– 33,5) и в четвертой – 42,0 (37,25 – 50,0). Ферритин вносит свой вклад в формирование Т-клеточного ответа (возможно супрессирующий). Так статистически достоверно отличались лишь две группы по Т-

лимфоцитам 2 и 3. 2 гр. - высокий ИЛ-6 и нормальный ферритин и 3 гр. - нормальный ИЛ-6 и высокий ферритин. По Т-хелперам - в 3 и 4. В третьей группе показатели Т-клеток и Т-хелперов были статистически значительно ниже. Возможно, ИЛ-6 вносит свой вклад в стимуляцию адаптивного Т-клеточного иммунитета, а ферриттин в подавлении (табл. 4). Коэффициент корреляции Спирмена между ферритином и Т-клетками - -0,50978, между ферритином и Т-хелперами - -0,476452 при Р <0,05.

Количество Т-цитотоксических лимфоцитов не отличалось во всех четырех группах.

В-лимфоциты абсолютные 1 гр. 0,120 (0,101-0,156), 2 гр. 0,20 (0,139-0,252), 3 гр. 0,128 (0,098-0,189), 4 гр. 0,10(0,073-0,148). 1 и 2 гр. Р = 0,028, 3 и 4 гр. Р = 0,005. Самые высокие показатели во второй группе нормальный ферритин и высокий ИЛ-6. Самые низкие в 4-й группе ИЛ-6 нормальный и высокий ферритин. Возможно, ферритин подавляет гуморальный иммунитет, а ИЛ-6 активирует.

Абсолютное количество натуральных киллеров в группах составило: в 1 гр.- 0,199 (0,159 - 0,339), во 2 гр. - 0,20 (0,20 - 0,116), в 3 гр. - 0,24 (0,164 - 0,310), в 4 гр. - 0,12 (0,094 - 0,171). В процентном количестве величины натуральных киллеров в этих группах показали следующие значения. В 1-й группе - 1 гр. - 24,00 (13,00 - 36,25), 2 гр. - 15,00 (10,00 - 18,00), 3 гр. - 24,00 (14,50 - 33,00), 4 гр. - 9,50 (6,25 - 14,75). Статистически достоверные различия нашли между 3 и 4 (Р=0,009) в абсолютных значениях. Самые низкие значения были в группе 4 (высокий ИЛ-6 и высокий ферритин), как в абсолютных, так и в процентных величинах. Видимо ферритин синергически вместе с ИЛ-6 подавляет это звено врожденного иммунитета.

Выводы. Проведенное исследование показало, что уровень интерлейкина 6 и ферритина влияет на формирование врожденного и адаптивного иммунитета у больных новой коронавирусной инфекцией средней степени тяжести. Вероятно, повышение интерлейкина 6 до медианного значения 27 пг/мл является необходимым фактором формирования полноценного противовирусного иммунитета при данной инфекции. Повышенный уровень ферритина около медианного значения 500 нг/мл подавляет некоторые звенья иммунитета и вероятно может служить снижению гипервоспалительного синдрома. Повышение этих биомаркеров выше этих цифр приводит к более тяжелому течению этого заболевания. Каждый инфекционный агент прописывает свой сценарий взаимодействия с иммунной системой. Будет ли это персистенция и дальнейшее распространение или гибель организма вместе с инфекционным агентом – это дуалистический выбор вируса и многоклеточного организма. Механизмы этого выбора требует уточнений.

Литература/ **References.**

1. SetteA, CrottyS. AdaptiveimmunitytoSARS-CoV-2 andCOVID-19. Cell. 2021; 184: 861-80.

2. Eastin C, Eastin T. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 inChina. J Emerg Med. 2020; 58: 711-2.

3. Qi Shen, Jie Li, Zhan Zhang, ShuangGuo, Qiuhong Wang, XiaoruiAn, Haocai Chang. COVID-19: systemic pathology and its implications for therapy.Int. J. Biol. Sci. 2022, Vol. 18, 386-408.

4. King C, Sprent J. Dual Nature of Type I Interferons in SARS-CoV-2-Induced Inflammation. Trends Immunol (2021) 42(4):312–22. doi: 0.1016/j.it.2021.02.003

5. Mistry P, Barmania F, Mellet J, Peta K, Strydom A, Viljoen IM, James W, Gordon S and Pepper

MS (2022) SARS-CoV-2 Variants, Vaccines, and Host Immunity.Front. Immunol. 12:809244.doi: 10.3389/fimmu.2021.809244

6. ShiSB, QinM, ShenB, CaiYL, LiuT, YangF, etal. Association of cardiacinjury with mortality in hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan,China. JamaCardiol. 2020; 5: 802-10.

7. Magleby, R., Westblade, L.F., Trzebucki, A., Simon, M.S., Rajan, M., Park, J.,Goyal, P., Safford, M.M., and Satlin, M.J. (2020). Impact of SARS-CoV-2 Viral Load on Risk of Intubation and Mortality Among Hospitalized Patients with Coronavirus Disease 2019. Clin. Infect. Dis. Published online June 30, 2020. https://doi.org/10.1093/cid/ciaa851.

8. Alessandro Sette and Shane Crotty. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. Cell 184, February 18, 2021, 861-880

9. SujinKang,Toshio Tanaka, Masashi Narazaki, and TadamitsuKishimoto.Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic.Immunity 50, April 16, 2019, 1007 – 1023.

10. Karnowski, A., Chevrier, S., Belz, G.T., Mount, A., Emslie, D., D'Costa, K., Tar linton, D.M., Kallies, A., and Corcoran, L.M. (2012). B and T cells collaborate inantiviral responses via IL-6, IL-21, and transcriptional activator and coactivator, Oct2 and OBF-1. J. Exp. Med. 209, 2049–2064.

11. Theil EC: Ferritin: the protein nanocage and iron biomineral in health and in disease. InorgChem 2013; 52:12223-12233.

12. Truman-RosentsvitM, BerenbaumD, SpektorLetal: Ferritinis secretedvia 2 distinctnonclassicalvesicularpathways. Blood 2018; 131:342-352

13. Cohen LA, Gutierrez L, Weiss A et al: Serum ferritin is derived primarily from macrophages through a no classical secretory pathway. Blood 2010; 116:1574-1584.

14. Mesquita G, Silva T, Gomes AC et al: H-Ferritin is essential for macrophages' capacity to store or detoxify exogenously added iron. SciRep 2020; 10:3061.

15. Kell DB, Pretorius E: Serum ferritin is an important inflammatory disease marker, as it is mainly a leakage product from damaged cells. Metallomics 2014; 6:748-773.

16. Jenifer Gomez-Pastora, Mitchell Weigand, James Kim, Xian Wu, Jacob Strayer, Andre F. Palmer, MaciejZborowski, Mark Yazer, Jeffrey J. Chalmers, William G. Lowrie. Hyperferritinemia in critically ill COVID-19 patients – Is ferritin the product of inflammation or a pathogenic mediator? Clinica ChimicaActa 509 (2020) 249–251

Abstract.

S.M.Kostenko1, I.A.Tulinova1, A.M.Zemskov2, V.V.Khamburov2, T.A.Mukha1, D.S.Kostenko2

ROLE OF IL-6 AND FERRITIN IN THE DEVELOPMENT OF IMMUNE RESPONSE IN THE MODERATE COURSE OF THE NOVEL CORONAVIRUS INFECTION

Voronezh Regional Clinical Centre for AIDS Prevention and Control1,

Voronezh State Medical University2

In 2020-2022, the pandemic of the novel coronavirus infection became the main medical, economic, and political concern in the world. Disregulated immune system, unbalanced cytokine production is one of the distinctive characteristics of SARS-CoV-2 influence on human organism. Immunological aspects of the infection are still understudied. The main prognostic biomarkers of the novel coronavirus infection course are Interleukin 6 and ferritin. Their role in the development of antiviral response is so far unclear. Thus, further studies of clinical, pathophysiological and immunological developmental variants of the novel coronavirus infection are currently important.

Keywords: novel coronavirus infection, Interleukin 6, ferritin, innate immunity, adaptive immune response

Сведения об авторах: Костенко Станислав Михайлович – к.м.н., заведующий иммунологической лабораторией БУЗ ВО «ВОКЦПиБС», kostenko@aidsvrn.ru, Тулинова Ирина Анатольевна - главный врач БУЗ ВО «ВОКЦПиБС», tulinova@aidsvrn.ru, Земсков Андрей Михайлович – д.м.н, профессор, заведующий кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, microbiologvgma@yandex.ru, Хамбуров Владимир Викторович –к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, kld@vrngmu.ru, Муха Татьяна Анатольевна – заместитель главного врача БУЗ ВО «ВОКЦПиБС», muha@aidsvrn.ru, Костенко Дмитрий Станиславович – студент ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко kostenko@aidsvrn.ru.