

РАЗДЕЛ: БИОХИМИЯ

*С.М. Костенко¹, И.А. Тулинова¹, С.В. Андрейас¹, Т.А. Муха^{1,2},
Н.В. Душкина¹, Е.Е. Зотова², Д.С. Костенко³*

Лабораторная оценка динамики гематологических и иммунологических показателей в процессе терапии новой коронавирусной инфекции ингибиторами янус-киназы

¹БУЗ ВО ВОКЦПиБС, ²ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, ³ФГБОУ ВО ВГУ

Резюме. Вирус SARS-CoV-2 вызывает сложные и разнонаправленные изменения в противовирусном иммунном ответе, как в начале заболевания, так и в течение его. При COVID-19 нарушается регуляция врожденной и адаптивной иммунных систем. Критические случаи COVID-19 характеризуются чрезмерной воспалительной реакцией, как в легких, так и в кровотоке. Гиперстимуляция воспалительными цитокинами рецепторов клеточной поверхности адаптивных иммунных клеток, таких как лимфоциты и моноциты, может вызывать парадоксальный иммуносупрессивный эффект. Гипервоспалительное повреждение с дополнительными иммунопарализующими эффектами на врожденные реакции организма-хозяина обеспечивают сложную последовательность нарушений регуляции, создавая хаос в системе взаимодействия определенного типа клеток, который приводит к изменению степени тяжести заболевания и варьируется в течение болезни. Ингибиторы янус-киназ Барицитиниб и Тофацитиниб применяются для лечения новой коронавирусной инфекции. Янус-киназа представляет собой семейство внутриклеточных нерецепторных тирозинкиназ, которые передают сигналы, опосредованные цитокинами. Блокада этих киназ может предотвращать патологическую выработку цитокинов и может значительно снизить переход в тяжелые и летальные формы COVID-19.

Ключевые слова: ингибиторы янус-киназы, врожденный и адаптивный иммунитет.

Актуальность. Вирус SARS-CoV-2 вызывает сложные и разнонаправленные изменения в противовирусном иммунном ответе, как в начале заболевания, так и в течение его. При COVID-19 нарушается регуляция врожденной и адаптивной иммунных систем. Врожденный иммунитет - это первая линия защиты от любого вторгающегося патогена, включая SARS-CoV-2. Широкий спектр врожденных иммунных клеток, включая макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, естественных киллеров, эозинофилы, базофилы и врожденные лимфоидные клетки, активируется во время любой инфекции. Ранние воспалительные реакции имеют решающее значение для ограничения репликации вируса. Коронавирусы разработали стратегии, позволяющие избежать распознавания врожденным иммунитетом, избегая активации толл-рецепторов и нарушая выработку интерферона-альфа. Критические случаи COVID-19 характеризуются чрезмерной воспалительной реакцией, как в легких, так и в кровотоке. В целом, хотя ранние врожденные иммуноопосредованные воспалительные реакции имеют решающее значение для защиты организма от вирусной инфекции, поздние неконтролируемые воспалительные реакции могут привести к повреждению тканей и как следствие к полиорганной недостаточности. При COVID-19 врожденная иммунная система не в состоянии обеспечить эффективный противовирусный ответ, одновременно вызывая потенциально опасные воспалительные реакции. Эта чрезмерно выраженная и нерегулируемая

воспалительная реакция характеризуется повышенными уровнями интерлейкина-6, интерлейкина-8, интерлейкина-10 и фактора некроза опухоли- α . Все эти цитокины могут предсказывать тяжесть заболевания и смертность.

Гиперстимуляция воспалительными цитокинами рецепторов клеточной поверхности адаптивных иммунных клеток, таких как лимфоциты и моноциты, может вызывать парадоксальный иммуносупрессивный эффект. Гипервоспалительное повреждение с дополнительными иммунопарализующими эффектами на врожденные реакции организма-хозяина обеспечивают сложную последовательность нарушений регуляции, создавая хаос определенного типа клеток, который приводит к изменению степени тяжести заболевания и варьируется в течение болезни [1-6].

Нейтрофилы играют защитную роль при бактериальных или грибковых инфекциях; однако их роль в вирусных инфекциях до конца не изучена. Возможно, нейтрофилы усиливают противовирусную защиту за счет взаимодействия с другими популяциями иммунных клеток, интернализации вируса и механизма уничтожения, высвобождения цитокинов, дегрануляции, окислительного взрыва и внеклеточных ловушек нейтрофилов. Нейтрофилы проявляют гипервоспалительную активность при COVID-19 и могут быть причиной значительного повреждения клеток. Повышенные уровни IL-6 индуцирует это патологическое действие нейтрофилов посредством передачи сигналов. Стимулированные IL-6 нейтрофилы могут подавлять активность Т-лимфоцитов посредством передачи сигналов о запрограммированной гибели с помощью лиганда PDL1 [7-9].

Кроме того, постоянно активированные нейтрофилы способствуют поддержанию гипервоспалительной реакции в легких за счет высвобождения цитокинов, как это наблюдается при инфекциях MERS и SARS-CoV-1. При заражении SARS-CoV-2 нейтрофилы вызывают гипервоспаление за счет усиленной дегрануляции первичных гранул и высвобождения провоспалительных цитокинов, которые могут вызывать серьезные повреждения альвеолярной ткани, независимо от цитопатического эффекта вируса [10].

Лимфопения встречается повсеместно у пациентов с COVID-19 со значительно сниженным абсолютным количеством Т-клеток и повышенными уровнями провоспалительных цитокинов (например, IFN- γ , IL-6, IL-8). Кроме того, Т-клетки имеют решающее значение для подавления сверхактивного врожденного иммунного ответа во время вирусной инфекции. Следовательно, потеря Т-клеток во время инфекции SARS-CoV-2 может привести к усилению воспаления [11-14].

Высокое соотношение нейтрофилов / лимфоцитов связаны с тяжестью заболевания. Экспрессия ACE2 значительно коррелирует с активацией нейтрофилов [15].

При многих вирусных заболеваниях и в частности при COVID-19 отмечается эозинопения. Количество эозинофилов восстанавливается ко времени выздоровления. Эозинопения может быть результатом одного или комбинации факторов, включая снижение продукции и / или высвобождения эозинофилов из костного мозга, усиление

секвестрации в сосудистой сети, усиление миграции в соматические ткани или снижение выживаемости в периферическое кровообращение. Точный механизм или механизмы, лежащие в основе эозинопении, связанной с COVID-19, в настоящее время остаются неясными. Среди этих возможных механизмов, которые могут привести к истощению эозинофилов это патологическое гипервоспаление (гиперцитокинемия) [16, 17].

При инфекции SARS-CoV-2 усиливается провоспалительная активность макрофагов, на что указывает повышенная экспрессия макрофагами воспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6) и хемокинов (CXCL10). Усиление провоспалительных факторов может привести к возникновению цитокинового шторма, который коррелировал с плохим прогнозом у пациентов с COVID-19. Макрофаги экспрессируют ACE2, TMPRSS2, однако вопрос о том, оказывают ли эти факторы синергический эффект в процессе вирусной инфекции, еще предстоит изучить. Инфекция SARS-CoV-2 может способствовать приобретению макрофагами профибротического фенотипа и приводить к фиброзу легких. Было показано, что активация ACE2 индуцирует противовоспалительные реакции в макрофагах [18-21].

Тромбоцитопения выявляется у 40% пациентов с COVID-19, причем частота варьируется в зависимости от тяжести заболевания. У больных с тяжелым течением количество тромбоцитов ниже, чем у пациентов с нетяжелой формой этой инфекции.

Коронавирусы могут непосредственно поражать клетки костного мозга, что приводит к аномальному гемопоэзу и может привести к снижению выработки тромбоцитов. Кроме того, подавление костного мозга может быть следствием индуцированной COVID-19 аберрантной продукции воспалительных цитокинов, которая вызывает иммунное повреждение легких с нарушением гемопоэтических клеток-предшественников и, следовательно, снижением первичной продукции тромбоцитов.

SARS-CoV-2 вызывает тромбоцитопению также из-за повышенного потребления тромбоцитов. Действительно, повреждение легочной ткани после вирусной инфекции и воспаления вызывает активацию и агрегацию тромбоцитов с образованием микротромбов, что приводит к потреблению тромбоцитов. Одной из причин снижения количества тромбоцитов может быть повышенная секреция биомаркеров свертывания крови, таких как D-димер, P-селектин, фибриноген и VWF, которые могут индуцировать гиперактивацию и агрегацию тромбоцитов после связывания с рецепторами тромбоцитов. В этом случае количество тромбоцитов может быть ниже, поскольку агрегированные тромбоциты не подсчитываются анализатором количества тромбоцитов [22-26].

Ингибиторы янус-киназ Барцитиниб и Тофацитиниб применяются для лечения новой коронавирусной инфекции. Янус-киназа представляет собой семейство внутриклеточных нерцепторных тирозинкиназ, которые передают сигналы, опосредованные цитокинами. Основная функция пути JAK-STAT заключается в передаче сигналов от рецепторов на клеточной мембране к ядру. Этот путь необходим

для функционирования цитокинов и факторов роста, что приводит к важным клеточным процессам, таким как пролиферация, дифференцировка иммунных клеток. Это необходимо для развития адекватного иммунного ответа. Ингибиторы, которые блокируют ферментативную активность янус-киназы (ИЯК), предложены в качестве нового типа иммуномодулирующих препаратов. При новой коронавирусной инфекции эти препараты могут предотвращать развитие «цитокинового шторма». Сигнальный каскад цитокинов требует только трех элементов (рецептор, киназа и фактор транскрипции). Каждый цитокин связывается со специфическим рецептором, который способствует активации специфических JAK и STAT; локализованные в рецепторе STAT фосфорилируются JAK, что приводит к их диссоциации от рецептора и транслокации в ядро, где они индуцируют экспрессию генов, чувствительных к цитокинам.

Когда в человеческий организм вторгаются бактерии и вирусы, иммунная система выделяет большое количество цитокинов. Чрезмерное и неконтролируемое высвобождение провоспалительных цитокинов способствует развитию синдрома «цитокинового шторма».

Барицитиниб и Тофацитиниб - это конкурентные ингибиторы киназы АТФ, который избирательно, эффективно и обратимо ингибирует JAK1 / JAK2. Подавляя JAK1 / JAK2, они внутриклеточно подавляют провоспалительный сигнал нескольких цитокинов, таких как IL-6, IL-12, IL-23 и IFN- γ . Эти препараты могут снизить гипервоспаление или так называемый цитокиновый шторм, вызванный SARS-CoV-2, что предотвращает повреждение легких и, возможно, других органов [27-32].

Материал и методы исследования. В исследовании участвовали 60 пациентов с новой коронавирусной инфекцией средней тяжести течения. Все получали стандартное лечение, включавшее антибиотики, глюкокортикостероиды и низкомолекулярные гепарины. Первая группа - группа сравнения (пациенты, не получавшие этиотропную и упреждающую противовоспалительную терапию). В нее включены 25 пациентов (мужчин - 10, женщин - 15). Средний возраст составил $50,26 \pm 5,46$ лет, сроки амбулаторного лечения $6,6 \pm 0,40$ дней, длительность госпитализации $11,2 \pm 0,91$ дней, длительность лихорадки $7,06 \pm 0,71$ дней, КТ ОГК $20,67 \pm 1,91\%$, длительность вирусоносительства $18,29 \pm 0,86$ дней, уровень сатурации крови кислородом $95,64 \pm 0,34\%$. Вторую группу составили 35 пациентов, которым была назначена терапия ингибиторами янус-киназы (Барицитиниб, Тофацитиниб). Мужчин - 17, женщин - 18. Средний возраст - $55,6 \pm 0,99$ года, сроки амбулаторного лечения $7,57 \pm 0,45$ дней, длительность госпитализации - $12,37 \pm 0,42$, длительность вирусоносительства - $18,97 \pm 0,56$ дня, сатурация крови кислородом - $94,55 \pm 0,31$, длительность лихорадки $9,29 \pm 0,65$ дней, КТ ОГК $30,49 \pm 1,55\%$. 2 пациента из этой группы были переведены в реанимационное отделение из-за ухудшения состояния. Барницитиниб или Тофацитиниб назначался в 1-2 дни госпитализации или на 7-8 дни от начала заболевания в стандартной дозировке. Барницитиниб - по 4 мг 1 р/сут в течение 7-14 дней. Тофацитиниб - по 10 мг 2 р/сут в течение 7-14 дней.

Больные обследовались в первый день госпитализации (1 период), 3-8 дни (2 период), и при выписке из стационара (3 период).

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 No 266. Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

В первый день поступления в стационар выполняли: компьютерную томографию органов грудной клетки, оценивали уровень сатурации крови кислородом, электрокардиографию. Выполняли биохимические, иммунологические, гематологические исследования. Определение вируса 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. 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: Т-лимфоциты (CD45+CD3+), Т-хелперы (CD45+CD3+CD4+), Т-цитотоксические (CD45+CD3+CD8+), В-лимфоциты (CD45+CD3-CD19+), натуральные киллеры (CD45+CD3-CD(16+56)+). Ферритин определяли методом ИФА с помощью наборов Алкорбио РФ. Интерлейкин 6 исследовали методом ИФА наборами «ВеторБест». Статистический анализ выполняли с помощью прикладных статистических программ, рассчитывали 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.

Полученные результаты и их обсуждение. Основными симптомами были лихорадка, кашель, слабость, одышка. Сопутствующие заболевания в первой группе представлены гипертонической болезнью у 9 человек, ишемической болезнью сердца у 4, сахарным диабетом 2 типа у 4 и последствиями острого нарушения мозгового кровообращения у 1 пациента. Сопутствующие заболевания во второй группе: гипертоническая болезнь - 14, ишемическая болезнь сердца - 5, сахарный диабет 2 типа - 2, последствий острого нарушения мозгового кровообращения в этой группе не зарегистрировано.

Таблица 1. Динамика основных биологических маркеров в исследуемых группах

| Показатель | 1 период | | 2 период | | 3 период | |
|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | 1.1 | 1.2 | 2.1 | 2.2 | 3.1 | 3.2 |
| Интерлейкин 6 пг/мл | 2,5 (0-6,0) | 1,0 (0-15,0) | 2,0 (1,0-5,0) | 11,0 (2,0-45,0) | 10,5 (5,0-45,0) | 18,5 (12,0-51,75) |
| Ферритин нг/мл | 237,0 (142,0-477,0) | 454,0 (245,0-920,0) | 415,5 (280,7-2022,5) | 647,0 (156,25-1612,5) | 547,0 (345,0-2330) | 252,0 (241,0-2740) |
| СРБ мг/л | 28,0 (20,0-47,5) | 40,0 (26,0-63,0) | 18,0 (12,0-29,0) | 34,0 (21,2-62,25) | 19,0 (11,0-29,0) | 14,0 (8,5-17,5) |

При анализе динамики основных биологических маркеров выявлен незначительный рост интерлейкина 6 и ферритина к моменту выписки. Более высокие цифры этих показателей у пациентов получавших терапию ингибиторами янус-киназ можно объяснить тяжестью состояния. Выявлено достоверное снижение СРБ в 3 периоде. Наименьшее значение оказалось во второй группе. Из этих данных, можно сделать вывод, что ингибиторы янус-киназ предупреждают сильное повышение интерлейкина 6 и ферритина. Эти препараты не дают развиваться синдромам «цитокинового шторма» и «активации макрофагов». Также они более выражено влияют на гипервоспалительную реакцию, достоверно снижая СРБ к моменту выписки (табл.1).

Динамика гематологических показателей отражает иммуносупрессивное действие вируса COVID-19. Количество лейкоцитов достоверно растет в трех изучаемых периодах, достигая самого высокого при выписке пациентов из стационара. У больных получавших ИЯК это значение несколько ниже, чем в контрольной группе. Такая же тенденция выявлена при анализе абсолютного и процентного содержания нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов в периферической крови (табл.2).

Таблица 2 - Гематологические показатели в исследуемых группах.

| Показатель | 1 период | 2 период | 3 период | | | |
|----------------------------------|-----------------------|----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | 1.1 | 1.2 | 2.1 | 2.2 | 3.1. | 3.2 |
| Лейкоциты 10 ⁹ /л | 5,4 (3,7-6,69) | 5,0 (3,74-7,0) | 8,54 (6,59-10,76) | 8,38 (7,39-11,72) | 10,2 (9,13-11,26) | 8,9 (7,7-10,48) |
| Нейтрофилы % | 69,4 (58,38-76,73) | 74,5 (66,0-80,5) | 73,8 (66,7-80,18) | 76,0 (67,3-85,0) | 72,2 (63,4-75,0) | 73,3 (70,4-75,8) |
| Нейтрофилы 10 ⁹ /л | 3,55 (2,41-4,9) | 3,76 (2,55-6,0) | 5,64 (4,23-8,16) | 6,6 (4,82-10,1) | 7,05 (5,6-8,25) | 6,36 (5,63-7,54) |
| Палочкоядерные нейтрофилы % | 5,0 (2,25-6,0) | 4,5 (3,0-6,0) | 4,0 (2,0-5,0) | 3,0 (2,0-4,0) | 3,0 (2,0-4,0) | 3,0 (2,0-4,0) |
| Лимфоциты % | 23,7 (16,6-35,1) | 21,65 (13,2-30,5) | 17,6 (13,6-25,83) | 14,6 (10,4-26,7) | 19,5 (16,5-26,1) | 20,3 (16,05-21,6) |
| Лимфоциты 10 ⁹ /л | 1,2 (0,86-1,44) | 1,09 (0,82-1,34) | 1,55 (0,99-2,3) | 1,47 (0,92-2,01) | 1,94 (1,44-2,6) | 1,63 (1,33-2,13) |
| Соотношение нейтроф./лимф. | 2,85 (1,7-4,9) | 3,47 (2,2-6,0) | 4,3 (2,6-6,0) | 5,37 (2,5-8,2) | 3,8 (2,5-4,5) | 3,6 (3,3-4,7) |
| Моноциты % | 5,0 (3,2-8,5) | 4,1 (2,8-6,5) | 6,9 (5,9-8,2) | 5,5 (4,2-6,7) | 6,8 (5,3-9,5) | 6,4 (5,1-7,7) |
| Моноциты 10 ⁹ /л | 0,27 (0,13-0,45) | 0,23 (0,14-0,32) | 0,57 (0,4-0,73) | 0,51 (0,37-0,64) | 0,68 (0,54-0,82) | 0,56 (0,43-0,71) |
| Эозинофилы % | 0,1 (0-0,4) | 0 (0-0,1) | 0 (0-0,18) | 0 (0-0,18) | 0,15 (0-1,35) | 0,3 (0-0,65) |
| Эозинофилы 10 ⁹ /л | 0,005 (0-0,01) | 0 (0-0) | 0 (0-0,01) | 0 (0-0,01) | 0,015 (0-0,133) | 0,03 (0-0,055) |
| Базофилы % | 0,3 (0,18-0,43) | 0,2 (0,1-0,3) | 0,2 (0,1-0,4) | 0,2 (0,1-0,4) | 0,2 (0,1-0,43) | 0,2 (0,1-0,4) |
| Базофилы 10 ⁹ /л | 0,015 (0,01-0,023) | 0,01 (0,0-0,02) | 0,02 (0,01-0,04) | 0,02 (0,01-0,05) | 0,025 (0,01-0,033) | 0,02 (0,01-0,04) |
| СОЭ мм/ч | 7 (5-15) | 15,0 (6-25,5) | 14,0 (10,75-16,25) | 19,5 (11-25) | 16,0 (9,5-22,0) | 12,0 (8,5-24,25) |
| Эритроциты 10 ⁹ /л | 4,5 (4,2-4,8) | 4,5 (4,2-4,9) | 4,6 (4,5-4,8) | 4,4 (4,2-4,9) | 4,3 (4,2-4,6) | 4,6 (4,3-4,9) |
| Гемоглобин | 138 (129-147) | 133,5 (126,3-149) | 135,5 (128,3-142,8) | 133,0 (125,3-147,0) | 133,5 (127,0-150,5) | 136,5 (127,3-154,3) |

Процентное значение лимфоцитов оказалось наиболее высоким в первый день госпитализации, затем снижаются в 3-8 дни, увеличиваясь в последние дни госпитализации. Отношение нейтрофилов к лимфоцитам достигало максимальных значений на 3-8 дню, значительно снижаясь при выписке из стационара. Вирус SARS-CoV-2 в начале заболевания подавляет врожденный иммунитет. При благоприятном течении средней формы заболевания происходит резкая активация многих звеньев врожденного иммунитета. Ингибиторы янус-киназ модулируют врожденный иммунный противовирусный ответ, снижая гипервоспалительный потенциал вируса COVID-19, тем самым предотвращая переход в более тяжелую форму заболевания.

Оценка динамики иммунологических показателей выявила следующую закономерность (табл.3). В первый день самые низкие цифры, как в процентном, так и в абсолютных значениях у Т-клеток и Т-хелперов. Затем происходит достоверный рост этих показателей, достигая максимума к моменту выписки из стационара. Такая же тенденция прослеживается и в динамике В-лимфоцитов. В динамике натуральных киллеров происходят противоположные изменения.

Таблица 3 – Иммунологические показатели в исследуемых группах

| Показатель | 1 период | | 2 период | | 3 период | |
|---|----------------------|---------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | 1.1 | 1.2 | 2.1 | 2.2 | 3.1. | 3.2 |
| Т-лимфоциты % | 65,0 (55,0-72,0) | 60 (56-70) | 69,0 (65,75-74,0) | 69 (65,25-74,25) | 70,5 (66,0-77,25) | 73,5 (66,25-80,25) |
| Т-лимфоциты 10 ⁹ /л | 0,75 (0,59-0,90) | 0,63 (0,49-0,79) | 1,19 (0,70-1,5) | 1,09 (0,61-1,39) | 1,38 (1,22-1,91) | 1,40 (0,93-1,84) |
| Т-хелперы % | 34,5 (29,75-43,5) | 34,0 (25,0-39,0) | 41,75 (34,0-53,75) | 45,0 (35,5-52,0) | 49,0 (33,0-51,25) | 47,5 (38,5-57,25) |
| Т-хелперы 10 ⁹ /л | 0,38 (0,34-0,49) | 0,31 (0,21-0,47) | 0,71 (0,45-0,81) | 0,55 (0,38-0,99) | 0,84 (0,73-1,1) | 0,84 (0,67-1,31) |
| Т-цитотоксические % | 22,0 (17,5-28,25) | 25,0 (17,0-32,0) | 22,5 (17,5-34,25) | 23,0 (15,5-27,25) | 23,0 (15,0-30,0) | 19,0 (16,5-26,0) |
| Т-цитотоксические 10 ⁹ /л | 0,27 (0,17-0,35) | 0,22 (0,17-0,29) | 0,38 (0,23-0,58) | 0,31 (0,21-0,46) | 0,47 (0,29-0,61) | 0,38 (0,28-0,47) |
| В-лимфоциты % | 12,0 (8,0-15,0) | 11,0 (10,0-14,0) | 16,0 (10,0-21,25) | 18,0 (16,0-21,0) | 15,0 (12,25-16,25) | 16,0 (8,25-22,75) |
| В-лимфоциты 10 ⁹ /л | 0,12 (0,11-0,15) | 0,10 (0,07-0,16) | 0,23 (0,14-0,36) | 0,25 (0,20-0,30) | 0,29 (0,19-0,31) | 0,29 (0,17-0,45) |
| Натуральные киллеры % | 24,0 (11,0-35,5) | 24,0 (13,0-37,0) | 14,5 (8,25-19,75) | 11,0 (9,75-14,5) | 10,5 (7,0-16,0) | 9,0 (6,76-10,5) |
| Натуральные киллеры 10 ⁹ /л | 0,28 (0,14-0,44) | 0,29 (0,10-0,43) | 0,27 (0,13-0,30) | 0,18 (0,12-0,20) | 0,24 (0,18-0,30) | 0,18 (0, 8-0,22) |

В первые дни госпитализации количество этих клеток врожденного иммунитета самое высокое. В дальнейшем происходит снижение, наиболее выраженное при выписке из стационара (табл.3). Таким образом, при естественном течении средней формы новой коронавирусной инфекции происходит восстановление адаптивного иммунитета к моменту выздоровления. Это возможно связано с элиминацией вируса ко времени выписки из стационара.

Количество тромбоцитов достоверно растет к моменту выписки из стационара. Но у пациентов второй группы оно статистически достоверно не столь высоко. Ингибиторы янус-киназ предотвращают значительное повышение тромбоцитов, что

может служить профилактикой тромбозов в постковидном периоде. Растет также и количество крупных тромбоцитов и тромбокрит (табл.4).

Таблица 4 - Тромбоцитарные показатели в исследуемых группах и периодах.

| Показатель | 1 период | | 2 период | | 3 период | |
|--|-----------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|--------------------------|
| | 1.1 | 1.2 | 2.1 | 2.2 | 3.1. | 3.2 |
| Тромбоциты 10 ⁹ /л | 184 (151-216) | 166,5 (147,75-217,5) | 303 (225-342) | 218,5 (192,25-253,5) | 290 (251-371) | 259,5 (231,25-314,75) |
| Средний объем тромбоцитов (MRV) | 9,95 (9,48-10,73) | 10,5 (9,98-11,1) | 9,8 (8,9-10,5) | 10,1 (9,4-10,9) | 9,55 (8,9-9,9) | 10,2 (9,3-10,5) |
| Ширина распределения тромбоцитов (PDW) | 15,9 (15,8-16,2) | 16,0 (15,8-16,23) | 16,1 (15,9-16,35) | 16,2 (16,1-16,3) | 16,1 (15,85-16,2) | 16,3 (16,1-16,3) |
| Тромбокрит – доля объема крови занимаемая тромбоцитом (PCT) | 1,9 (1,58-2,19) | 1,77 (1,59-2,2) | 2,75 (2,3-3,2) | 2,32 (1,9-2,9) | 2,58 (2,4-3,3) | 2,54 (2,3-3,0) |
| Количество крупных тромбоцитов (P-LCC) | 53,5 (45,75-56,25) | 52,0 (44,5-62,25) | 70,0 (59,0-84,0) | 62,0 (50,75-75,5) | 64,0 (52,5-77,0) | 69,0 (61,75-74,25) |
| Коэффициент больших тромбоцитов (P-LCR) | 28 (24-32) | 30 (26-34) | 25 (21-31) | 29 (24-33) | 24 (19-27) | 28 (23-31) |

Выводы. Ингибиторы янус-киназы оказывают предупреждающее действие в развитии аномальной гипервоспалительной реакции, модулируют противовирусный иммунный ответ. При средней форме течения они увеличивают число благоприятных исходов новой коронавирусной инфекции (выздоровление), учитывая то, что назначаются эти препараты при наличии более выраженных симптомах.

Литература / References.

1. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan. China Lancet. 2020;395(10223):497–506.
2. Karki R, Kanneganti TD. The “cytokine storm”: molecular mechanisms and therapeutic prospects. Trends Immunol. 2021;42(8):681–705.
3. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, et al. Immunology of COVID-19: current state of the science. Immunity. 2020;52(6):910–41.
4. Karki R, Sharma BR, Tuladhar S, Williams EP, Zalduondo L, Samir P, et al. Synergism of TNF-alpha and IFN-gamma triggers inflammatory cell death, tissue damage, and mortality in SARS-CoV-2 infection and cytokine shock syndromes. Cell. 2021;184(1):149-68.e17.
5. Karki R, Lee S, Mall R, Pandian N, Wang Y, Sharma BR, et al. ZBP1- dependent inflammatory cell death, PANoptosis, and cytokine storm disrupt IFN therapeutic efficacy during coronavirus infection. Sci Immunol. 2022;7(74)
6. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang H-H, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. Nat Med 2020;26(10):1636–43.
7. B. Tomar, H.-J. Anders, J. Desai, S.R. Mulay. Neutrophils and neutrophil extracellular traps drive necroinflammation in COVID-19. Cells. 9 (2020) 1383.
8. Turnbull IR, Fuchs A, Remy KE, Kelly MP, Frazier EP, Ghosh S, et al. Dysregulation of the

leukocyte signaling landscape during acute COVID-19. *PLoS One* 2022; 17(4):e0264979.

9. Gustine JN, Jones D. Immunopathology of hyperinflammation in COVID-19. *Am J Pathol* 2021;191(1):4–17.

10. Z. Parackova, I. Zentsova, M. Bloomfield, P. Vrabcova, J. Smetanova, A. Klocperk, G. Mesežnikov, L.F. Casas Mendez, T. Vymazal, A. Sediva. Disharmonic inflammatory signatures in COVID-19 Augmented neutrophils' but impaired monocytes' and dendritic cells' responsiveness. *Cells*. 9 (2020) 2206.

11. Mahmoudi S, Yaghmaei B, Sharifzadeh Ekbatani M, et al. Effects of coronavirus disease 2019 (COVID-19) on peripheral blood lymphocytes and their subsets in children: imbalanced CD4+/CD8+ T cell ratio and disease severity. *Front Pediatr*. 2021;9:643299.

12. Darif D, Hammi I, Kihel A, et al. The pro-inflammatory cytokines in COVID-19 pathogenesis: what goes wrong? *Microb Pathog*. 2021;153:104799.

13. Kim KD, Zhao J, Auh S, et al. Adaptive immune cells temper initial innate responses. *Nat Med*. 2007;13:1248–1252.

14. Palm NW, Medzhitov R. Not so fast: adaptive suppression of innate immunity. *Nat Med*. 2007;13:1142–1144.

15. Liu J, Li S, Liu J, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *EBioMedicine*. 2020;55:102763.

16. Lindsley AW, Schwartz JT, Rothenberg ME. Eosinophil responses during COVID-19 infections and coronavirus vaccination. *Allergy Clin Immunol*. 2020; 146 : 1–7.

17. Helene F. Rosenberg1, Paul S. Foster. Eosinophils and COVID-19: diagnosis, prognosis, and vaccination strategies. *Semin Immunopathol*. 2021; 43(3): 383-392.

18. Merad M, Martin JC. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nat Rev Immunol*. 2020;20:355–362.

19. Zhou Y, Fu B, Zheng X, et al. Pathogenic T-cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storms in severe COVID-19 patients. *Natl Sci Rev*. 2020;7 (6):998–1002.

20. Zhang D, Guo R, Lei L, et al. Frontline science:COVID-19 infection induces readily detectable morphologic and inflammation-related phenotypic changes in peripheral blood monocytes. *J Leukocyte Biol*. 2021;109(1):13–22.

21. Pantazi I, Al-Qahtani A.A., Alhamlan F.S., Alotheid H., Matou-Nasri S., Sourvinos G., Vergadi E., Tsatsanis C. SARS-CoV-2/ACE2 Interaction Suppresses IRAK-M Expression and Promotes Pro-Inflammatory Cytokine Production in Macrophages. *Front. Immunol*. 2021, 12, 683800.

22. Yang M., Ng M.H.L, Li C.K. Thrombocytopenia in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome (Review). *Hematology* 2005, 10, 101–105.

23. Xu P., Zhou Q., Xu J. Mechanism of Thrombocytopenia in COVID-19 Patients. *Ann. Hematol*. 2020, 99, 1205–1208.

24. Liu Y, Sun W, Guo Y, Chen L, Zhang L, Zhao S, et al. Association between platelet parameters and mortality in coronavirus disease 2019: retrospective cohort study. *Platelets*. 2020 May; 31(4): 490–6.

25. Zhang Y, Zeng X, Jiao Y, Li Z, Liu Q, Ye J, et al. Mechanisms involved in the development of thrombocytopenia in patients with COVID-19. *Thromb Res*. 2020 Sep; 193: 110–5.

26. Yang X, Yang Q, Wang Y, Wu Y, Xu J, Yu Y, et al. Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with COVID-19. *J Thromb Haemost*. 2020 Jun; 18(6): 1469–72.

27. M.M. Zegeye, L. Madelene, F. Knut, et al. Activation of the JAK/STAT3 and PI3K/ AKT pathways are crucial for IL-6 trans-signaling-mediated pro-inflammatory response in human vascular endothelial cells, *Cell Commun. Signal*. 16 (1) (2018) 55.

28. J.J. O'Shea, D.M. Schwartz, A.V. Villarino, et al. The JAK-STAT pathway: impact on human disease and therapeutic intervention, *Annu. Rev. Med*. 66 (2015) 311–328.

29. P.C. Taylor, E.C. Keystone, Désirée van der Heijde, et al. Baricitinib versus placebo or adalimumab in rheumatoid arthritis, *N. Engl. J. Med*. 376 (7) (2017) 652–662.

30. M. Gadina, C. Johnson, D. Schwartz, et al., Translational and clinical advances in JAK-STAT biology: the present and future of jakinibs, *J. Leukoc. Biol*. 104 (3) (2018) 499–514.

31. Vincenzo Bronte, Stefano Ugel, Elisa Tinazzi. Baricitinib restrains the immune dysregulation in

patients with severe COVID-19 J Clin Invest. 2020;130(12):6409-6416.

32. Yoshiya Tanaka, Yiming Luo, John J. O'Shea, Shingo Nakayamada Janus kinase-targeting therapies in rheumatology: a mechanisms-based approach. Nat Rev Rheumatol 18, 133-145 (2022).

Abstract.

**S.M.Kostenko¹, I.A.Tulinova¹, S.V.Andreas¹, N.V.Dushkina¹,
T.A. Mukha^{1,2}, E.E. Zotova², D.S.Kostenko³**

Laboratory assessment of the dynamics of hematological and immunological parameters during the treatment of a new coronavirus infection with Janus kinase inhibitors

¹Voronezh Regional Clinical Center for AIDS Prevention and Control,

²Voronezh State Medical University, ³Voronezh State University

The SARS-CoV-2 virus causes complex and multidirectional changes in the antiviral immune response, both at the beginning of the disease and during it. With COVID-19, the regulation of the innate and adaptive immune systems is disrupted. Critical cases of COVID-19 are characterized by an excessive inflammatory reaction, both in the lungs and in the bloodstream. Hyperstimulation by inflammatory cytokines of the cell surface receptors of adaptive immune cells, such as lymphocytes and monocytes, can cause a paradoxical immunosuppressive effect. Hyperinflammatory damage with additional immunoparalyzing effects on the innate reactions of the host organism provides a complex sequence of regulatory disorders, creating chaos of a certain type of cells, which leads to a change in the severity of the disease and varies during the course of the disease. Janus kinase inhibitors baricitinib and tofacitinib are used to treat a new coronavirus infection. Janus kinase is a family of intracellular non-receptor tyrosine kinases that transmit cytokine-mediated signals. Blockade of these kinases can prevent the pathological production of cytokines and can significantly reduce the transition to severe and lethal forms of COVID-19.

Keywords: janus kinase inhibitors, innate and adaptive immunity.

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; Андрейас Сергей Викторович – зам. гл. врача БУЗ ВО «ВОКЦПиБС», z_org@aidsvrn.ru; Душкина Наталья Викторовна - зам. гл. врача БУЗ ВО «ВОКЦПиБС», z_med@aidsvrn.ru; Муха Татьяна Анатольевна – зам. гл. врача БУЗ ВО «ВОКЦПиБС», muha@aidsvrn.ru; Зотова Елена Евгеньевна – к.хим.н., доц. каф. клинической и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, zotova1109@yandex.ru; Костенко Дмитрий Станиславович – ординатор ФГБОУ ВО ВГУ, kostenko.dmitrij2012@yandex.ru.