Пензенский институт усовершенствования врачей – филиал
федерального государственного автономного образовательного учреждения
дополнительного профессионального образования «Российская медицинская
академия непрерывного профессионального образования»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

БОЛГОВА Александра Игоревна

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ И ИСХОДОВ COVID-19 НА ОСНОВАНИИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРОВ

3.1.22. Инфекционные болезни
Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
кандидат медицинских наук, доцент
Лесина Ольга Николаевна

Пенза – 2026 г

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение……..……6
Глава 1. Обзор литературы……...25
1.1. Актуальность……...25
1.2. Этиология COVID-19…….....27
1.3. Эпидемиология COVID-19……29
1.4. Клинические проявления……..……31
1.5. Основные лабораторные показатели оценки течения и прогноза COVID-19…… 34
1.6. Роль генетики и генетически-опосредованная тяжесть COVID-19…….41
Глава 2. Материалы и методы исследования……..52
2.1. Характеристика исследованных больных ……52
2.2. Методы обследования……55
2.2.1. Общеклинические методы обследования…….55
2.2.2. Иммунологические и генетические методы…….56
2.3. Методы статистической обработки …….……63
Глава 3. Клинические и лабораторные особенности COVID-19 у пациентов в зависимости от степени тяжести заболевания, пола, возраста и их прогностическое значение……64
3.1. Особенности клинико-лабораторных проявлений COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания ……..…….66
3.1.1. Клиническая характеристика пациентов в зависимости от степени тяжести COVID-19 ……..… 66
3.1.2. Характеристика лабораторных показателей у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19…….. 81
3.2. Особенности клинико-лабораторных показателей COVID-19 в зависимости от пола……..87
3.3 Возрастные особенности клинических проявлений и лабораторных показателей при COVID-19…….....…… 96
3.3.1. Изучение клинических особенностей в зависимости от возраста……..97

Глава 4. Характеристика иммунологических показателей и генетических полиморфизмов у пациентов с COVID-19……106
4.1. Характеристика иммунологических показателей у пациентов с COVID-19 ……..106
4.2. Роль носительства определенных генетических полиморфизмов некоторых интерлейкинов и Toll-like рецепторов при COVID-19……...114
ГЛАВА 5. Математическое моделирование прогноза тяжести течения и исходов COVID19……...122
5.1. Разработка модели прогнозирования степени тяжести COVID-19…….122
5.2. Разработка модели прогнозирования исхода COVID-19……..129
Заключение ……..137
Выводы…….156
Практические рекомендации ……157
Перспектива дальнейшей разработки темы……..159
Список литературы…….159

Список используемых сокращений

CD4 –кластер дифференцировки 4

CD8 - кластер дифференцировки 8

CD16 - кластер дифференцировки 16

CD19 - кластер дифференцировки 19

COVID-19 – короновирусная инфекционная болезнь-19

Ig G – иммуноглобулин G

I max - нормированная максимальная интенсивность свечения нейтрофилов

IL-1 – интерлейкин-1

IL-1α – интерлейкин-1α

IL-1β – интерлейкин-1β

IL-2 – интерлейкин-2

IL-4 – интерлейкин-4

IL-6 – интерлейкин-6

IL-8 – интерлейкин-8

IL-10 – интерлейкин-10

IL-18 – интерлейкин-18

IFN-γ – интерферон- γ

Ка - коэффициент активации

NLR - нейтрофильно – лимфоцитарный индекс

PPs - количество импульсов света в секунду времени в пересчете на миллион нейтрофилов

Sспонт., Sстим - нормированная светосумма спонтанной и ФМА+фМЛФ-стимулированной продукции нейтрофилов

TNF-α – фактор некроза опухоли- α

TLR2 – Toll-like-2

TLR9 - Toll-like-9

АПК – антигенпрезентирующие клетки

АФК – активная форма кислорода

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГБ – гипертоническая болезнь

ДК – дендритные клетки

ДН – дыхательная недостаточность

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

ИМТ – индекс массы тела

ИРИ – иммунорегуляторный индекс

ИФА – иммуноферментный анализ

КТ – компьютерная томография

ЛДГ – лактатдегидрогиназа

ЛФ –лимфоциты

МКА – моноклональные антитела

НОЦ – Научно-образовательный центр

НФ – нейтрофилы

ОДН – острая дыхательная недостаточность

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

РБЛТ с ФГА - реакция бластной трансформации лимфоцитов с фитогемагглютинином

СД – сахарный диабет

СЗ – сопутствующее заболевание

СРБ – с-реактивный белок

Хеми (Max фмлф) - хемилюминесцентный анализ с последовательной стимуляции нейтрофилов двумя стимулами (форбол-12-миристат-13-ацетатом (ФМА) и N-формилметионил-лейцил-фенилаланином (фМЛФ) с последующей регистрацией хемилюминесценции.

ХИМ – Хроническая ишемия мозга

ЦНИЛ – Центральная научно-исследовательская лаборатория

Введение

Актуальность темы исследования

Вспышка новой коронавирусной инфекции COVID-19 была зафиксирована в конце декабря 2019 года в китайском городе Ухань. С тех пор она распространилась на множество городов в Китае, а также по Юго-Восточной Азии и по всему миру [77, 78, 129].

В январе Всемирная организация здравоохранения присвоила коронавирусу имя COVID-19, а 11 марта 2020 года объявила пандемию, квалифицировав глобальную вспышку COVID-19 как чрезвычайную ситуацию мирового значения [192].

Пандемия короновирусной инфекции 2019 года (COVID-19), явившаяся глобальной чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, приведшая к социально - экономическим потрясениям, политическим разногласиям внутри отдельных стран, снижению ожидаемой продолжительности жизни, только к началу мая 2023 года позволила ВОЗ снять режим международной чрезвычайной ситуации и 5 мая 2023г. объявить о ее завершении [92].

В настоящее время COVID-19, не являясь глобальной чрезвычайной ситуацией, в основном без четкой сезонности циркулирующих вирусов SARS-CoV-2, вызванных появлением новых вариантов вируса, продолжает держать мир в постоянном напряжении. Дальнейшее изучение эпидемиологических особенностей заболевания, его профилактика, разработка новых методов диагностики и лечения являются актуальными задачами здравоохранения. Не менее актуальным остается поиск предикторов, позволяющих своевременно выявлять пациентов с тяжелым и крайне тяжелым течением заболевания и высоким риском летального исхода. В этом плане весьма важен прогноз развития так называемого «цитокинового шторма» (термин, который ввёл в научный лексикон американский учёный Джеймс Феррара в 1993 году при описании реакции «трансплантат против хозяина», и, который вошел в

лексикон врачей различных клинических специальностей во время пандемии COVID-19) [4].

На основе обзора научно-медицинской и патентной литературы были изучены различные подходы к прогнозированию тяжести COVID-19.

Прогнозирование тяжести COVID-19 может быть достигнуто путем определения в крови пациентов следующих маркеров: цитокинов (IL-8, IL-10, MCP-1, IFN-γ), фактора неоангиогенеза VEGF, а также относительного содержания CD3-8+, CD3+8+, CD19+-лимфоцитов и абсолютного содержания CD3-8+, CD3+25+, CD3-16+56+-лимфоцитов [193]. Применение данного метода сопряжено со значительными трудностями. Во-первых, он опирается на сложные математические модели, требующие ввода множества переменных. Это существенно усложняет процесс принятия клинических решений при лечении пациентов с COVID-19. Во-вторых, необходимые для анализа маркеры, такие как MCP-1 и фактор неоангиогенеза VEGF, являются редкими и дорогостоящими, что делает их недоступными для многих больниц. В итоге, этот метод оказывается длительным, трудоемким и экономически обременительным.

Известен способ прогнозирования тяжести COVID-19, включающий количественное определение ферритина в сыворотке крови, продолжительность заболевания, относительное содержание моноцитов и палочкоядерных нейтрофилов [43]. Недостатком данного метода является прогнозирование исхода COVID-19 только на основании общеклинических методов без учета реакции со стороны иммунной системы и цитокиновой регуляции. Кроме того, способ не дает возможности дифференциального прогнозирования средней и тяжелой степени тяжести заболевания.

Также разработан метод быстрой оценки тяжести пневмонии при COVID-19 у пациентов путем измерения уровней ферритина, прокальцитонина и С-реактивного белка в плазме крови [44]. Этот диагностический подход несовершенен, поскольку не учитывает цитокиновый

статус при COVID-19. К тому же, существующая методика лишена унифицированной математической модели.

Несмотря на значительный объем международных исследований, посвященных методам прогнозирования риска развития тяжелых форм COVID-19 и летального исхода, их внедрение в клиническую практику затруднено высокой стоимостью применяемых методик. В связи с этим разработка математических моделей, основанных на доступных клинических и лабораторных данных для прогнозирования тяжести заболевания и неблагоприятных исходов, остается актуальным направлением исследований. Использование математических моделей для предсказания тяжести течения COVID-19 у пациентов на основе статистической обработки данных посредством многомерного анализа факторов является актуальной задачей.

Степень разработанности темы исследования

Заражение вирусом SARS-CoV-2 может проходить без каких-либо симптомов, либо проявляться в виде COVID-19, при этом клиническая картина заболевания варьируется от повышенной температуры, сухого кашля и затрудненного дыхания до воспаления легких, скопления жидкости в легких, развития респираторного дистресс-синдрома и полиорганной недостаточности. В числе менее часто встречающихся признаков отмечают боль в горле, выделение крови с мокротой, рвоту, тошноту и расстройство желудка [84, 95, 114]. Первые исследования, охватившие 72314 случаев, зафиксированных в Китае в 2020 году, показали, что у 81% заболевших болезнь протекала в легкой форме, у 14% - в тяжелой, а у 5% состояние оценивалось как критическое [199]. Наиболее типичными симптомами COVID-19 считаются лихорадка, кашель и чувство нехватки воздуха, реже встречается расстройство пищеварения, например, диарея [135].

Некоторые исследователи разделяют течение инфекции SARS-CoV-2 на три стадии: этап проникновения вируса в кровь из легких; острый этап, характеризующийся развитием тяжелой формы болезни у пациентов с

ослабленной иммунной системой, значительным уменьшением количества Т- и В-лимфоцитов, а также аномальным повышением уровня провоспалительных цитокинов, в особенности IL-6, и параметров свертываемости крови, таких как D-димер; и этап восстановления [136, 139]. Двусторонняя пневмония выступает как наиболее часто встречающееся клиническое проявление COVID-19. Примерно в 3-4% случаев развитие пневмонии осложняется возникновением острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), представляющего угрозу для жизни [189]. По аналогии с другими коронавирусными инфекциями и гриппом A/H1N1, ключевым морфологическим признаком COVID-19 является диффузное повреждение альвеол. В клинической практике для обозначения этого процесса широко используется термин вирусной (интерстициальной) пневмонии. Тяжелое диффузное альвеолярное повреждение рассматривается как синоним клинического понятия ОРДС [200].

В настоящее время зарубежные исследователи опубликовали множество работ, посвященных патогенезу COVID-19, однако лишь немногие из них подробно описывают морфологические изменения, наблюдаемые у пациентов с различными формами заболевания. Согласно данным Никоновой А. А и соавт [39], при COVID-19 в легких развиваются такие патологические явления, как диффузное альвеолярное повреждение (ДАП) в сочетании с васкулитами мелких и средних ветвей легочной артерии, обширные коагулопатии с тромбозами и тромбоэмболией, вирусно-бактериальная пневмония, интерстициальный фиброз, аденоматоз и нарушения регенерации легочного эпителия. Эти процессы могут быть взаимосвязаны и представлять собой различные стадии поражения легких при COVID-19. В поздних стадиях у части пациентов (около 25%) развивается интерстициальный фиброз, вплоть до формирования «сотового легкого». Очаги дисплазии бронхиального и бронхиолярного эпителия с плоскоклеточной метаплазией обнаруживаются в 32% случаев [14, 202]. У пациентов с тяжелой вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, важным направлением является изучение ко-

инфекций, вызванных бактериями, грибами или другими вирусами, особенно при использовании искусственной вентиляции легких (ИВЛ), которая, как показали исследования многих специалистов, может ухудшить прогноз заболевания из-за развития вентилятор-ассоциированных осложнений [48, 69, 82, 88, 119, 132].

Для лучевой диагностики патологий органов грудной клетки у пациентов с подозрением или подтвержденным COVID-19 применяются такие методы, как обзорная рентгенография (РГ), компьютерная томография (КТ), ультразвуковое исследование (УЗИ) легких и плевральных полостей [18]. Наиболее информативным методом выявления изменений в легких, связанных с COVID-19, является КТ, позволяющая визуализировать типичные признаки вирусного поражения [18]. Распространенным симптомом на ранних стадиях развития COVID-19-пневмонии является феномен «матового стекла» [4, 11, 17]. В целях снижения лучевой нагрузки и получения дополнительной диагностической информации некоторым пациентам может быть назначена магнитно-резонансная томография (МРТ). Рентгенография уступает КТ в чувствительности и позволяет надежно выявить только тяжелые формы пневмонии [18, 121]. Большинство исследований указывает на низкую чувствительность обычной рентгенографии легких на ранних стадиях. В качестве альтернативы рентгенологическим исследованиям предлагается УЗИ легких, важными преимуществами которого являются отсутствие лучевой нагрузки, возможность оценки инфильтрата в режиме реального времени и мониторинга динамики пневмонии [16, 17].

Результаты эпидемиологических исследований, проведенных учеными в различных странах мира, указывают на повышенную заболеваемость и смертность среди мужского населения. С одной стороны, данная тенденция может объясняться общими закономерностями более высокой подверженности болезням у мужчин, связанными с особенностями их образа жизни, такими как курение и употребление алкоголя, а также определенными поведенческими факторами. С другой стороны, нельзя исключать влияние

других факторов, включающих повышенную экспрессию ангиотензин-превращающего фермента, а также иммунологические различия между мужчинами и женщинами, обусловленные половыми гормонами и генетическими особенностями Х-хромосомы [73, 81, 104, 186].

Вспышка COVID-19, спровоцированная вирусом SARS-CoV-2, стимулировала разработку инновационных методов патогенетического лечения для минимизации риска летальных исходов. Современные данные об иммунопатогенезе этого заболевания подтверждают ключевую роль иммунных механизмов и генетических особенностей, определяющих адекватный иммунный ответ на инфекцию SARS-CoV-2. Сегодня, в понимании патогенеза COVID-19, общепризнано, что различия в клинической картине болезни объясняются индивидуальными особенностями иммунного реагирования каждого человека [150].

Согласно имеющимся данным, тяжелое течение COVID-19 характеризуется развитием цитокинового шторма, который по своим проявлениям напоминает первичный и вторичный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (ГЛГ) или синдром активации макрофагов (САМ). Гипервоспалительный синдром, наблюдаемый при осложненном COVID-19, как и цитокиновый шторм, имеет схожие клинические признаки, единый механизм активации макрофагов и цепную реакцию высвобождения цитокинов, приводящую к вторичному ГЛГ. В настоящее время исследованы механизмы цитокинового шторма и клинические последствия его развития при COVID-19 [148].

Многочисленные исследования убедительно показали, что люди пожилого возраста (60+) более подвержены тяжелому течению COVID-19, часто требующему лечения в стационаре, что возможно обусловлено повышенной распространенностью хронических заболеваний. Выявлено, что факторы, предсказывающие летальный исход при COVID-19, отличаются в зависимости от возраста. В частности, у пациентов младше 65 лет возраст, уровень С-реактивного белка (СРБ) и брадикардия оказались связаны с

повышенным риском смерти, тогда как у лиц 65 лет и старше единственным значимым предиктором смертности являлся уровень СРБ [56, 74, 198].

Наличие сопутствующих заболеваний служит дополнительным фактором, предсказывающим более тяжелое развитие COVID-19. В частности, в исследовании Singh T. на базе 22 477 больных было установлено, что у 21 989 (97,8%) пациентов наблюдались определенные сопутствующие патологии [179]. Среди них у 6720 (30,6%) была диагностирована гипертензия, у 5082 (23,1%) – сахарный диабет, а у 2666 (12,1%) – избыточный вес. В перечень прочих выявленных сопутствующих недугов вошли: хронические заболевания печени, эндокринные расстройства и психические нарушения [25, 27, 46, 62]. Пациенты с наличием сопутствующей патологии в большинстве своем демонстрировали повышенный риск развития осложнений и более высокую смертность [60, 62, 69, 125, 161].

Многочисленные научные работы посвящены изучению прогностической ценности различных лабораторных маркеров при COVID-19. Выявлено, что уменьшение содержания тромбоцитов и лимфоцитов в крови, а также повышенные концентрации таких лабораторных параметров, как С-реактивный белок (СРБ), D-димер, лактатдегидрогеназа, ферритин и прокальцитонин, предсказывают неблагоприятное течение COVID-19 [119, 133, 134, 167, 203].

Анализ численности лейкоцитов и их подтипов выявил следующие закономерности: цитопения, дефицит лимфоцитов, снижение абсолютного числа Т-лимфоцитов, CD4+ Т- и CD8+ Т-клеток, а также повышенный нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (NLR) – все они оказались часто встречающимися предикторами тяжелого течения COVID-19. В частности, значения NLR, превышающие 6,5, коррелировали с повышенным риском летального исхода [100, 151, 159, 194, 203].

Обширное количество работ анализирует ключевые биохимические маркеры крови при COVID-19, включая индикаторы, печени и почек [26, 46, 52, 205, 206, 207, 209]. Наблюдается закономерность: при тяжёлой форме

COVID-19 эти показатели, как правило, возрастают. Однако до сих пор не установлена однозначная и патогенетически значимая корреляция между их значениями и тяжестью заболевания. Важно подчеркнуть, что гипергликемия оказывает неблагоприятное воздействие на прогноз при COVID-19, причём в осложненных случаях она встречается более чем в 90% случаев [57, 62, 155].

Постоянное повышение концентрации глюкозы в крови способствует усилению воспалительной реакции и увеличению продукции цитокинов. Последние, в свою очередь, провоцируют деструкцию эндотелия сосудов и повышают прокоагулянтный потенциал [125, 150, 192]. Интенсивность гипергликемии соотносится с выраженностью дисфункции лейкоцитов и параллельно снижает бактерицидные свойства крови. Российские ученые обнаружили явную прямую зависимость между уровнем глюкозы в крови, превышающим 17 ммоль/л, и повышенной смертностью в стационаре, а именно в отделениях реанимации [155].

В последние годы наблюдается растущий интерес к изучению влияния иммунной системы и генетических факторов на развитие тяжелых форм коронавирусной инфекции. Отмечено, что воздействие вируса SARS-CoV-2 на организм человека сопровождается широким спектром иммунных реакций, варьирующих от бессимптомного течения до развития полиорганной недостаточности или летального исхода [2, 4, 48, 87]. Это связано с тем, что уровень и разнообразие выработки цитокинов, в частности системы интерферонов, определяются множеством факторов, включая индивидуальные особенности организма человека и характеристики самого вируса [97, 136, 137].

В исследовании Almeida [66] установлено, что S-белок вируса SARS-CoV-2, антитело IgG против шиповидного белка или их иммунный комплекс способны активировать окислительные реакции нейтрофилов, причем интенсивность этих процессов зависит от варианта вируса. Кроме того, согласно данным других исследований, полиморфизм rs1800629 в гене TNF был определен как фактор риска тяжелого течения COVID-19 [55, 109]. В

работах Gillina и др. [113, 142, 146] анализировалось влияние генетических вариантов TNF rs1800629 и rs361525 на уровень растворимых TNFR1 и TNFR2 в плазме крови, которые, в свою очередь, коррелировали с тяжестью заболевания, оцениваемой на основе необходимости проведения инвазивной искусственной вентиляции легких (ИВЛ). Исследованиями ряда авторов [144, 146, 218, 106] было также выявлено, что у пациентов с тяжелой формой COVID-19 и острым респираторным дистресс-синдромом генотип TT (rs3804099 и rs3804100) влияет на реакцию TLR2 на шиповидный белок SARS-CoV-2. В этом случае аллель C, при активации, способствует повышению уровня таких цитокинов, как IL-10, IL-6 и TNF-α. Дополнительно работа Алхабиби А.М. [65]. указала на увеличение риска инфицирования и тяжести COVID-19 у пациентов с определенными полиморфизмами генов TLR2 (rs5743708) и TLR9 (rs5743836).

На сегодняшний день накоплен значительный объем знаний о клинической картине COVID-19, влиянии сопутствующих заболеваний и роли различных лабораторных показателей в прогнозировании тяжести течения инфекции. Однако исследования, оценивающие иммунные и генетические особенности пациентов с COVID-19 с учетом степени тяжести заболевания, остаются фрагментарными и противоречивыми. Комплексный подход к анализу клинических, лабораторных, иммунологических и генетических факторов, предсказывающих тяжесть болезни, пока не разработан. Вопрос ранней диагностики риска тяжелого течения COVID-19 представляет собой важнейшую практическую задачу, поскольку он имеет решающее значение для выбора оптимальной тактики лечения и персонифицированного подхода к пациентам, что и является целью данного исследования.

Цель исследования

Оптимизировать прогноз развития тяжелой степени тяжести COVID-19 на основании изучения преморбидных факторов, клинико-лабораторных,

иммунологических и молекулярно-генетических особенностей при различных вариантах течения заболевания у взрослых пациентов.

Задачи исследования

1. Изучить клинико-лабораторные особенности COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания, пола, возраста пациентов, наличия преморбидных факторов и оценить их прогностическое значение.

2. Определить зависимость между показателями врожденного (функциональная активность нейтрофилов), адаптивного иммунитета (CD4, CD8, CD19, CD16, ИРИ, РБТЛ с ФГА, ИЛ-18, ФНО-альфа, ИЛ-4, ИЛ-10, IFN-γ) и степенью тяжести COVID-19.

3. Изучить носительство определенных генетических полиморфизмов Toll-like рецепторов и интерлейкинов (IL-4, IL-10, IL-17A, IL-1β, TNF-α, ИЛ17, IL-6, INF a/b, INFL4, IFNL3, INF-γ) у больных COVID-19 и определить их роль в развитии тяжелой формы заболевания.

4. Разработать математическую модель прогнозирования риска тяжелого течения COVID-19 и модель прогнозирования исходов COVID-19 на основании оценки клинико-иммунологических показателей.

5. Разработать систему поддержки принятия врачебных решений для прогнозирования тяжелых и крайне тяжелых форм COVID-19 на основании молекулярно-генетических маркеров.

Научная новизна

В настоящем исследовании впервые проведена комплексная оценка клинико-лабораторных особенностей COVID-19 в зависимости от пола, возраста, преморбидного фона, степени тяжести заболевания с изучением показателей гуморального, клеточного иммунитета, интерлейкинового статуса, активности фагоцитоза и молекулярно-генетических характеристик при различных вариантах течения COVID-19.

Впервые определены наиболее значимые иммунологические и генетические предикторы тяжелого течения COVID-19 для осуществления персонифицированного подхода к лечению пациентов.

Впервые разработана математическая модель прогнозирования тяжелой степени тяжести COVID-19, включающая четыре достоверных иммунологических показателя: ИЛ-4 спонтанного, ИФНγ индуцированного, ФНО-α индуцированного, ИЛ-18 спонтанного.

Впервые разработана математическая модель прогнозирования исходов COVID-19 на основании определения до начала терапии трех показателей адаптивного иммунитета: РБТЛ, CD16+, лф%.

Впервые разработаны персонифицированные алгоритмы на основе молекулярно-генетических маркеров для получения точного персонального прогноза оценки тяжести COVID-19 в виде системы поддержки принятия врачебных решений (нейросетевая рекомендательная система).

Теоретическая и практическая значимость работы

Получение новых данных, которые позволят расширить теоретические представления о клинических, возрастных, гендерных, иммунологических и молекулярно-генетических особенностях у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19. Определение клинических, лабораторных, иммунологических, молекулярно-генетических критериев развития тяжелой степени тяжести COVID-19, что позволяет своевременно диагностировать осложненное течение заболевания, корректировать терапию и улучшить прогноз. Прогнозирование тяжелого течения и риска летального исхода COVID-19 с помощью математических моделей, основанных на достоверных иммунологических показателях для осуществления своевременной и эффективной терапии. Прогнозирование тяжелого течения COVID-19 на основании генетических маркеров с применением системы поддержки принятия врачебных решений (нейросетевая рекомендательная система), что будет способствовать осуществлению персонифицированного предиктивного

подхода к оказанию медицинской помощи для повышения ее качества и оптимизации лечения.

Методология и методы исследования

Методология исследования спланирована в соответствии с задачами диссертационного исследования. Диссертационная работа проводилась в Пензенском институте усовершенствовании врачей - филиале федерального государственного автономного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» (руководитель – заведующая кафедрой, к.м.н., доцент О.Н. Лесина); набор больных проводился с августа 2021 по февраль 2022 года на клинической базе кафедры инфекционных болезней в инфекционном боксированном отделении и отделении реанимации и интенсивной терапии ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» (главный врач – к.м.н. С.Б. Рыбалкин); лабораторные исследования иммунологических и генетических показателей проводились в Научно-образовательном центре (НОЦ) на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории (заведующий ЦНИЛ ПИУВ – филиала ФГАОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, д.б.н., профессор Баранова Н.И.).

Результаты работы используются в клинической практике ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи», в учебном процессе кафедры инфекционных болезней ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Дизайн исследования: открытое клиническое одноцентровое проспективное сравнительное исследование.

Объект исследования: взрослые в возрасте от 18 до 95 лет с диагнозом коронавирусная инфекция COVID-19, легкой, среднетяжелой и тяжелой степени тяжести.

Критерии включения: больные COVID-19, подтвержденной данными клинико-лабораторного обследования, включая положительные результаты исследования мазка из носа и ротоглотки методом амплификации нуклеиновых кислот на SARS-CoV-2, наличие информированного согласия испытуемого.

Критерии невключения: больные с коинфекцией, вызванной ВИЧ; беременные; пациенты до 17 лет 11 мес 29 дн; нежелание участвовать в исследовании.

Критерии исключения: отрицательный результат мазка из носа и ротоглотки методом ПЦР на SARS-CoV-2 при первом обращении к врачу.

Диагноз коронавирусная инфекция был выставлен, руководствуясь действующими нормативными документами: временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции». Тяжесть состояния определялись в соответствии с временными клиническими рекомендациями «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции»: легкое течение - Т тела < 38 °С, кашель, слабость, боль в горле; отсутствие критериев среднетяжелого и тяжелого течения; среднетяжелое течение - Т тела > 38 °С; ЧДД > 22/мин, одышка при физических нагрузках; изменения при КТ (рентгенографии), типичные для вирусного поражения; <93% SpO2 < 95% ; СРБ сыворотки крови >10 мг/л; тяжелое течение - ЧДД > 30/мин; SpO2 ≤ 93% ; PaO2 /FiO2 ≤ 300 мм рт.ст.; снижение уровня сознания, ажитация; нестабильная гемодинамика (систолическое АД менее 90 мм рт.ст. или диастолическое АД менее 60 мм рт.ст., диурез менее 20 мл/час); изменения в легких при КТ (рентгенографии), типичные для вирусного поражения; лактат артериальной крови > 2 ммоль/л; qSOFA > 2 балла; крайне тяжелое течение - стойкая фебрильная лихорадка; ОРДС; ОДН с необходимостью респираторной поддержки (инвазивная вентиляции легких); септический шок; полиорганная недостаточность; изменения в легких при КТ (рентгенографии), типичные для вирусного поражения критической степени или картина ОРДС [18].

Исследование одобрено Локальным этическим комитетом ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, протокол №1 30.11.2021г.

В работе применялись общеклинические, иммунологические и генетические методы исследования и статистическая обработка полученных результатов. Стандартное клинико-лабораторное обследование включало: объективный осмотр, сбор анамнеза, клинический анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы, биохимический анализ крови, коагулограмму и общеклинический анализ мочи.

Верификация возбудителя проводилась на базе лаборатории в ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» (заведующий лабораторией Еникеева Ф.Ш.) путем выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно - флуоресцентной детекцией, аналитическая чувствительность набора $1x10^4$ копий на мл (аппарат Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот ROTOR JENE 6000).

Лабораторные исследования иммунологических и генетических показателей проводились в Научно-образовательном центре (НОЦ) на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ).

Иммунологические методы: определение абсолютного количества лейкоцитов и нейтрофилов периферической крови на аппарате Sysmex XP 300; исследование функциональной активности нейтрофилов хемилюминесцентным методом; определение сывороточных иммуноглобулинов A, M, G, E методом Mancini (простая радиальная иммунодиффузия с использованием моноспецифических антисывороток к соответствующим иммуноглобулинам); оценка цитокинового профиля включала определение уровней IL-4, IL-10, IL-18, γ-IFN, TNF-α в сыворотке крови, а также супернатанте спонтанной и ФГА-индуцированной продукции клеток иммунной системы методом твердофазного ИФА; исследование

уровней основных популяций лимфоцитов, а также вычисление соотношения CD4/CD8 – иммунорегуляторного индекса (ИРИ) методом проточной цитофлюориметрии с использованием моноклональных антител (МКА).

Определение полиморфизмов генов цитокинов IL-4 (C-589T), IL-10 (G-1082A), IL-17A (G-197A), IL-1β (T-31C), TNF-α (G308A), INF-γ (rs2430561), IFNL3 (rs12979860), INFL4 (rs368234815), INF a/b –receptor (rs9984273), IL-6 (rs180795), IL-2 (T330G), TLR3 (rs3775291) и TLR9 (rs352140) осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. С образцом выделенной ДНК параллельно проводили две реакции амплификации – с двумя парами аллель-специфичных праймеров.

Инструментальные методы: компьютерная томография и/или рентгенологическое исследование органов грудной клетки.

Результаты объема поражения легких по данным КТ оценивали согласно Временным клиническим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Версия 17 (14.12.2022). Примерный объем выявленных изменений легких (визуально):

КТ-1 Минимальный <25%;

КТ-2 Средний 25–50% объема;

КТ-3 Значительный 50–75% объема;

КТ-4 Субтотальный 75% объема.

Весь полученный материал регистрировался в индивидуальных картах с внесением данных результатов с их кодированием для дальнейшей статистической обработки.

Положения, выносимые на защиту

1. Тяжелые формы COVID-19, в том числе с риском летального исхода, характерны для пациентов старше 60 лет, при наличии 3 и более сопутствующих заболеваний и продолжительном амбулаторном периоде (более 11 дней). Клинико-лабораторными маркерами развития тяжелой степени тяжести COVID-19 являются фебрильная, продолжительная (более 9

дней) лихорадка, объем поражения легких с развитием признаков дыхательной недостаточности, выраженность воспалительного синдрома, особенности реакции иммунной системы.

2. Тяжелая степень тяжести COVID-19 сопровождается нарушением врожденного, адаптивного иммунитета и дисбалансом регуляторных цитокинов. Доказана эффективность математических моделей прогноза тяжести течения COVID-19 и прогноза исходов заболевания на основании наиболее информативных иммунологических маркеров, что может быть использовано для персонифицированного подхода к пациентам и оказания эффективной медицинской помощи.

3. Носительство определенных генетических полиморфизмов Toll-like рецепторов и ряда интерлейкинов у пациентов с COVID-19 определяет особенности иммунного реагирования и развитие тяжелого течения заболевания, что позволяет использовать полученные данные для прогноза, в том числе с применением нейросетевой рекомендательной системы.

Степень достоверности полученных результатов исследования и апробация результатов исследования

Достоверность результатов проведенного исследования подтверждается достаточной выборкой пациентов, включенных в исследование, использованием актуальных методик исследования и современных методов статистической обработки. Полученные выводы соответствуют задачам исследования, их обоснованность подтверждается успешным применением на практике.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на XIII Конференции молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное», 01 июня 2022 г., г. Москва; IX Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо-опасные инфекционные заболевания» 11 ноября 2022 г., г. Сочи; научно-практической конференции

молодых ученых, Пензенский институт усовершенствования врачей – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 29 ноября 2022 г., г. Пенза; Всероссийском форуме молодых ученых «Медицинская наука: Вчера. Сегодня. Завтра», 18-19 апреля 2024 г, г. Москва; Межрегиональной научно-практической конференции для ординаторов, аспирантов, молодых ученых «Инновации в диагностике, лечении и реабилитации: взгляд молодых ученых» 1 июня 2023 г., г. Пенза; IV Республиканской научно-практической конференции с международным участием, посвященная памяти профессора Д.К. Новикова «Витебская весна 2023: Инновации аллергологии и иммунологии» 11-12 мая 2023 г., г. Витебск; Международной научной конференции «Вопросы фундаментальных и прикладных научных исследований» 10 марта 2023 г, г. Омск; XI Конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням, посвященным 80-й годовщине Победы в Великой отечественной войне, 18-20 мая 2025 г., г. Санкт-Петербург.

Внедрение результатов исследования в практическое здравоохранение

Результаты проведенных исследований внедрены в практику работы инфекционных отделений ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи». Полученные в ходе исследования результаты применяются в учебном процессе на циклах профессиональной переподготовки и повышения квалификации по специальности «Инфекционные болезни» на кафедре инфекционных болезней ПИУВ - филиала ФГАОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 3.1.22. Инфекционные болезни. Результаты работы соответствуют области исследования специальности: п.1 «Изучение свойств возбудителей и их взаимодействие с организмом человека, иммунологические, патоморфологические, биохимические, патофизиологические изменения в организме в процессе болезни, лечения и развития постинфекционного иммунитета»; п.2 «Клинические проявления инфекционного процесса, повреждения и нарушения функции различных органов и систем, особенности течения заболевания во всех возрастных группах, в различных условиях окружающей среды и в сочетании с другими болезнями. Прогнозирование течения инфекционного заболевания и его исходов»; п.3 «Диагностика инфекционных болезней с использованием клинических, микробиологических, генетических, иммунологических, биохимических, инструментальных и других методов исследования, дифференциальная диагностика с другими болезнями инфекционной и неинфекционной природы».

Личный вклад автора

Автор принимала непосредственное участие в клиническом обследовании и наблюдении пациентов с COVID-19 в период стационарного лечения во время пандемии COVID-19 с августа 2021 г. по февраль 2022 г. Самостоятельно проведены разработка и заполнение формализованных таблиц, сбор анамнеза, клинический осмотр, динамическое наблюдение за пациентами в стационарных условиях. Сформированы и зарегистрированы 8 свидетельств о государственной регистрации баз данных, 2 патента на изобретение Российской Федерации, проанализированы результаты исследования, обобщен и статистически обработан полученный материал. Автором лично подготовлен текст диссертации, статьи, опубликованные по

теме работы, доклады и выступления с результатами исследования на конференции и конгрессах.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования опубликовано 6 статей – в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных работ на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.22. Инфекционные болезни, 1 статья - Scopus. Получены 8 свидетельств о государственной регистрации базы данных и два патента РФ на изобретение (№ 2825066 «Способ прогнозирования степени тяжести COVID-19»; № 2830374 «Способ прогнозирования исходов COVID-19»).

Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ института.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с тематикой и планом научной деятельности ПИУВ – филиала ФГАОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (гос. регистрация № 121122300296-3).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 189 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и практических рекомендаций. Иллюстрирована 24 рисунками, 41 таблицами. Список литературы включает 222 источников, из них 58 отечественных и 164 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Актуальность

В конце декабря 2019 года в китайском городе Ухань зафиксировали вспышку новой коронавирусной инфекции COVID-19. Впоследствии она начала стремительно распространяться, охватывая множество городов Китая, страны Юго-Восточной Азии и затем весь мир [18, 130, 135, 186]. Уже в январе Всемирная организация здравоохранения дала вирусу название COVID-19, а 11 марта 2020 года объявила пандемию, определив глобальное распространение инфекции как чрезвычайную ситуацию международного уровня [193]. Одноцепочечный РНК-вирус SARS-CoV-2, вызывающий это заболевание, в 15–20% случаев приводит к тяжелому поражению легких, которое проявляется в форме двусторонней вирусной пневмонии. Это состояние характеризуется высокой температурой, мучительным сухим кашлем и значительной летальностью, так как пневмония нередко осложняется острым респираторным дистресс-синдромом или полиорганной недостаточностью [10, 30, 48, 87, 189, 198, 212].

На данный момент, хотя COVID-19 уже не считается глобальной чрезвычайной ситуацией, она остается распространенным без явной сезонной закономерности явлением и продолжает провоцировать повторные случаи заболевания из-за появления новых вариантов вируса. Эта ситуация по-прежнему создает напряженность в мире. Исследование эпидемиологических характеристик инфекции, меры профилактики, а также разработка современных методов диагностики и лечения остаются важнейшими приоритетами для здравоохранения.

Поиск предикторов, помогающих выявить пациентов с тяжелым течением заболевания и высоким риском летального исхода, остается важной задачей. В этом контексте особое значение приобретает прогнозирование развития так называемого цитокинового шторма. Этот термин был введен в научный обиход американским исследователем Джеймсом Феррарой в 1993 году при описании реакции "трансплантат против хозяина" [105]. Позднее он

стал широко использоваться врачами различных клинических специальностей, особенно в период пандемии COVID-19. Многочисленные исследования показали прогностическое значение различных лабораторных показателей при COVID-19. Выявлено, что снижение уровня тромбоцитов и лимфоцитов, а также повышенные значения таких маркеров, как С-реактивный белок (СРБ), D-димер, лактатдегидрогеназа, ферритин и прокальцитонин, связаны с неблагоприятными исходами заболевания [24, 32, 50).

Воздействие вируса SARS-CoV-2 на организм человека сопровождается широким спектром реакций со стороны иммунной системы, от бессимптомного течения заболевания до развития полиорганной недостаточности и летального исхода. Такое разнообразие объясняется тем, что уровень и состав вырабатываемых цитокинов, включая систему интерферонов, зависят от множества факторов, связанных как с индивидуальными особенностями организма, так и с характеристиками самого возбудителя [2, 10, 51, 105, 117].

Механизм иммунного ответа у пациентов с COVID-19 характеризуется отличиями как в клеточной, так и в гуморальной составляющих по сравнению с другими респираторными инфекциями и остается недостаточно изученным. Важной задачей является разработка критериев для определения тяжелой формы COVID-19 на основе иммунологических показателей, а также их интеграция в комплексную оценку риска осложненного течения болезни.

Изучение генетического полиморфизма структур, которые играют ключевую роль в формировании защитного иммунного ответа и позволяют прогнозировать тяжесть течения коронавирусной инфекции, является особенно актуальным. Это обусловлено тем, что на данный момент исключить риск появления новых, потенциально более вирулентных штаммов SARS-CoV-2 невозможно.

Ввиду чрезвычайной важности проблемы COVID-19, к ее разрешению подключились практически все страны мира, что стало стимулом для

большого числа исследований и публикаций. В этом процессе принимали участие специалисты в области здравоохранения, вирусологи, эпидемиологи, инфекционисты, а также представители различных клинических направлений медицины. Комплексная обработка и применение накопленной информации позволяют более эффективно разбираться в такой сложной ситуации, какой была пандемия COVID-19.

Разработка прогностических моделей, основанных на комплексном учете клинико-лабораторных, иммунологических и генетических маркеров, позволит на ранних этапах определять пациентов, нуждающихся в госпитализации, более интенсивной противовирусной и посиндромной терапии. Это также обеспечит персонализированный подход к лечению, предоставляя возможность своевременно корректировать тактику ведения больных. Такие модели играют ключевую роль в оптимизации сортировки пациентов по уровню необходимой медицинской помощи. В рамках долгосрочного прогнозирования внедрение математических методов анализа риска тяжелого течения COVID-19 улучшит качество жизни больных, снизит последствия перенесенной инфекции, обеспечит сокращение периодов временной нетрудоспособности и, в итоге, поможет уменьшить расходы на здравоохранение.

1.2. Этиология COVID-19

Семейство коронавирусов включает в себя множество вирусных агентов, патогенных для человека и способных индуцировать широкий спектр клинических проявлений, варьирующих от лёгких форм респираторных инфекций, таких как ринит, до критических состояний, характеризующихся развитием острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) [18, 137]. По сообщению китайских ученых коронавирус с тяжелым острым респираторным синдромом-2 (SARS-CoV-2), возбудитель COVID-19, впервые появился в Ухане (Китай) в декабре 2019 года, и к марту 2020 года он был объявлен пандемическим [185]. Коронавирусы (CoV) — это огромная

группа вирусов, принадлежащих к отряду Nidovirales, в который входят семейства Coronaviridae, Roniviridae и Arteriviridae. Важные особенности являются общими для всех вирусов порядка Nidovirales. Все они представляют собой оболочечные несегментированные РНК-вирусы. Коронавирусы (одно из двух подсемейств семейства Corona viridae) на основе серологии подразделяется на четыре группы: альфа-, бета-, гамма- и дельта-CoV. Коронавирусы, вызывающие заболевания у людей, относятся к семейству бета-коронавирусов (бета CoV) [18]. Дифференциация в показателях летальности между SARS-CoV-2 и его предшественниками, SARS-CoV и MERS-CoV, демонстрирует более низкий уровень для первого. Тем не менее, существенно более высокая контагиозность SARS-CoV-2 послужила катализатором для возникновения глобального кризиса, охватывающего как сектор здравоохранения, так и мировую экономику [39]. Как и оригинальный SARS-CoV, SARS-CoV-2 использует рецептор ACE2 для облегчения проникновения вируса в клетки-мишени, что приводит к подавлению этих рецепторов и увеличению выработки ангиотензина-2 (AT2). Повышенное производство AT2 потенциально увеличивает проницаемость легочных сосудов и может вызвать повреждение легких. Примерно 83% рецепторов ACE2 экспрессируются на люминальной поверхности альвеолярных эпителиальных клеток II типа, что делает их клетками-мишенями вирусной инвазии [214]. Известно, что для SARS-CoV-2 характерно преимущественное поражение нижних респираторных путей [18]. Вирус связывается с ангиотензиновыми рецепторами 2 типа альвеолоцитов и в последующем значительно изменяет цитокиновый гомеостаз, приводя к цитокиновому «шторму» или «каскаду». В тканях легкого происходит синтез фибрина фибробластами с последующим формированием гиалуроновых мембран, а также повреждение и десквамация альвеолоцитов II типа. Развитие цитокинового «шторма» в сочетании с дыхательной недостаточностью, вызванной поражением легких, считается основным патогенетическим механизмом, приводящим к серьезным нарушениям функции внутренних

органов [148]. Помимо легких, поражаются сердечно-сосудистая система, желудочно-кишечный тракт и почки [3, 25, 46, 53, 206, 219]. Наблюдаемая у этих пациентов полиорганная недостаточность может коррелировать с обширной дистрибуцией рецепторов ACE2 в различных внелегочных компартментах, включая сердечную мышцу, почечную паренхиму, сосудистый эндотелий и кишечник [214].

1.3. Эпидемиология COVID-19

30 июля 2024 года ВОЗ опубликовала обновлённый список приоритетных патогенов с эпидемическим и пандемическим потенциалом, куда вошел и SARS-CoV-2 из-за своих патологических особенностей, высокой заразности и быстрой эволюции вируса.

Чтобы иметь представление о скорости распространения вируса достаточно проанализировать ситуацию в Китае в провинции Хубэй. COVID-19 распространился за пределы этой провинции примерно после декабря 2019 года, а к 11 февраля 2020 были затронуты 1386 округов во всех 31 провинциях. Потребовалось всего 30 дней, чтобы распространиться из Хубэя на остальную часть Материкового Китая [186].

С начала пандемии до 10 ноября 2024 года в ВОЗ поступило уведомление о более чем 776,8 миллионах подтвержденных случаев COVID-19 и более чем 7 миллионах подтвержденных случаев смерти в 234 странах, областях и территориях. Среднее количество зарегистрированных подтвержденных случаев COVID-19 в начале 2020 года в неделю выросло с 414 000 до 9,9 миллиона, достигнув пика в 21 миллион в январе 2022 года. Снижение среднего количества еженедельных случаев началось с середины 2022 года. К началу 2023 года эта цифра сократились примерно до 1,3 миллиона, далее до 246 000 в конце 2023 года и примерно до 70 000 в начале 2024 года.

Большинство (95%) случаев смерти, связанных с COVID-19, были зарегистрированы в 2020, 2021 и 2022 годах. Среднее количество

зарегистрированных случаев смерти выросло за неделю с 21 000 в начале 2020 года до 78 000 в начале 2021 года, достигнув пика более 99 000 в январе 2021 года. К концу 2021 года совокупное число зарегистрированных случаев смерти составило 5,49 миллиона случаев [215].

Повышение иммунитета вследствие инфекции и/или вакцинации привело к значительному снижению смертности со второй половины 2022 года [207]. Среднее количество зарегистрированных еженедельных смертей снизилось до 13 000 в конце 2022 года до 2400 в конце 2023 и до 1400 в начале 2024 года.

Наибольшее количество тяжелых случаев заболевания и летальных исходов зарегистрировано в возрастной группе 65 лет и старше, летальность в которой колебалась от 54% до 85% с января 2020 года по апрель 2022 [186].

К началу мая 2023 года эпидемическая ситуация по COVID-19 была оценена ВОЗ как благоприятная, что позволило снять режим международной чрезвычайной ситуации и 5 мая 2023 г. объявить о завершении пандемии. В настоящее время COVID-19 приобретает черты сезонной инфекции [193].

Состояние после COVID-19 – постковидный синдром (PCC), также известный как «длительный COVID», продолжает оказывать существенное влияние на систему здравоохранения. В настоящее время, учитывая различия в определениях случаев COVID-19, используемых различными государствами, сложно оценить заболеваемость PCC с высокой точностью. Тем не менее, по данным ВОЗ, у 10–20% людей, которые перенесли COVID-19, развивается постковидный синдром. Хотя тяжелая форма COVID-19 является значительным фактором риска PCC, более 90% случаев PCC возникают после легкой формы COVID-19 из-за большого количества повторных инфекций за последние пять лет. При этом, имеющиеся данные, свидетельствуют о том, что вакцинация снижает риск развития PCC [171].

Эпидемиологические данные, полученные исследователями разных стран и континетов, свидетельствуют о более высокой заболеваемости и смертности среди мужчин. Эти различия однозначно могут быть обусловлены

общей тенденцией к более высокой заболеваемости у мужчин, что может объясняться образом жизни (употребления алкоголя и курение, поведенческие особенности). Тем не менее, это может быть связано и с более высокой экспрессией ангиотензинпревращающего фермента, иммунологическими различиями между полами, обусловленными половыми гормонами и Х-хромосомой [73, 81, 104, 186].

Наличие сопутствующей патологии является еще одним предиктором тяжелого течения COVID-19. Так, в исследовании Tanya Singh et al. из 22 477 пациентов у 21 989 (97,8%) были выявлены следующие сопутствующие заболевания: у 6720 (30,6%) - гипертония, у 5082 (23,1%) — сахарный диабет, у 2666 (12,1%) — ожирение [186]. Другие выявленные сопутствующие заболевания включали: хроническую болезнь печени, эндокринные нарушения и психические расстройства [12, 60].

У большинства пациентов с сопутствующими заболеваниями зарегистрировано большее число осложнений и большая летальность [62, 73].

В работе большого коллектива авторов при построении отдельной многомерной модели логистической регрессии следующие показатели были наиболее независимо связаны с тяжелым течением заболевания: возраст (отношение шансов [OR], 1,03 в год; 95% ДИ, 1,03-1,04), мужской пол (OR, 1,60; 95% ДИ, 1,51-1,69), заболевание печени (OR, 1,20; 95% ДИ, 1,08-1,34), деменция (OR, 1,26; 95% ДИ, 1,13-1,41), афроамериканская (OR, 1,12; 95% ДИ, 1,05-1,20) и азиатская расовая принадлежность (OR, 1,33; 95% ДИ, 1,12-1,57), ожирение (ОШ 1,36; 95% ДИ 1,27-1,46) [81, 130, 185].

1.4. Клинические проявления.

COVID-19 — заболевание, характеризующееся пневмонией, гипервоспалением, гипоксической дыхательной недостаточностью, протромботическим состоянием, сердечной недостаточностью, а также

высокой смертностью и длительной нетрудоспособностью у некоторых пациентов.

Инфекция SARS-CoV-2 может быть асимптоматической или проявляться как коронавирусная болезнь 2019 (COVID-19). Клинический спектр COVID-19 варьирует от легких проявлений, таких как лихорадка, сухой кашель и одышка, до тяжелых состояний, включающих пневмонию, отек легких, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) и полиорганную недостаточность [18].

Несмотря на то, что SARS-CoV-2 в первую очередь считается респираторным заболеванием, вызывающим пневмонию и острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), многочисленные данные свидетельствуют о его внелёгочных проявлениях: возможно поражение сердечно-сосудистой, желудочно-кишечной, почечной, гематологической, неврологической, эндокринной, офтальмологической, гепатобилиарной и дерматологической систем [131, 154, 160, 204, 218. Это может быть связано либо с внелёгочным распространением SARS-CoV-2, либо с обширными иммунопатологическими последствиями заболевания.

Согласно проведенному библиометрическому анализу 50-ти лучших статей из 5940 работ в Scopus, в которых проанализированы данные 22477 пациентов, наиболее распространёнными клиническими проявлениями были: лихорадка у 6333 (28,2%) пациентов, тахикардия у 4022 (17,9%) и сухой кашель у 3107 (13,8%) пациентов. Другими распространёнными проявлениями были нарушение обоняния, нарушение вкусовых ощущений, головная боль и усталость [96, 154, 187, 197].

Наименее распространёнными симптомами были диарея (4,4%), тошнота и рвота (4,1%), ринорея (3,2%), боль в животе (0,16%) и боль в груди (0,11%) [115].

Самыми значимыми осложнениями COVID-19 были: острое повреждение почек, острый респираторный дистрес-синдром (ОРДС) и сепсис [188, 205]. Как и при других коронавирусных инфекциях, а также при гриппе

A/H1N1, COVID-19 характеризуется диффузным альвеолярным повреждением как основным морфологическим субстратом. Именно это повреждение лежит в основе клинического термина "вирусная (интерстициальная) пневмония". Тяжёлое диффузное альвевеолярное повреждение, в свою очередь, эквивалентно клиническому диагнозу ОРДС. [188]. ОРДС, вызванный COVID-19, обычно представлял собой особый тип синдрома активации макрофагов с гиперсекрецей премущественно провоспалительных цитокинов, при котором гипоксия возникает в результате сосуществования невентилируемых участков и обширных областей с низким коэффициентом вентиляции-перфузии и повреждением клеток легких, что приводит к нарушению альвеолярно-капиллярного барьера [120, 187].

Анализ 72 314 случаев заболевания, проведенный в Китае в 2020 году в рамках первых исследований, показал, что распределение тяжести COVID-19 было следующим: 81% пациентов имели легкие симптомы, 14% — тяжелые, и 5% — критическое течение [197]. Результаты исследований, проведенных научным и медицинским сообществом, свидетельствуют о том, что применение искусственной вентиляции легких (ИВЛ) потенциально способно ухудшать исход заболевания, что обусловлено риском развития вентилятор-ассоциированных патологий [69, 77, 200].

К другим осложнениям относились тромбоз, острое повреждение печени и сердечно-сосудистые осложнения [47, 59, 116].

Острое повреждение почек, развивающееся как осложнение инфекции COVID-19, может быть вызвано прямым воздействием вируса, сердечно-сосудистыми заболеваниями, активацией механизмов свёртывания крови, повреждением эндотелия или активацией ренин-ангиотензиновой системы [52]. Исследованиями последних лет выявлены возможные долгосрочные последствия COVID-19: потеря памяти, нарушение внимания, сна и лёгкие необратимые повреждения нескольких органов [10, 171].

1.5. Основные лабораторные показатели оценки течения и прогноза COVID-19

Основное значение для этиологической лабораторной диагностики COVID-19 имеет выявление РНК SARS-CoV-2 с помощью МАНК или антигенов коронавируса с помощью иммунохимических методов. Выявление антител к SARS-CoV-2 имеет вспомогательное значение для диагностики текущей инфекции и основное для оценки иммунного ответа.

Наряду с обязательным тестированием на COVID-19 большинству пациентов проводилась компьютерная томография грудной клетки (49,4%), рентгенография грудной клетки (22,7%), ЭКГ (22,7%). МРТ головного мозга и ЭЭГ были проведены у 8 (0,04%) пациентов с неврологическими осложнениями [19, 186].

В случае госпитализации больным выполняются такие исследования как общий и биохимический анализ крови, которые могут указывать на наличие органной дисфункции, декомпенсации сопутствующих заболеваний и развитие осложнений. Также определяют уровень острофазных белков. В обследование может быть включено исследование следующих гормонов: прокальцитонина, свидетельствующего о присоединении бактериальной инфекции и мозгового натрийуретического пептида – NT-proBNP/BNP маркера миокардиального стресса [17].

Оценка количества лейкоцитов и их популяций показала, что наиболее частыми прогностическими маркерами тяжелого течения COVID-19 были: цитопения, снижение количества лимфоцитов, абсолютного количества Т-лимфоцитов, $CD4^+$ Т- и $CD8^+$ Т-клеток, увеличение нейтрофильно – лимфоцитарного индекса (NLR) (значения NLR> 6,5 были связаны с более высокой вероятностью смерти) [100, 151, 159, 194, 203].

Повышенное отношение количества нейтрофилов к лимфоцитам, высокая экспрессия связанных с нейтрофилами цитокинов IL-8 и IL-6 в сыворотке крови и повышенный уровень циркулирующего кальпротектина,

воспалительного белка, опосредованного нейтрофилами, были описаны как прогностические факторы неблагоприятного исхода [86, 136, 149, 176].

В работе Fantone KM, Sarr D, Ashtiwi NM было показано, что S-белок SARS-CoV-2, антитело IgG1 против шиповидного белка или их иммунный комплекс стимулируют окислительные реакции нейтрофилов в зависимости от варианта вируса [66].

Также имеются данные об изменении качественных параметров тромбоцитов и эритроцитов - увеличение диапазона их размеров (соответственно - PDW и RDW). Эти два параметра коррелировали с тяжестью COVID-19, при этом, только в группе пожилых людей. При значении RDW более 12,15% риск прогрессирования COVID-19 был в 2 раза выше [203].

Изменения биохимических показателей крови у больных с тяжелой формой коронавирусной инфекции характеризовались гипоальбуминемией, билирубинемией, повышенной активностью аланин- и аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы, холинэстеразы, повышением азота мочевины и креатинина в крови, миоглобина, сердечного тропонина [10, 42, 86, 123].

Особое прогностическое значение имел уровень острофазовых белков: сывороточного амилоидного белка, СРБ и некоторых других [133]. Уровень СРБ коррелировал с тяжестью течения, распространенностью воспалительной инфильтрации и прогнозом: при пневмонии его концентрация увеличивалась у большинства пациентов, одновременно с увеличением интерлейкина-6 (ИЛ-6), СОЭ, а также прокальцитонина [74].

Значительное количество работ посвящено изучению уровней СРБ в сочетании с биомаркерами, отражающими обмен железа в организме: ферритином, трансферрином, сывороточным железом, как маркеров тяжести заболевания и смертности при COVID-19 [22, 23, 74]. Также изучалась прогностическая роль СРБ в ассоциации с другими, менее изученными биомаркерами, роль которых в патогенезе инфекционных заболеваний, в т.ч. COVID-19 активно разрабатывается: кальпротектином, GDF-15, пентраксином-3, пресепсином и другими маркерами [59, 61, 75, 94, 138].

В исследовании Томаса и др. анализируются данные 2149 участников, которым определяли нуклеокапсидный антиген, антинуклеокапсидные антитела к SARS-CoV-2 и уровень следующих биомаркеров: CRP, IL-6 и D-димер [191]. Результаты исследований закономерно показали, что высокая персистирующая вирусная нагрузка и низкий уровень соответствующих антител усиливают воспалительный компонент, маркеры которого позволяют выявить пациентов, которым следует проводить более мощное противовирусное и противовоспалительное лечение.

При мультиплексном исследовании цитокинов, хемокинов, факторов роста, а также стандартных лабораторных тестов и последующем многофакторном анализе единственными независимыми предикторами тяжелого течения и прогноза COVID-19 были: концентрация хемокина IP-10 в сыворотке крови (на исходном уровне) > 4271 пг/мл и концентрация С-реактивного белка (на 7-ые сутки) >2,3 мг/дл [167]. Интересными исследованиям представляются работы по изучению маркера повреждения легких KL-6 (сывороточный Кребс фон ден Лунген-6), а также KL-6 в сочетании с LDH, пиковые значения которых выявляли пациентов COVID-19 с дыхательной недостаточностью, имеющие более высокий риск летального исхода и необходимость госпитализации в отделение интенсивной терапии [103, 173].

Наряду с KL-6 изучались и другие биомаркеры повреждения легких - TGF-β1 (трансформирующий фактор роста-бета1) и FGF-2 (фактор роста фибробластов-2). Была выявлена значимая корреляция повышенного уровня KL-6 со следующими прогностическими маркерами воспаления: СРБ, фибриногеном, D-димером и количеством лимфоцитов. Однако связи между этими маркерами и последующей тяжестью COVID-19, смертностью и долгосрочным прогнозом выявлено не было [103, 119, 141, 173].

Весьма информативным было исследование Tellen D Bennett et al., в котором с использованием многофакторной логистической регрессии были рассчитаны критерии, которые предсказывали клиническую тяжесть

заболевания, включающие инвазивную вентиляцию лёгких, экстракорпоральную мембранную оксигенацию, смерть или выписку в хоспис. В работе были проанализированы 64 клинико-лабораторных параметра с помощью моделей случайного леса и ROC – анализа и спрогнозировано тяжёлое клиническое течение COVID-19. Фактором, наиболее тесно связанным с клинической тяжестью, был уровень pH; этот результат был стабильным для всех методов машинного обучения [188].

В начале пребывания в стационаре средние значения диастолического артериального давления, насыщения крови кислородом, показатели воспаления (С-реактивный белок и ферритин), количества лейкоцитов в крови, показатели фибринолиза (D-димер), доставки кислорода (лактат) и функции почек (креатинин) были наиболее отклоняющимися от референсных значений у тех, кому в конечном итоге потребовалась инвазивная респираторная поддержка или ЭКМО.

Авторы работы делают вывод, что с помощью использования модели логистической регрессии, возможно предсказывать клиническую тяжесть течения, учитывая информацию, полученную в начале пребывания в больнице. Ряд других показателей (уровень натрия, количество тромбоцитов и лимфоцитов) потенциально позволяли разделить пациентов с более низкой и более высокой максимальной клинической тяжестью [188].

Таким образом, разнородные изменения биохимических показателей соответствовали тяжелому течению инфекции с поражением многих систем организма и гиперергическим характером воспалительной реакции.

Для больных COVID-19 характерно развитие протромботического состояния, наиболее выраженное при тяжелом течении инфекции, в патогенезе которого большую роль играют: тромбоцитопатия, коагулопатия и эндотелиопатия [51, 192].

Снижение уровня тромбоцитов у больных COVID-19 носит умеренный характер, более выраженный у лиц с тяжелым течением и лиц, умерших от COVID-19 [151].

Дисфункция тромбоцитов является характерным признаком коронавирусной инфекции, она характеризуется гиперактивацией кровяных пластинок, что способствует тромбообразованию [59, 116].

Повреждение эндотелия, вследствие прямого вирусного инфицирования и (или) иммунопатологических процессов, характеризуется повышением биомаркеров эндотелиальной дисфункции: тромбомодулина, фактора фон Виллебранда, ангиопоэтина 2, ингибитора активатора плазминогена 1, которые значительно коррелируют с повышенной смертностью у пациентов с коронавирусной инфекцией [221].

В ряде исследований также были выявлены антифосфолипидные антитела: волчаночный антикоагулянт, антитела к кардиолипину и анти-β_2-гликопротеину I, предрасполагающие к артериальному и венозному тромбозу [59, 125].

Наличие коагулопатии при COVID-19 циируется с высоким риском смерти и сопровождается увеличением D-димера сыворотки в 3-4 раза более возрастной нормы [82].

Удлинение протромбинового времени и увеличение фибриногена также имеют клиническое, в т.ч. прогностическое значение, предсказывая тяжесть заболевания и летальность даже на ранних стадиях [86, 123].

Большое количество работ посвящено исследованию цитокинового спектра в патогенезе COVID-19, особенно в развитии острого респираторного дистресс синдрома (ОРДС), а также роли этих регуляторных пептидов в прогнозе тяжести течения инфекции [3, 51, 204, 247]. Кроме того, дальнейшее изучение цитокинов и механизмов их действия позволит расширять использование этих модуляторов иммунного ответа в борьбе с инфекцией COVID-19.

Согласно данным ряда авторов цитокиновый профиль у больных с COVID-19 характеризовался повышенным, коррелирующим с тяжестью инфекционного процесса, содержанием ИЛ-1, ИЛ-10 и TNF-α, IL-2, IL-2R, IL-7, гранулоцитарно-колониестимулирующего фактора (G-CSF), белка 10,

индуцируемого интерфероном-γ (IP-10)**,** моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1), **м**акрофагального воспалительного белка 1α (MIP-1α) [141, 149, 177].

В работе ряда авторов было показано, что такие цитокины, как M-CSF, IL-10, IFN-α2, IL-17, IL-4, IP-10, IL-7, IL-1ra, G-CSF, IL-12, IFN-γ, IL-1α, IL-2, HGF и PDGF-BB, были тесно связаны с показателем повреждения лёгких по шкале Мюррея и могут использоваться для прогнозирования тяжести заболевания при заражении 2019-nCoV [194].

Повышенный уровень провоспалительных цитокинов IL-6, IL-10 и TNF-α статистически значимо отрицательно коррелировал со снижением Т-лимфоцитов [23, 195].

Важные данные были получены при оценке уровней ИФН-I, как наиболее важных субстанций в противовирусной защите организма. Нарушение продукции ИФН-I при тяжелом течении COVID-19 может привести к дисбалансу провоспалительных и репарационных функций макрофагов дыхательных путей [118].

У ряда пациентов ИФН-ответ может быть нарушен из-за генетических отклонений (ИФН-дефицит) и/или из-за образования антител, способных нейтрализовать ИФН. Результатом недостаточной продукции ИФН-I также может быть истощение CD4+ - и CD8+ -Т-клеток, наблюдаемое при тяжелых формах инфекции.

В работе Мантовани и др. авторы продемонстрировали, что при COVID-19 тяжёлое течение болезни, помимо ослабленного ответа на интерферон I типа, коррелирует с развивающимся ранним воспалительным ответом с высоким содержанием цитокинов и хемокинов [142].

Чрезмерное накопление провоспалительных цитокинов вызывает иммунное повреждение и органную недостаточность. В тяжелых случаях инфекции SARS-CoV-2 синдром высвобождения цитокинов является ее важным отличительным признаком. Было показано, что дисбаланс цитокинов у больных COVID-19 в основном определяется избыточной продукцией

провоспалительных цитокинов, что в конечном итоге приводит к эндотелиальной дисфункции, вызывающей повреждение жизненно важных органов, особенно легких [136]. Цитокиновый профиль, напоминающий гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (sHLH), связан с тяжестью заболевания COVID-19 и характеризуется повышенным содержанием интерлейкинов IL-2, IL-7, гранулоцитарно-колониестимулирующего фактора, ФНО-α, а также хемокинов, в частности CXCL10 (IFNγ-индуцированного белка 10 — IP-10), CCL2 (MCP-1), CCL3 (макрофагального белка воспаления 1a (MIP-1a), 1в (MIP-1в) [87, 167].

К основным факторам риска развития цитокинового шторма у больных COVID-19 относится мужской пол, возраст старше 40 лет, лимфопения, высокие уровни ЛДГ, D-димера, ферритина и IL-6, соответственно эти показатели, являются тестами выбора для диагностики и динамического контроля за течением цитокинового шторма [4].

В тяжелых случаях инфекции SARS-CoV-2 синдром гиперпродукции цитокинов является характерным признаком COVID-19, который, в конечном итоге, приводит к эндотелиальной дисфункции, вызывающей повреждение жизненно важных органов, особенно легких. ОРДС сопровождается развитием аномальной активностью ренин-ангиотензиновой системы, синдромом активации макрофагов, активацией нейтрофилов с развитием окислительного стресса и повышенной коагулопатией [189].

В то же время, Карпович Г.С и соавт. выявили отсутствие ожидаемой гиперпродукции основных провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, TNF-α и др.) в культуре клеток крови у детей COVID-19 с мультисистемным воспалительным синдромом, при этом было выявлено статистически значимое увеличение спонтанной продукции MCP-1 [29]. Авторы высказали предположение, что это может быть следствием генетически обусловленных детерминат, ассоциированных с последующей поляризацией Th2-хелперного иммунного ответа и усилением секреции IL-4 Т-клетками.

1.6. Роль генетики и генетически-опосредованная тяжесть COVID-19

Течение, длительность и исход инфекционного заболевания зависят от характера возбудителя и состояния макроорганизма и, в первую очередь, состояния иммунной системы. В свою очередь, характер и выраженность иммунного ответа во многом определяется генетической вариабельностью факторов иммунной защиты [5].

Также известно, что возраст, пол и наличие сопутствующих заболеваний являются распространенными факторами риска тяжелого течения COVID-19, но, вместе с тем, эти показатели не всегда ассоциируются с восприимчивостью и тяжестью течения инфекции. В настоящее время, фактором, во многом влияющим на тяжесть течения COVID-19, считаются однонуклеотидные полиморфизмы генов [26].

Вследствие этого выявление полиморфизмов генов, влияющих на прогноз клинического исхода и летальность COVID-19 является актуальнейшей задачей сегодняшнего дня. Это позволит улучшить наше понимание иммунопатологических механизмов коронавирусной инфекции, проводить профилактические мероприятия и оптимизировать терапию у лиц с повышенным риском развития тяжелых форм заболевания.

В частности, на сегодняшний день показано, что восприимчивость и тяжесть течения COVID-19 во многом связана с полиморфизмами генов, ответственных за проникновение вируса в организм человека и генов иммунного ответа: ангиотензинпревращающего фермента (ACE2) и трансмембранной сериновой протеазы (TMPRSS), Toll-подобных рецепторов (TLR), антигенов главного комплекса гистосовместимости (HLA) I и II классов, цитокинов [120, 214].

Большое количество исследований позволило установить, что варианты SNP в генах цитокинов связаны с повышенным риском тяжелого течения заболевания, более высокой вероятностью развития сепсиса и высоким уровнем летального исхода у больных COVID-19 [5].

В работе Chaomin Wu, Xiaoyan Chen и др. показано, что однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) генов интерферонов и их сигнальных путей, ФНО, ИЛ1, ИЛ4, ИЛ6, ИЛ7, ИЛ10 и ИЛ17 предрасполагают к развитию у пациентов с тяжёлой формой COVID-19 острого респираторного синдрома [88].

В исследовании Артемьевой О.В. и др. при сопоставлении результатов генотипирования, проведенного среди населения 98 стран, имеющихся в открытых базах данных, была выявлена статистически значимая корреляция между частотой носительства полиморфизма генов IL-6 (174C), IL-10 (1082G), IL-10 (592C), IL-10 (819C), IL-12 (1188A) и показателем уровня смертности (CFR) от COVID-19 [5].

Характеристика наиболее значимых цитокинов и их SNP мутации

Интерлейкин-6 - провоспалительный цитокин**,** являющийся одним из важнейших медиаторов острой фазы воспаления и играющий центральную роль в патогенезе острых инфекционных и иммуновоспалительных заболеваний [90].

При исследовании полиморфизмов гена IL- 6 rs1800796, rs1800795 и rs2228145 не было обнаружено значительной корреляции между частотами указанных полиморфизмов как в генах IL-6, так и IL-6R с показателями распространённости и смертности у больных коронавирусной инфекцией 23 стран, в т.ч. России. После дополнительного проведения анализа неравновесия сцепления генов, было показано, что люди с гаплотипами (GC* и AG*) значительно более защищены от заражения SARS-CoV2. Также в сверхдоминантной модели было обнаружено, что генотип IL-6 −174 G/C защищает пациентов от развития тяжёлой формы заболевания по сравнению с пациентами генотипов G/G-C/C. Авторы исследования постулируют, что генетические полиморфизмы в IL-6 промотора гена влияют на его транскрипцию посредством сложного взаимодействия, определяемого гаплотипом, а не простым аддитивным синергетическим механизмом [91].

Аналогичные данные более значительного содержания генотипа GG полиморфизма – 174 GC были обнаружены у пациентов с COVID-19 при развитии у них синдрома активации макрофагов [2].

Семейство IL-1 считается ключевым медиатором иммунитета и воспаления [84, 169]. IL-1α и IL-1β привлекают и активируют нейтрофилы, моноциты и макрофаги с некоторыми различиями во времени и активности. Эти цитокины работают как на системном уровне, так и в местах локального воспаления, опосредуя повышение температуры, расширение сосудов, ангиогенез, пролиферацию, выработку антител и дифференцировку Т-клеток, презентацию антигена, гемопоэз и реакцию острой фазы.

Показано, что генетический вариант интерлейкина IL1α (rs1946518) связан с повышенным выделением коронавируса из носоглотки у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, и является маркером, указывающим на тяжесть инфекции [218]. Фактор некроза опухоли-α (*TNF)*- один из важных факторов защиты от вирусов, многофункциональный провоспалительный цитокин, который при развитии «цитокинового шторма», реализует свой цитотоксический потенциал на собственные клетки организма, а также вызывает расстройства гемодинамики [171].

Семейство интерлейкинов-17 – семейство провоспалительных цитотоксических цитокинов, вырабатываемых Т-хелперами-17, в ответ на стимуляцию IL-23 [143]. После связывания с рецептором IL-17 активирует несколько сигнальных каскадов, что приводит к выработке хемокинов, которые привлекают моноциты и нейтрофилы к очагу воспаления. Провоцируя воспаление, IL-17 действует совместно с фактором некроза опухоли и интерлейкином-1. Представляет интерес выявление связи между повышением уровней IL-17A, ИЛ-18, VEGF-A с тяжестью заболевания, для определения маркера прогрессирования COVID-19. В исследовании ряда авторов были изучены полиморфизм гена IL-17A (rs2275913; G197A) и уровень IL-17 в сыворотке крови у пациентов с COVID-19 [143]. Несмотря на роль IL-17 в патогенезе воспаления, среди египетских пациентов не было

выявлено связи между полиморфизмом IL-17 и тяжестью заболевания или уровнем IL-17 в сыворотке крови.

Учитывая выброс большого количества провоспалительных субстанций при развитии цитокинового шторма, весьма интересным представляется оценка уровня и экспрессии цитокинов с противовоспалительным эффектом, в частности ИЛ4 и 10.

ИЛ4 - цитокин, индуцирующий дифференцировку Th0-лимфоцитов в Th2-клетки, соответственно, он усиливает пролиферацию В- и Т-лимфоцитов, дифференцировку В-клеток, индуцирует переключение класса иммуноглобулинов в IgE, усиливает выработку MHC II класса, снижает продукцию Th1-клеток, макрофагов, выработку гамма-ИФН [158].

У пациентов с COVID-19 наблюдалось значительно более высокое содержание IL-4 в лёгочной ткани и макрофагах M2, что свидетельствовало о повреждении лёгких, опосредованным IL-4 Th2-типом иммунного ответа, вызванного SARS-CoV-2. Также показано, что у пациентов с COVID-19 вирус активирует апоптоз клеток, посредством повышенной экспрессии Th2 и IL-4 [158].

Функцией ИЛ-10 является защита тканей от повреждения при воспалении. Данный цитокин относится к числу противовоспалительных: подавляет секрецию цитокинов Т-хелперами 1-го типа, контролируя баланс Th1/Th2 и осуществляя регуляцию воспалительного ответа по принципу отрицательной обратной связи. ИЛ-10 индуцирует терминальную дифференцировку В-клеток, обусловливая аллергическую реактивность организма [84, 169].

В работе ряда авторов показано, что у тяжелых и критических пациентов COVID-19 по сравнению с легкими случаями уровни интерлейкинов IL-4 и IL-10 в сыворотке крови значительно повышались [139]. Полиморфизм C-589T гена IL4 ассоциирован с повышенной промоторной активностью гена. Аллельные варианты GA и GG-1082 гена IL10 обладают большей активностью по сравнению с генотипом AA-1082 гена IL10. При этом анализ отношения

шансов показал, что патогенетического значения между полиморфизм как C-589T гена IL4, так и G-1082A гена IL10 и риском развития новой коронавирусной инфекции в исследованных группах выявлено не было [1].

Интересным фактом является обнаружение связи между однонуклеотидными полиморфизмами IL4 и титрами антител через 3 недели после первой вакцинации в качестве первичного иммунного ответа [56, 208].

Как известно, интерфероны (ИФН) являются важной составляющей противовирусной защиты организма, вариабельность их генов также влияет на восприимчивость и тяжесть течения COVID-19. В настоящее время установлено, что ИФН-γ в сочетании с ИФН-β ингибирует репликацию SARS-CoV-2. Причем наличие полиморфного аллеля IFNγ+874A более значимо для восприимчивости к данной инфекции, тогда как генотип TT является протективным аллелем, позволяющим снизить восприимчивость к этому вирусу [177].

Результаты изучения мутаций SNP *IFNβ* (rs2071430 — G/T) и *INFγ* в африканских и азиатских популяциях позволили установить связь с заражением как SARS CoV, так и SARS CoV-2. Кроме того, полиморфизм *IFNγ* + 874A/T (rs2430561) и полиморфизмы A/C были связаны с тяжелым течением SARS-CoV в китайской популяции [239].

Также были изучены полиморфизмы генов, кодирующих белки рецепторов интерферона: IFNAR1, IFNAR2, а также трансмембранные белок IFITM3. Результаты исследований позволили установить, что варианты IFNAR1 (p.Trp73Cys, p.Ser422Arg и p.Pro335del) и IFNAR2 (p.Glu140fs) были связаны с повышенным уровнем инфицирования SARS-CoV-2, а однонуклеотидный полиморфизм в гене индуцируемого интерфероном трансмембранного белка 3 (IFITM3) (rs12252-C/C) связан с тяжестью течения COVID-19 и с госпитализацией в отделение интенсивной терапии [113].

Темой значительного числа исследований последнего времени является роль Toll-like рецепторов в патогенезе заболеваний дыхательных путей вирусной этиологии. Так, SARS-CoV-2 в основном активирует TLR2, TLR3,

TLR4, TLR7/8, TLR9 и индуцирует соответствующие пути иммунного ответа. Проникая в клетку, SARS-CoV-2, связывается с эндосомальными Toll-рецепторами 3-го и 7-го, а также 8-го и 9-го порядков, играющих главную роль в распознавании вирусной РНК. За этим следует продукция интерферонов I и II типов и большого количества провоспалительных цитокинов – TNFα, IL-1 и IL-6 [210], при этом показано, что тяжесть течения COVID-19 может быть обусловлена полиморфизмами генов Toll-подобных рецепторов [6].

Белок E SARS-CoV-2 напрямую взаимодействует с TLR2, вызывая развитие воспалительных реакций [218]. Передача сигналов TLR необходима для секреции противовирусных цитокинов, хемокинов и интерферонов, особенно интерферонов I типа, которые помогают контролировать инфекцию и определять исход заболевания. При этом защитный противовирусный ответ может, в случае нарушений TLR-опосредованных реакций, привести к тяжёлому течению заболевания и летальному исходу из-за неспособности организма вырабатывать эффективные врождённые иммунные реакции.

TLR-2 — это рецептор экспрессируемый в иммунных, эндотелиальных и эпителиальных клетках, экспрессия TLR2 была идентифицирована как рецептор SARS-CoV-2, который стимулирует выработку воспалительных цитокинов, способствуя нарушению регуляции иммунного ответа, у пациентов с тяжёлой формой COVID-19 [218]. Работой рада авторов [106, 218] показано**,** что у пациентов с тяжёлой формой COVID-19 и острым респираторным дистресс-синдромом генотип TT (rs3804099 и rs3804100) влияет на способность TLR-2 реагировать на шиповидный белок SARS-CoV-2, тогда как аллель C при стимуляции повышает уровень IL-10, IL-6 и TNF-α. В исследовании [6, 20] было выявлено, что риск и тяжесть COVID-19 повышается при наличии у больных вариантов TLR2 rs5743708 и TLR9 rs5743836 [105].

Толл-подобный рецептор 3 экспрессируется в иммунных и неиммунных клетках, таких как мДК, CD8+ Т-клетки, NK-клетки, эпителиальные клетки кишечника, фибробласты лёгких, кожи и клетки ЦНС. TLR-3 распознает

двухцепочечную РНК и активирует противовирусные иммунные реакции посредством выработки воспалительных цитокинов и интерферонов I типа [118]. TLR-3 стимулирует регуляторный фактор транскрипции (IRF-3) IFN-α и IFN-β в течение первых 24 часов после заражения SARS-CoV-2. Затем TLR-3 запускает сигнальный путь NF-kB, что приводит к высвобождению воспалительных цитокинов [95].

В работах ряда авторов было показано, что уровень транскрипции TLR-3 повышен в эпителиальных клетках носоглотки у пациентов COVID-19 с клиническими симптомами в сравнении с показателями в контрольной группе, а более низкая экспрессия TLR3 в периферической крови была связана с неблагоприятным исходом у пациентов с тяжёлой формой COVID-19 [6, 183].

В работе Zhang Q. et al показано, что у 3,5% пациентов с опасной для жизни пневмонией, вызванной COVID-19, были известные (дефицит AR IRF7 и IFNAR1 или дефицит AD TLR3, TICAM1, TBK1 и IRF3) или новые (дефицит AD UNC93B1, IRF7, IFNAR1 и IFNAR2) генетические дефекты в восьми из 13 локусов-кандидатов, участвующих в TLR-3- и IRF7-зависимой индукции и усилении выработки интерферонов I типа. Это открытие указывает на важную роль TLR-3 в качестве сенсора двухцепочечной РНК [136].

TLR-3 могут менять свою конформацию вследствит SNP мутаций, таких как rs377591 и rs3775290. TLR-3 SNP rs3775291, также известный как L412F, представляющий собой несинонимичную (C → T) мутацию по замене аминокислот в экзоне 4 (Leu412Phe) в положении 412 и приводящую к снижению активности этого рецептора. Однонуклеотидный полиморфизм rs3775290 (F459L), в свою очередь, представляет собой мутацию в экзоне 4 (C>T) с заменой аминокислот в положении 459 белка (Phe459Leu), что изменяет экзодомен TLR3. Это негативно влияет на взаимодействие между лигандом и рецептором и на эффективность передачи сигнала в TLR3 [6].

Мутантные генотипы «T/T» и аллели «T» полиморфизмов TLR3 (rs3775290) и TLR7 (rs179008) были значительно связаны с повышенным риском развития пневмонии при COVID-19 [6].

Известно, что вариант TLR3 полиморфизма rs3775291 снижает экспрессию TLR3 на поверхности клетки и приводит к недостаточному распознаванию двухцепочечной РНК SARS-CoV-2 во время репликации по сравнению с аллелем WT [141]. Функциональная роль полиморфизма L412F, как маркера тяжести течения COVID-19, была продемонстрирована у мужчин. Эта мутация специфически влияла на TLR3-зависимую аутофагию и снижала выработку TNF-α после стимуляции клеток HEK293, трансфицированных плазмидой, кодирующей L412F, специфическим агонистом TLR3. В связи с этим представляют интерес данные ряда авторов, что у пациентов COVID-19 с L412F-мутацией, принимавших ингибитор аутофагии гидроксихлорохин, была снижена выживаемость в течение 28 дней. Авторы работы предполагают, что результаты клинических испытаний гидроксихлорохина следует интерпретировать с учётом статуса полиморфизма TLR3-L412F [64].

В работе (Silva MJA) был проведен анализ взаимосвязи миссенс-SNP rs3775291 (C>T) и rs3775290 (C>T) TLR3 и COVID-19 в когорте пациентов Амазонии в Бразилии. В этой выборке исследуемых не был обнаружен гомозиготный рецессивный генотип (T/T) однонуклеотидного полиморфизма rs3775291. При этом частота мутантного аллеля (T) в выборке составила менее 2%. Для однонуклеотидного полиморфизма rs3775290 частота мутантного аллеля (T) в выборке составила более 42%, что было характернно для района Амазонии в сравнении с другими районами Латинской Америки. В этой выборке не было обнаружено значимой связи между этими однонуклеотидными полиморфизмами и COVID-19 [83].

В другой работе этих авторов результаты метаанализа указывали на значимую связь между полиморфизмом TLR3 rs3775291 и восприимчивостью к инфекциям в азиатской и американской подгруппах в доминантной генотипической модели (CT + TT против CC), однако тот же полиморфизм (rs3775291) играл защитную роль в Европе, что требует проведения дополнительных исследований [98].

На сегодняшний день установлено, что у пациентов с тяжёлой формой COVID-19 наблюдался особый фенотип, характеризующийся выраженным ослаблением интерферонового ответа (ИФН) I типа и усиленной воспалительной реакцией. В связи с этим наиболее интересной представляется работа по изучению возможной связи однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в генах, связанных с иммунным ответом: rs3775291 в TLR3; rs2292151 в TICAM1; rs1758566 в IFNA1; rs1800629 в TNF и rs1800795 в IL6 с тяжестью течения COVID-19 [88]. Отмечается работа Braga M, Shiga MAS и др., в которой было показано, что генотип rs3775291 TLR3 в рецессивной модели T/T в 58% ассоциируется с защитой от тяжелого критического COVID-19 [83].

Кроме этого, мутантные генотипы «T/T» и аллели «T» полиморфизмов TLR3 (rs3775290) и TLR7 (rs179008) были значительно связаны с повышенным риском развития пневмонии при COVID-19 [162].

TLR4 экспрессируют клетки врождённого иммунитета, такие как, моноциты, макрофаги и дендритные клетки. Показано, что экспрессия кальпротектина в нейтрофилах регулируется через путь TLR4 в ответ на белок Spike и что адаптерный белок Docking Protein 3 сдерживает выработку кальпротектина во время инфекции при активации TLR4 [78]. LR7 конститутивно экспрессируется в плазмоцитоидных и миелоидных дентритных клетках, B-клетках и моноцитах, в меньше степени – в естественных киллерах (NK) и T-клетках, а также в неимунных клетках – гепатоцитах, эпителиальных клетках и кераттиноцитах.

В ряде работ проведена оценка распространения полиморфизма rs179008 в гене белка TLR7. Полиморфный вариант rs179008 представляет собой миссенс-мутацию, с заменой глицина на лейцин. Это приводит к укорачиванию N-региона и удлинению H-региона TLR7, что может влиять на посттрансляционную модификацию белка [22].

При исследовании полиморфизма rs179008 A/T аллеля TLR7 у больных COVID-19 в группах пациентов с лёгкой, средней и тяжёлой формах COVID-19 не было выявлено статистически значимых различий [73] в другой работе

показано, что мутантный аллель T был связан с повышенным риском развития пневмонии при COVID-19, но не с исходом заболевания (TLR7 (rs179008) [162].

Также в работе ряда авторов при изучении влияния полиморфизма rs179008 (A/T) в гене TLR7 и группы крови на тяжесть течения COVID-19 было показано, что генотип (AA) полиморфизма TLR7 rs179008 является фактором риска и влияет на тяжесть течения COVID-19 [235]. Исследование SNP мутации rs3853839 гена TLR7 показало, что генотип G/G и аллель G могут быть генетическими факторами риска развития COVID-19, тяжёлого течения болезни и неблагоприятного клинического исхода у людей среднего возраста без сопутствующих заболеваний, при этом у пациентов с генотипом GG был самый высокий уровень экспрессии мРНК TLR7, а у пациентов с генотипом CC — самый низкий [114]. При этом авторы считают, что вследствие немногочисленности исследований необходимо проводить дальнейшие, более углубленные работы по этому вопросу.

Зависимость реакций врождённого иммунитета от передачи сигналов TLR7 была выявлена в группах пациентов мужского пола с тяжёлой формой заболевания, особенно среди молодых пациентов [111]. Был изучен 21 однонуклеотидный полиморфизм генов, участвующих в распознавании SARS-CoV-2 TLR7, в противовирусном иммунитете в качестве сигнального пути интерферона I типа (TYK2, STAT1, STAT4, OAS1, SOCS) и вазоактивном интестинальном пептиде и его рецепторах (VIP/VIPR1,2). Соотносительно со всеми указанными полиморфизмами, именно rs3853839-GG гена TLR7 с наибольшей статистической значимосью был связан с тяжестью COVID-19 (OR 1,44 [95% ДИ 1,07- 1,94]; p = 0,016).

Toll-подобный рецептор 9 (CD289) экспрессируется на эндосомах, инвагинированных из плазматической мембраны в ДК, макрофагах, НК, других АПК, связывается с ДНК (преимущественно с ДНК, содержащей неметилированные CpG-последовательности) SARS-CoV-2, активируется, перемещается в аппарат Гольджи и лизосомы, где взаимодействует с MyD88,

в результате чего запускаются сигнальные каскады, приводящие к выработке интерферонов I типа, IL-6, TNF и IL-12 и др. Интересно, что тромбоциты и нейтрофилы могут повышать экспрессию TLR9, что приводит к постоянной активации воспаления у больных COVID-19 [85].

Поскольку TLR9 в настоящее время предложен в качестве важного фактора, объясняющего гипервоспаление, а также мультисистемные и тромботические осложнения у пациентов с COVID-19 [136] в вышеуказанной работе AM.Alhabibi et al. также анализировали наличие ассоциативных связей между вариантами TLR2 rs5743708 G>A. TLR9 rs5743836 C>T и тромбозом с помощью внеклеточных ловушек нейтрофилов (NET) (в качестве индикатора использовали цитруллинированный гистон). Наличие указанных мутаций, ассоциируемых с тяжелым течением COVID-19, в то же время не имело значимой связи между этими двумя вариантами и тромбозом [52].

При изучении частоты однонуклеотидных полиморфизмов генов TLR7, TLR9, TLR10 было показано, что аллель G гена TLR7 C.4-151 A/G и генотип GG; аллель C гена TLR9 T-1486C и генотипы TC, CC; аллель C гена TLR10 720A/C; аллель A гена TLR10 992T/A и генотип AA были статистически значимыми у пациентов с COVID-19 по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$). Кроме того, между группами с разной степенью тяжести наблюдалась статистически значимая разница в распределении частот аллелей и генотипов TLR7, TLR9 и TLR10 ($p<0,05$) [81]. Результаты данных исследований позволяют предположить, что полиморфизмы TLR7, TLR9 и TLR10 могут иметь решающее значение для клинического течения заболевания и восприимчивости к инфекции.

Таким образом, учитывая продолжающуюся циркуляцию SARS-CoV-2 и продолжающиеся мутации вируса, COVID-19 остается актуальной инфекцией. Имеется когорта пациентов, которые переносят заболевание тяжело и могут умереть. Исследования взаимосвязи клинических характеристик, лабораторных маркеров, интерлейкинового статуса, генетической предрасположенности и тяжести заболевания многочисленны и

проводятся в разных странах, но тем не менее, остаются противоречивыми. Поиск предикторов тяжелого течения COVID-19 дает определенные результаты, однако в большинстве случаев они являются громоздкими и не применяются на практике. В связи с этим остается актуальной задача выявления наиболее значимых прогностических факторов в развитии тяжелых форм и неблагоприятных исходов COVID-19, а также разработка эффективных и простых прогностических математических моделей на основании этих данных.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика исследованных больных

Исследование проводилось с августа 2021 г. по февраль 2022 г. на клинических базах кафедры инфекционных болезней Пензенском институте усовершенствовании врачей - филиале федерального государственного автономного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» (руководитель – заведующая кафедрой, к.м.н. О.Н. Лесина) – в инфекционном боксированном отделении и отделении реанимации и интенсивной терапии ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» (главный врач – к.м.н. С.Б. Рыбалкин). Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом. Пациенты старше 18 лет были информированы о целях и дизайне исследования и подписали информированное согласие. Критерии включения: больные COVID-19, подтвержденной данными клинико-лабораторного обследования, включая положительные результаты исследования мазка из носа и ротоглотки методом амплификации нуклеиновых кислот на SARS-CoV-2, наличие информированного согласия испытуемого. Критерии невключения: больные с коинфекцией, вызванной ВИЧ; беременные; пациенты до 17 лет 11 мес 29 дн; нежелание участвовать в исследовании. Критерии исключения:

отрицательный результат мазка из носа и ротоглотки методом ПЦР на SARS-CoV-2 при первом обращении к врачу.

Исследование проводилось в 5 этапов.

Для решения поставленных задач на 1-м этапе было обследовано 395 госпитализированных пациентов с клиническими проявлениями, причиной которых могла быть коронавирусная инфекция (кашель, одышка, лихорадка). Для верификации диагноза проводилось исследование мазков из носа и зева на наличие генома SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции, забор клинического материала осуществлялся в первые два часа от момента госпитализации до начала противовирусной терапии. Те пациенты, у которых вирус SARS-CoV-2 не обнаруживался, в дальнейшее исследование не включались.

Таким образом, в исследование были включены 209 пациентов старше 18 лет с верифицированной коронавирусной инфекцией (в возрасте от 22 до 95 лет). Все данные, необходимые для исследования, в том числе результаты лабораторный диагностики и инструментального обследования, вносились в специально разработанные индивидуальные карты пациента.

На 2 этапе проводилось изучение клинико-лабораторных особенностей заболевания в зависимости от степени тяжести заболевания, пола и возраста. Распределение было следующим: по степени тяжести (3 группы) - 1 группа - 97 (46,4%) пациентов с легкой степенью тяжести, 2 группа - 63 (30,1%) пациента со средней степенью тяжести, 3 группа - 49 (23,4%) пациентов с тяжелой степенью тяжести заболевания). В зависимости от пола пациенты были распределены на 2 группы - А группа пациенты мужского пола (75 мужчин) и Б группа пациенты женского пола (134 женщины). В зависимости от возраста пациенты в соответствии с рекомендациями ВОЗ распределены на 4 группы - I группа - 27 (12,9%) пациентов молодого возраста (от 18 до 44 лет, II группа - 28 (13,4%) больных среднего возраста (от 45 до 59 лет), III группа - 93 (44,5%) человека пожилого возраста (с 60 до 74 лет) и IV группа - 61 (29,2%) пациент старческого возраста (75 лет и старше). В сравниваемых группах

использовались следующие лабораторные и инструментальные методы обследования: клинический анализ крови с подсчетом количества лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитарной формулы, скорости оседания эритроцитов; биохимический анализ крови с определением уровня общего белка и альбумина, мочевины и креатинина, общего и прямого билирубина, глюкозы, АЛТ и АСТ, ЛДГ; коагулограмма, в том числе Д-димер, АЧТВ, МНО, протромбиновое время, протромбин по Квику; определение уровня прокальцитонина, ферритина; бактериологическое исследование мокроты, компьютерная томография органов грудной клетки, ЭКГ, УЗИ сосудов нижних конечностей и плевральных полостей. В индивидуальных случаях по показаниям проводились дополнительные исследования. Были определены наиболее достоверные и значимые клинические проявления, и лабораторные показатели для прогноза тяжелого течения заболевания.

На 3 этапе изучались иммунологические показатели при коронавирусной инфекции COVID-19 в сравнении со здоровыми людьми и в зависимости от различной степени тяжести у взрослых пациентов – показатели врожденного иммунитета, а именно активность нейтрофилов хемилюминесцентным методом, показатели адаптивного иммунитета (Ig A, Ig M, Ig G, CD-4, CD-8, CD-16, CD-19) и регуляторные про- и противовоспалительные цитокины (интерферон-γ, интерлейкин 18, интерлейкин-10, интерлейкин-4, фактор некроза опухоли-альфа).

На 4 этапе изучались генетические полиморфизмы Toll-like рецепторов и ряда интерлейкинов у пациентов в сравнении со здоровыми людьми и при COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания. Были выбраны для изучения генетических полиморфизмов TLR3 (rs3775291), TLR9 (rs352140), TLR7 (rs3853839), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791), TLR2 (rs574708) и IL-4 (C-589T), IL-10 (G-1082A), IL-17A (G-197A), IL-1β (T-31C), TNF-α (G308A), INF-γ (rs2430561), IFNL3 (rs12979860), INFL4 (rs368234815), INF a/b –receptor (rs9984273), IL-6 (rs180795), IL-2 (T330G).

На 5 этапе разрабатывались математические модели для прогноза тяжести и исходов заболевания.

2.2 Методы обследования

У всех 209 пациентов изучались анамнез заболевания, сроки поступления в стационар, проводился анализ жалоб, результатов объективного осмотра, основных клинических симптомов и длительности госпитализации. Программа обследования включала общеклинические, инструментальные и специальные лабораторные (в том числе иммунологические и генетические) методы исследования.

2.2.1 Общеклинические методы обследования

Клиническое обследование пациентов включало сбор жалоб (кашель, повышение температуры, одышка, аносмия, боль в грудной клетке), эпидемиологического анамнеза (возвращение из зарубежной поездки за 14 дней до появления симптомов; наличие тесных контактов за последние 14 дней с лицом, находящимся под наблюдением по COVID-19, который в последующем заболел; наличие тесных контактов за последние 14 дней с лицом, у которого лабораторно подтвержден диагноз COVID-19; наличие профессиональных контактов с лицами, у которых выявлен подозрительный или подтвержденный случай заболевания COVID-19), анамнеза жизни (данные об аллергических реакциях, наличие сопутствующих заболеваний, перенесенные заболевания), физикального осмотра всех систем организма.

Общеклиническая лабораторная и молекулярно-биологическая диагностика проводились сотрудниками клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» (заведующая лаборатории – Еникеева Ф.Ш.) в рамках стандартного общеклинического обследования и включала в себя: клинический анализ крови (количество лейкоцитов, тромбоцитов, скорость оседания эритроцитов (СОЭ)) и мочи; биохимическое

исследование крови (определение билирубина сыворотки, определение активности трансаминаз (АЛТ, АСТ), определение глюкозы, мочевины и креатинина сыворотки, определение активности амилазы); коагулограмма, в том числе АЧТВ, МНО, Д-димер; определение уровня прокальцитонина, ферритина; молекулярно-биологический метод (выявление РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале – мазок из носа и ротоглотки - методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно - флуоресцентной детекцией, аналитическая чувствительность набора $1x10^4$ копий на мл (аппарат Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот ROTOR JENE 6000) применяется для верификации этиологической диагностики.

Инструментальная диагностика проводилась в ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» в отделении функциональной диагностики (заведующий отделением – Чулкова О.М.): компьютерная томография легких (32-х срезовый компьютерный томограф SUPRIA фирмы HITACHI 2021 год), рентгенологическое и следование легких (аппарат КРДЦ «Медиграф»), ультразвуковое исследование (аппарат Esaote my lab class c).

2.2.2. Иммунологические и генетические методы

Иммунологические и генетические методы исследования были выполнены в Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ), входящей в состав научно-образовательного центра (НОЦ) ПИУВ-филиала ФГАОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (директор – к.м.н., доцент Вихрев Д.В., заведующая ЦНИЛ – д.м.н., профессор Баранова Н.И.): определение абсолютного количества лейкоцитов и нейтрофилов периферической крови проводили на аппарате Sysmex XP 300; исследование функциональной активности нейтрофилов изучали хемилюминесцентным методом; определение сывороточных иммуноглобулинов A, M, G, E методом Mancini (простая радиальная иммунодиффузия с использованием моноспецифических антисывороток к соответствующим иммуноглобулинам); оценка цитокинового

профиля включала определение уровней IL-4, IL-10, IL-18, γ-IFN, TNF-α в сыворотке крови, а также супернатанте; изучение спонтанной и ФГА-индуцированной продукции клеток иммунной системы методом твердофазного ИФА; исследование уровней основных популяций лимфоцитов, методом проточной цитофлюориметрии с использованием моноклональных антител (МКА) вычисление соотношения CD4/CD8 – иммунорегуляторного индекса (ИРИ). Определение полиморфизмов генов цитокинов IL-4 (C-589T), IL-10 (G-1082A), IL-17A (G-197A), IL-1β (T-31C), TNF-α (G308A), INF-γ (rs2430561), IFNL3 (rs12979860), INFL4 (rs368234815), INF a/b –receptor (rs9984273), IL-6 (rs180795), IL-2 (T330G), TLR3 (rs3775291), TLR9 (rs352140), TLR7 (rs3853839), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791), TLR2 (rs574708) осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени наборами. С образцом выделенной ДНК параллельно проводили две реакции амплификации – с двумя парами аллель-специфичных праймеров.

Изучение факторов врожденного иммунитета

1. Определение абсолютного количества лейкоцитов и нейтрофилов периферической крови на аппарате Sysmex XP 300.

2. Исследование функциональной активности нейтрофилов хемилюминесцентным методом

Забор крови в объёме 5 мл осуществляли из кубитальной вены в вакутейнеры с Li-гепарином в конечной концентрация гепарина 5 ЕД/мл. Кровь хранили в холодильнике при температуре +6°С не более двух часов. Функциональную активность нейтрофилов изучали с помощью хемилюминесцентного анализа по методике, предложенной И.В. Образцовым, которая заключается в последовательной стимуляции нейтрофилов двумя стимулами (форбол-12-миристат-13-ацетатом (ФМА) и N-формилметионил-лейцил-фенилаланином (фМЛФ) с последующей регистрацией

хемилюминесценции (ХЛ) на аппарате Lum-1200 (ДИСофт, Россия) с программным обеспечением PowerGraph 3.0. В качестве активатора ХЛ использовали люминол (Sigma-Aldrich), что позволило охарактеризовать синтез нейтрофилами первичных и вторичных форм активных форм кислорода (АФК). В качестве объекта была использована цельная кровь, поскольку выделение фагоцитов в градиенте плотности активирует клетки и усложняет процедуру анализа. Используемый в качестве стимула ФМА (Sigma-Aldrich), выполняет роль праймирующего стимула (активирует нейтрофилы, при этом не происходит полноценного ответа, но запускаются процессы, ведущие к усиленному отклику), а фМЛФ (Sigma-Aldrich) является основным стимулом для люминол-зависимой хемилюминесценции.

Методика осуществлялась по следующей схеме. Для измерения показателей спонтанной продукции нейтрофилов в кювету хемилюминометра вносили 450 мкл среды, 25 мкл 1 мМ раствора люминола (конечная концентрация 45 мкМ), 25 мкл цельной крови и регистрировали хемилюминесценцию (ХЛ) в течение 10 минут. В качестве среды использовали раствор Хенкса с глюкозой (Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН). Для праймирования нейтрофилов в пробы добавляют 50 мкл ФМА с концентрацией 0,5 мкг/мл (конечная концентрация 0,081 нМ), регистрировали сигнал в течение 20 минут. Для оценки показателей стимулированной продукции нейтрофилов вносили 55 мкл 100 мкМ фМЛФ (конечная концентрация 10 мкМ) и регистрировали ХЛ-ответ не менее 60 минут до полного угасания сигнала.

Определяли следующие показатели ХЛ: нормированная светосумма спонтанной и ФМА+фМЛФ-стимулированной продукции нейтрофилов (Sспонт., Sстим.) (показатель светосуммы, деленный на абсолютное количество нейтрофилов в образце крови), нормированная максимальная интенсивность свечения нейтрофилов (Imax) (максимальная интенсивность, деленная на абсолютное количество нейтрофилов в образце крови), коэффициент активации (Ка), равный отношению показателя нормированной

светосуммы (ФМА (форбол-12-миристат-13-ацетатом) + Фмлф (N-формилметионил-лейцил-фенилаланином) стимулированных нейтрофилов к показателю нормированной светосуммы спонтанной продукции нейтрофилов. Единицы измерения показателей светосуммы и максимальной интенсивности свечения выражали в PPs (количество импульсов света в секунду времени в пересчете на миллион нейтрофилов).

Изучение факторов адаптивного иммунитета

Определение сывороточных иммуноглобулинов A, M, G.

Для оценки гуморального иммунитета было проведено исследование уровней сывороточных иммуноглобулинов классов A, M, G. Определение уровней иммуноглобулинов классов A, M, G проводили в сыворотке крови с помощью метода Mancini [169] – простой радиальной иммунодиффузии с использованием моноспецифических антисывороток к соответствующим иммуноглобулинам производства ФГУП НПО «Микроген» (Нижний Новгород).

Оценка цитокинового профиля включала определение уровней IL-4, IL-10, IL-18, γ-IFN, TNF-α в сыворотке крови, а также супернатанте спонтанной и ФГА-индуцированной продукции клеток иммунной системы.

В исследование было проведено изучение уровней IL-4, IL-10, IL-18, γ-IFN, TNF-α в сыворотке крови методом твердофазного ИФА и наборами ЗАО «Вектор-Бест» (Россия, Новосибирск). Концентрацию измеряли на иммуноферментном анализаторе «Star Fax» 3200 и выражали полученные величины в пг/мл.

Методика постановки теста ex vivo для определения спонтанной и ФГА (фитогемагглютинин)-индуцированной продукции клеток иммунной системы осуществлялась по следующей схеме. Забор крови на исследование у пациентов осуществляли утром, натощак из кубитальной вены в объёме 5 мл в вакутейнеры с Li-гепарином. Кровь разбавляли до концентрации 1:4 стерильной средой 199 с солями Хенкса и глутамином производства «ПанЭко»

(Россия), которая содержала 50 мкг/мл гентамицина. Далее для постановки спонтанной продукции клеток в пробирку добавляли 2 мл разбавленной крови (1:4). Для постановки индуцированной продукции клеток использовали ФГА. Данный митоген был выбран в качестве стимулятора клеток иммунной системы из-за избирательной способности активировать Т-клетки, которые продуцируют изучаемые нами цитокины. При постановке индуцированной продукции использовали ФГА производства «ПанЭко» (Россия), с концентрацией 5 мг, из которого готовили рабочий раствор путем разбавления его в 1 мл физиологического раствора 0,9% NaCl до концентрации 5 мг/мл. В пробирку добавляли 1 мл разбавленной крови (1:4) и 3 мкл ФГА с концентрацией 5 мг/мл. Далее проводилась инкубация в течение 24 часов при 37°С. Пробирки охлаждали, центрифугировали 10 минут при 1200g, супернатант отбирали и замораживали. Определение концентрации IL-4, IL-10, IL-18, γ-IFN, TNF-α в супернатанте спонтанной и ФГА-индуцированной продукции клеток иммунной системы осуществлялось методом твердофазного ИФА наборами ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Концентрацию измеряли на иммуноферментном анализаторе «Star Fax» 3200 и выражали полученные величины в пг/мл.

Для оценки клеточного иммунитета было проведено исследование уровней основных популяций лимфоцитов, а также вычисление соотношения CD4/CD8 – иммунорегуляторного индекса (ИРИ). Иммунофенотипирование субпопуляций Т-лимфоцитов проводили методом проточной цитофлюориметрии с использованием моноклональных антител (МКА) серии ИКО производства ООО «Сорбент» (Россия) на приборе BD Facs Calibur (США). На поверхности лимфоцитов выделялись следующие дифференцировочные антигены:

CD4 – дифференцировочный антиген Т-хелперов, выполняющий роль рецептора для антигенов HLA 2-го класса;

CD8 – дифференцировочный антиген цитотоксических Т-лимфоцитов, участвующих в распознавании молекул HLA 1 класса;

CD19 – дифференцировочный антиген, экспрессируется на всех В-клетках;

CD 16 – дифференцировочный антиген, экспрессируется на NK-клетках

Для выявления фиксированных на лимфоцитах МКА добавляли меченую ФИТЦ кроличью сыворотку против иммуноглобулинов (Ig) мыши. Препараты изучались на проточном цитометре ВД FACSCalibur (США).

Для изучения функционального состояния Т-лимфоцитов проводили постановку реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ). Данная реакция характеризует функциональную способность Т-лимфоцитов к пролиферации и накоплению клона клеток под воздействием митогенов. Методика осуществлялась по следующей схеме. В стерильную пробирку вносили 1 мл стерильной среды 199 с солями Хенкса и глутамином производства «ПанЭко» (Россия), которая содержала 50 мкг/мл гентамицина. Далее добавляли 0,25 мл эмбриональной телячьей сыворотки «ПанЭко» (Россия), 50 мкл гепаринизированной крови и 3 мкл ФГА, с концентрацией 5 мг/мл производства «ПанЭко» (Россия). Проводилась инкубация при 37°С в течение 72 часов. Во флаконы добавляли 1,5 мл 10% уксусной кислоты, тщательно ресуспендировали и центрифугировали при 1200 об./мин. в течение 10 минут. Отбирали надосадочную жидкость, к осадку добавляли 30 мкл 95° этилового спирта, осадок ресуспендировали и наносили на предметное стекло. Мазки окрашивали по методу Романовского-Гимза. Подсчет бластных форм в окрашенных препаратах производили под иммерсионной системой микроскопа при увеличении ОКх10, ОБх60 (просчитывали не менее 300 лимфоцитов). Вычисляли процентное содержание бластных клеток.

Изучение генетических полиморфизмов генов Toll-likE рецепторов и интерлейкинов

Для определения полиморфизмов генов цитокинов проводился забор крови для исследования у пациентов утром, натощак из кубитальной вены в объёме 5 мл в вакутейнеры с ЭДТА. Выделение ДНК проводили из 1 000 мкл

цельной венозной крови наборами «Проба-рапид-генетика» согласно прилагаемой инструкции («ДНК-технология», Россия). Полученные препараты ДНК хранили при температуре от минус 18˚С до минус 22˚С не более одного месяца. Оценка полиморфизмов генов IL-4 (C-589T), IL-10 (G-1082A), IL-17 (G-197A), IL-1β (T-31C), TNF-α (G-308A) в полученных образцах ДНК проводилась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени наборами «SNP-Экспресс» («НПО Литех», Россия) на ампификаторе DT-lite («ДНК-технология», Россия). С образцом выделенной ДНК параллельно проводили две реакции амплификации – с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Постановку ПЦР для выявления полиморфизмов генов IL-4, IL-10, IL-17A, IL-1β, TNF-α, INF-γ, IFNL3, INFL4, INF a/b –receptor, IL-6, IL-2 проводили согласно инструкции к наборам.

Изучение полиморфизмов генов TLR3 (rs3775291), TLR9 (rs352140), TLR7 (rs3853839), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791), TLR2 (rs574708) и интерлейкинов у пациентов было проведено в Центральной научно-исследовательской лаборатории Пензенского института усовершенствования врачей – филиала ФГАОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. От всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на проводимые исследования.

Забор крови для исследования у пациентов осуществляли утром, натощак из кубитальной вены в объёме 5 мл в вакутейнеры с ЭДТА. Выделение ДНК проводили из 1 000 мкл цельной венозной крови наборами «Проба-рапид-генетика» согласно прилагаемой инструкции («ДНК-технология», Россия). Полученные препараты ДНК хранили при температуре от минус 18˚С до минус 22˚С не более одного месяца. Оценка полиморфизмов генов TLR3 (rs3775291) и TLR9 (rs352140) в полученных образцах ДНК проводилась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени наборами «SNP-Экспресс» («НПО Литех», Россия) на ампификаторе DT-lite («ДНК-технология», Россия). С образцом выделенной

ДНК параллельно проводили две реакции амплификации – с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Постановку ПЦР для выявления полиморфизмов генов TLR3 (rs3775291) и TLR9 (rs352140) проводили согласно инструкции к наборам.

2.3 Методы статистической обработки

Статистическая обработка результатов была проведена с помощью современных математических пакетов статистической обработки и специализированных языков программирования на персональном компьютере, а также с применением программы SPSS для проведения дискриминантного и ROC анализов. Результаты исследования считаются статистически значимыми при $p<0,05$. Были использованы методы параметрической и непараметрической статистики (Гланц С. 1999, Платонов А.Е. 2000, Реброва О.Ю. 2002). Проверка на нормальность распределения по выборке осуществлялись с помощью критерия Колмогорова-Смирнова.

При обработке полученных результатов исследований были использованы методы непараметрической статистики.

1. Для каждого параметра X определяли следующие показатели: медиана (Me) и интерквартильный размах 25% (LQ) и 75% (UQ).

2. Сравнение количественных признаков в независимых группах проводили по методу Манна-Уитни. Проверялась гипотеза о равенстве средних рангов. Также применялся метод Вальда-Вольфовица, для проверки гипотезы о том, что исследуемые группы получены из одной генеральной совокупности, а также нулевой гипотезы об отсутствии различий между группами. При $p<0,05$ различие между количественными признаками считались статистически значимыми.

3. Сравнение количественных признаков в независимых группах проводили методом Краскела-Уоллиса – это аналог непараметрических тестов по критериям Вальда-Вольфовица, Колмогорова-Смирнова и Манна-Уитни, который применяется для сравнения более чем двух групп.

Исследование взаимосвязи между изучаемыми показателями проводилось с помощью метода корреляционного анализа по Спирмену с вычислением коэффициента корреляции (r). Коэффициент корреляции (r), характеризующий прямую связь, обозначали знаком «+», обратную – «-». Сила коэффициента: r> 0,70 – сильная, r = 0.50-0.69 – средняя, r<0,49 – слабая. Проведение многофакторного анализа позволяет определить значимые показатели у пациентов с тяжелым течением новой коронавирусной инфекции COVID-19.

При изучении генетических показателей для оценки различия групп по качественному признаку использован критерий $\chi 2$ с поправкой Yates, а при нарушении условий его применимости – двусторонний критерий Фишера (PF). Различие групп считали статистически значимым при $p<0,05$. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов odds ratio (OR) и 95% доверительному интервалу.

Для информационной конфиденциальности использовался персональный компьютер с созданием базы данных. Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 12.0».

Глава 3. Клинические и лабораторные особенности COVID-19 у пациентов в зависимости от степени тяжести заболевания, пола, возраста и их прогностическое значение

Постановлением губернатора Пензенской области (ПО) на территории региона с 16.03.2020г. введен режим повышенной готовности по COVID-19 и перед ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» (ГБУЗ ПОКЦ СВМП) встали новые организационые задачи: 1) обеспечение коечного фонда для лечения пациентов с COVID-19; 2) оборудование стационара кислородными точками; 3) реорганизация работы лабораторной службы; 4) расширение отделения реанимации и интенсивной терапии; 5) организация маршрутизации

пациентов; 6) организация амбулаторной помощи пациентам с COVID-19; 7) создание и оборудование отделения обсервации; 8) обеспечение стационара кислородом и препаратами медикаментозной терапии; 9) организация работы по переливанию антиковидной плазмы.

Первый пациент с COVID-19 в ПО госпитализирован 13.03.2020, а с 26.03.2020 ГБУЗ ПОКЦ СВМП стал функционировать как сортировочная площадка по диагностике пациентов с COVID-19, куда направлялись все лихорадящие больные (в возрасте старше 5 лет) с клиникой ОРВИ, пневмонией, прибывшие из эндемичных районов, контактные с ними лица при появлении признаков ОРИ. Все пациенты обследовались на COVID-19. Одновременно на территории военного городка было оборудовано резервное отделение обсервации на 55 человек. В течение 2020 г. в соответствии с прогнозируемым сценарием распространения COVID-19 и приказами МЗ ПО в ПОКЦ СВМП увеличили количество инфекционных коек до 535 и количество реанимационных коек до 40. ГБУЗ ПОКЦ СВМП стал работать как госпиталь для пациентов с тяжелой и средней степенью тяжести заболевания, требующих респираторной поддержки, и к концу октября было развернуто уже 740 для пациентов с COVID-19 и 80 реанимационных коек.

Под наблюдением находились 209 пациентов, которые обращались в приемное отделение ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» (Госпиталь), из них госпитализированы в круглосуточный стационар 184 (88%) больных, в амбулаторном центре при Госпитале получали лечение 25 (11,9%) больных. У всех пациентов COVID-19 подтверждена выявлением SARS-CoV-2 в мазках из носа и ротоглотки. Летальные исходы отмечены у 21 (10%) госпитализированнго пациента.

3.1 Особенности клинико-лабораторных проявлений COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания

3.1.1. Клиническая характеристика пациентов в зависимости от степени тяжести COVID-19

Пациенты были распределены на три группы в зависимости от степени тяжести: 1 группа - 97 (46,4%) пациентов с легкой степенью тяжести, 2 группа - 63 (30,1%) пациента со средней степенью тяжести, 3 группа - 49 (23,4%) пациентов с тяжелой степенью тяжести (Рисунок 1).

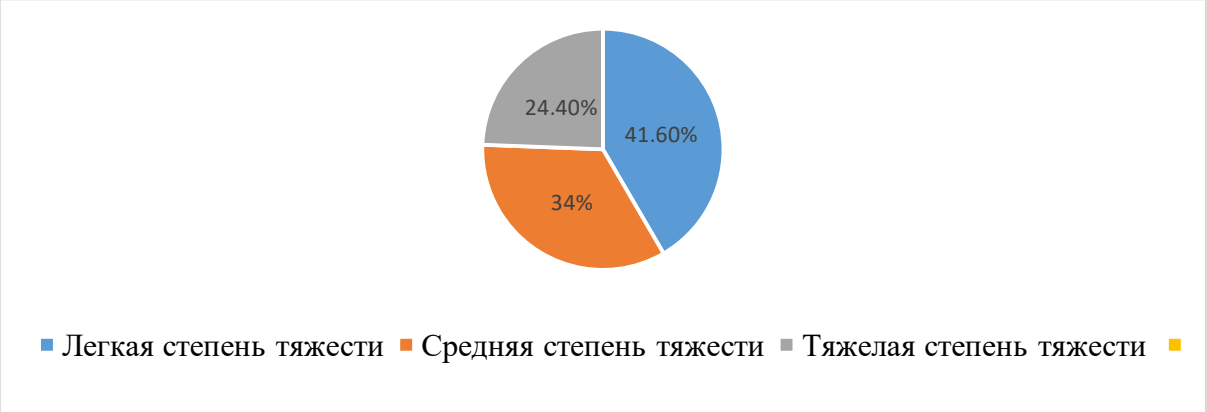


Рисунок 1 – Распределение пациентов на группы в зависимости от степени тяжести COVID-19, %

Были изучены клинические особенности в группах сравнения. Наиболее длительный амбулаторный период был выявлен в группе тяжелых больных, максимально до 24 (медиана 11,00 [7,00;14,00]) дней, в то время как у больных с легким и средне-тяжелым течением COVID-19 амбулаторный период составил 4,60±0,26 (медиана 4,00 [3,00;5,00]), 6,38±0,44 (медиана 6,00 [4,00;9,00]) соответственно (p=0,0004 и p=0,0000) (Рисунок 2).

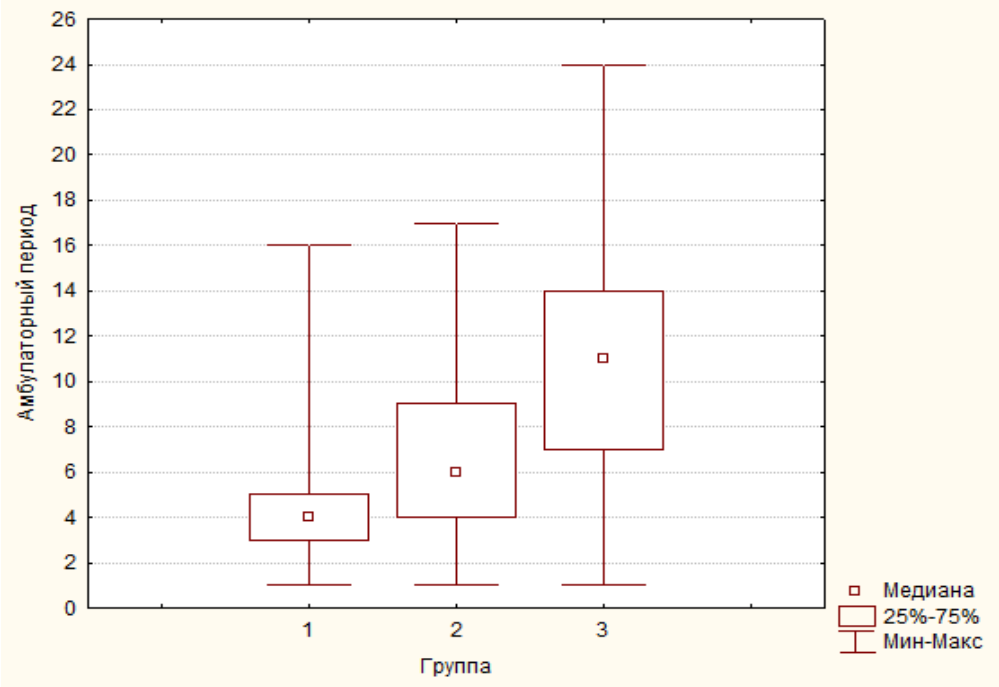


Рисунок 2 – Длительность амбулаторного периода в сравниваемых группах

У пациентов, обращавшихся за медицинской помощью, ведущей жалобой была фебрильная лихорадка (97% пациентов). В 1 группе субфебрильная температура тела отмечалась у 80 (82,5%) пациентов, фебрильная температура у 17 (17,5%) больных. Во 2 группе субфебрильная температура тела была у 44 (69,8%) пациентов, фебрильная температура отмечалась у 19 (30,1%) больных, а в 3 группе субфебрильная температура тела была у 9 (18,4%) пациентов, фебрильная температура у 40 (81,6%) пациентов (Рисунок 3).

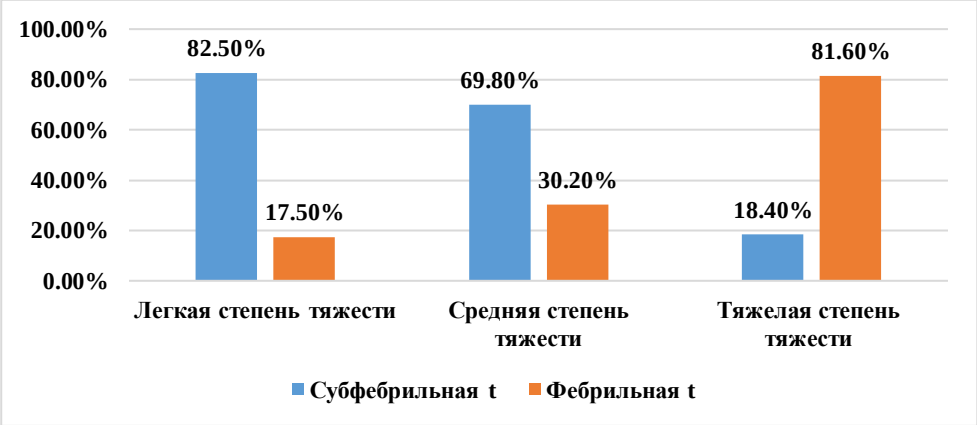


Рисунок 3 – Соотношение субфебрильной и фебрильной температуры тела в группах сравнения

При сравнительной характеристике температурной реакции методом Манна-Уитни выявлено, что у пациентов с тяжелой степенью тяжести высота температуры тела была достоверно выше (p=0,0000), чем в группах сравнения и составила 38,54±0,11 [38,00;39,20], при легкой степени тяжести 38,00 [37,50;38,50], при средней степени тяжести 38,20 [37,80;38,50] (Рисунок 4).

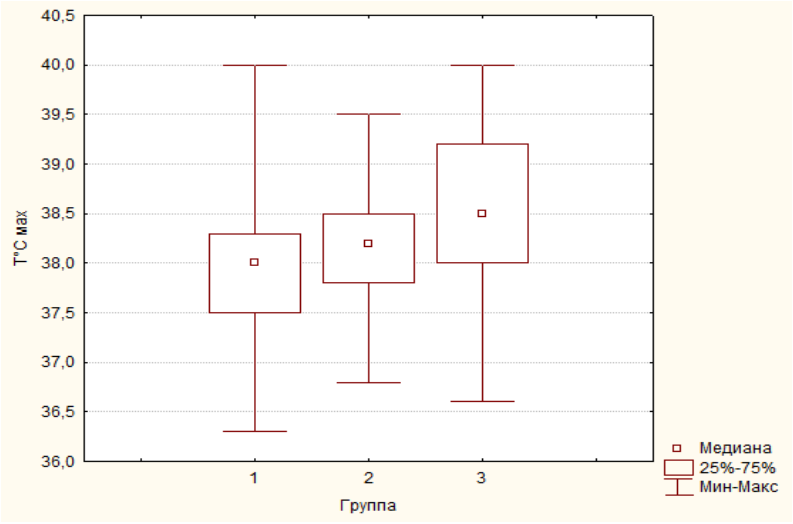


Рисунок 4 – Сравнительная характеристика температурной реакции в зависимости от степени тяжести COVID-19

Длительность лихорадки составила 3,00 [3,00;5,00], 5,00 [4,00;8,00], 8,00 [4,00;13,00] дней соответственно в группах (p=0,000, p=0,0019, p=0,0000) (Рисунок 5).

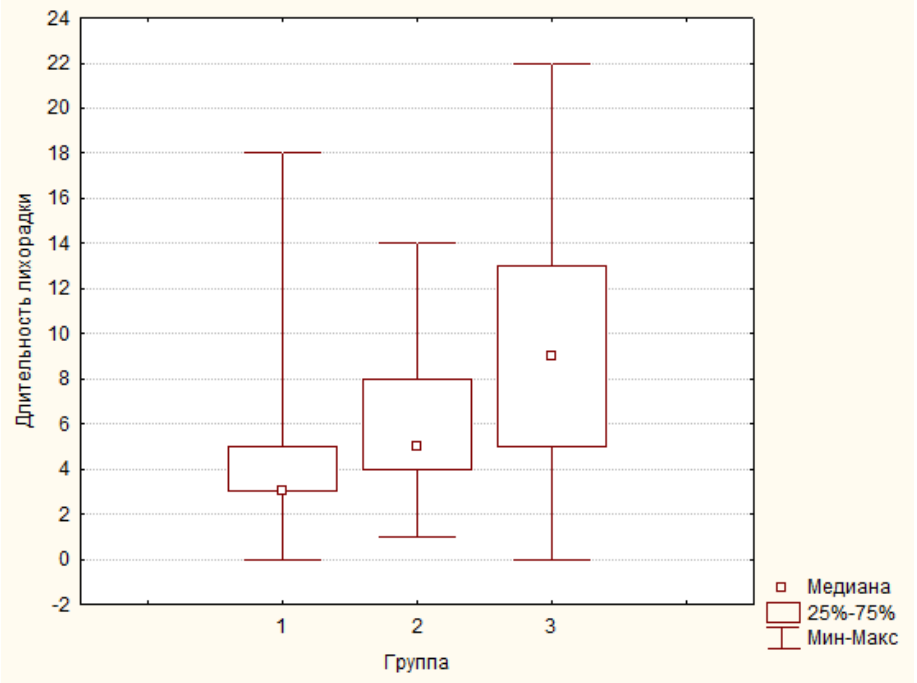


Рисунок 5 – Длительность лихорадочного периода в группах сравнения

Таким образом, анализ температуры тела у больных COVID-19 выявил более высокие показатели температурной реакции (p=0,0000) и длительность лихорадки (p=0,0000) при тяжелой степени тяжести заболевания.

При поступлении пациенты всех трех групп имели сходные клинические проявления. Среди жалоб превалировали слабость, кашель и одышка. Слабость встречалась у 93 (96,6%) пациентов в 1 группе, у 57 (98,3%) пациентов - 2 группе и у 46 (97,9%) пациентов в 3 группе. Кашель присутствовал у 56 (67,7%) больных в 1 группе, у 52 (89,7%) пациентов - 2-й группы, у 45 (95,7%) пациентов в 3-ей группе (p=0,0000). Одышка выявлена при поступлении у 1 (1%) пациента в 1 группе, у 4 (6,9%) больных 2 группы, у 41 (87,2%) человек в 3 группе. Заложенность в груди достоверно чаще встречалась у пациентов с тяжелым течением заболевания (p=0,0000).

Также у ряда пациентов выявлены насморк, головная боль, аносмия, тошнота и рвота, что в ряде случаев затрудняло своевременную диагностику коронавирусной инфекции и, соответственно, своевременное назначение лечения (Таблица 1).

Таблица 1 - Клинические проявления COVID-19 у пациентов в зависимости от степени тяжести заболевания

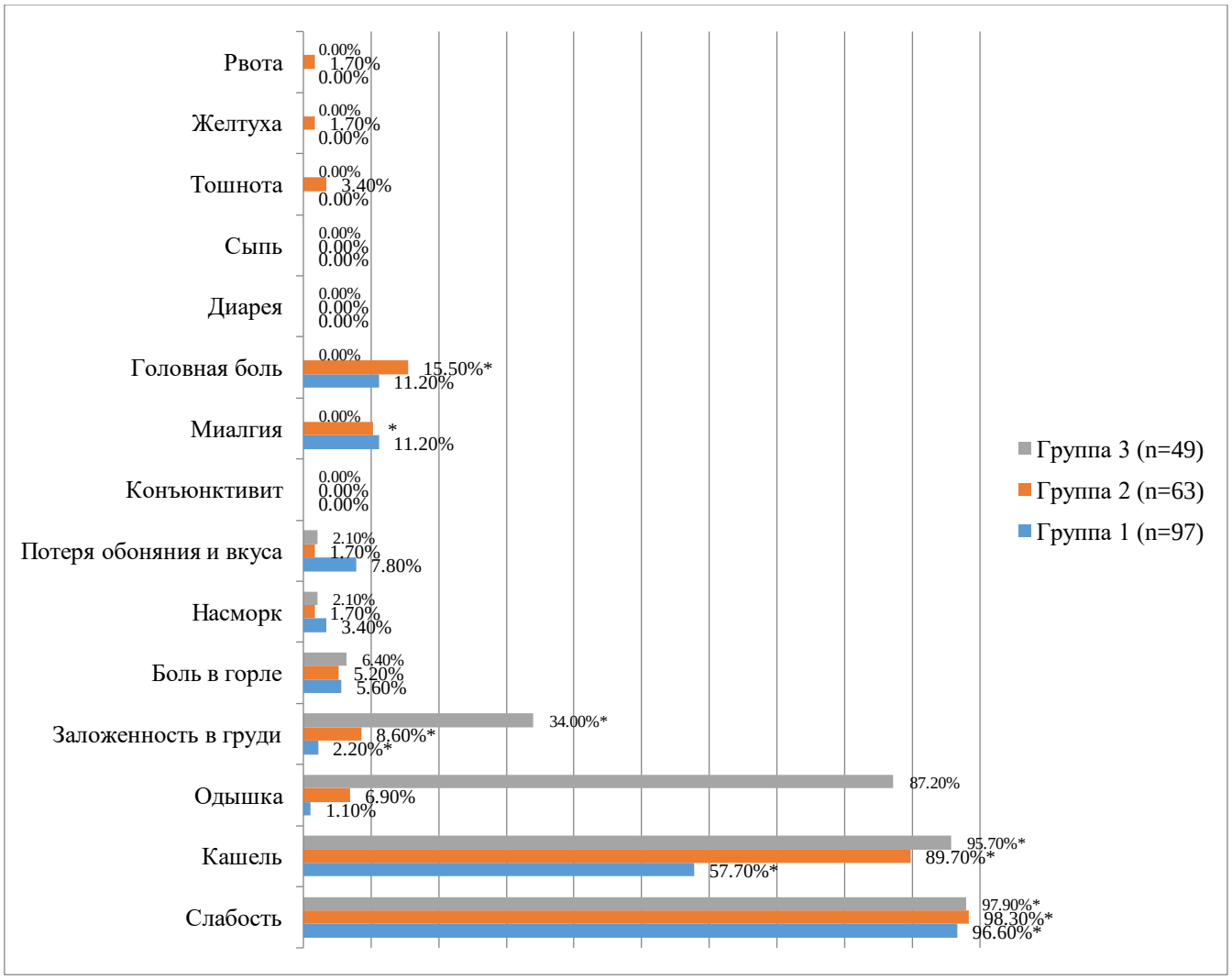
	Группа 1 (n=97)		**Группа 2 (n=63)**		**Группа 3 (n=49)**		**Уровень p (2x2, Фишера, дв)**		
	абс	**%**	**абс**	**%**	**абс**	**%**	**p1**	**p2**	**p3**
Слабость	93	96,6%	57	98,3%	46	97,9%	1,0000	1,0000	1,0000
Кашель	56	57,7%	52	89,7%	45	95,7%	**0,0000**	0,2924	**0,0000**
Одышка	1	1,1%	4	6,9%	41	87,2%	0,0793	**0,0000**	**0,0000**
Заложенность в груди	2	2,2%	5	8,6%	16	34,0%	0,1129	**0,0015**	**0,0000**
Боль в горле	5	5,6%	3	5,2%	3	6,4%	1,0000	1,0000	1,0000
Насморк	3	3,4%	1	1,7%	1	2,1%	1,0000	1,0000	1,0000
Потеря обоняния и вкуса	7	7,8%	1	1,7%	1	2,1%	**0,0027**	1,0000	**0,0063**
Конъюнктивит	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	-	-	-
Миалгия	10	11,2%	6	10,3%	0	0,0%	0,7937	**0,0318**	**0,0152**
Головная боль	10	11,2%	9	15,5%	0	0,0%	0,6215	**0,0040**	**0,0152**

Диарея	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	-	-	-
Сыпь	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	-	-	-
Тошнота	0	0,0%	2	3,4%	0	0,0%	0,1540	0,5007	-
Желтуха	0	0,0%	1	1,7%	0	0,0%	0,3946	1,0000	-
Рвота	0	0,0%	1	1,7%	0	0,0%	0,3946	1,0000	-

Примечание: p1 – достоверность различий 1 и 2 групп; p2 – достоверность различий 2 и 3 группы. p3 – достоверность различий 1 и 3 группы, достоверность различий.

При анализе клинических проявлений в группах сравнения выявлено отсутствие достоверных различий по таким симптомам, как слабость, боль в горле, насморк. Кашель достоверно чаще встречался во 2-й и 3-й группах (p=0,0000) по сравнению с пациентами с легкой степенью тяжести заболевания. Одышка, заложенность в грудной клетке достоверно чаще встречались в 3 группе (p=0,0000, p=0,0015). Достоверно чаще у пациентов с легким и среднетяжелым течением COVID-19 фиксировались такие жалобы, как миалгия (p=0,0318, p=0,0152) и головная боль (p=0,0040, p=0,0152) и не встречались в качестве жалоб у тяжелых больных. Тошнота, желтуха и рвота отмечались в единичных случаях, а диарея и сыпь, описанные при коронавирусной инфекции, у исследуемых больных не наблюдались.

Аносмия является типичным признаком коронавирусной инфекции, однако у исследуемых пациентов в группах сравнения встречалась редко, преимущественно у больных легкой степени тяжести (p=0,0063) (Рисунок 6).



Примечание: * - достоверность различий между 1 и 3 группой, ** - достоверность различий между 2 и 3 группами, *** - достоверность различий между 1 и 2 группой.

Рисунок 6 – Клинические проявления COVID-19 у пациентов в зависимости от степени тяжести заболевания

Проведен многофакторный анализ с построением регрессионной модели, в которой зависимой переменной выступил критерий классификации по группам (принимал значения: 1 – группа со средней тяжестью, 2 – с тяжелым течением), независимый фактор – температура.

Модель для критерия классификации была получена методом пошагового регрессионного анализа. Коэффициенты модели (B) для факторов, включенных в модель, и их значимость даны в Таблице 2.

Таблица 2 – Результаты регрессионного анализа

N=105	Итоги Гребневой регрессии для зависимой переменной: Группа l=,10000 R=0,22386859 R2=0,05011715 Скоррект.R2=0,04089498 F(1,103)=5,4344 p<0,02169 Станд. ошибка оценки:0,48931					
	БЕТА	Стд.Ош. БЕТА	B	Стд.Ош. B	t(103)	p-уровень
Свободный член			-3,4979	2,5509	-1,3713	0,1733
Температура	0,2135	0,0916	0,1550	0,0665	2,3312	0,0217

В этой таблице также приводятся оценки качества модели:

– коэффициент детерминации (R2 = 0,05011715), определяющий ее информационную значимость;

– значение F-критерия (F(1,103)=5,4344) и уровень значимости модели (p<0,02169), определяющие статистическую значимость модели.

Обозначим критерий классификации (группу больных в зависимости от тяжести течения) как Y, «температура» = X, тогда модель для дифференциации больных по группам будет иметь вид:

$$Y = 0{,}1550 \times X - 3{,}4979$$

В Таблице 3 приведены результаты дисперсионного анализа полученной регрессионной модели и оценки ее информативности. Вклад факторов, включенных в модель (Регресс = 1,30114), составляет всего 5,0% от общей суммы квадратичных отклонений параметра Y (группы больных), 95,0% вклада вносят неучтенные (случайные) факторы (Остатки = 24,66077), что свидетельствует о слабой информационной способности модели.

Таблица 3 – Результаты дисперсионного анализа

	Сумма квадратов	cc	Средн. квадрат	F	p-уровень
Регресс	1,30114	1	1,301137	5,434424	0,021691
Остатки	24,66077	103	0,239425		
Итого	25,96190				

По величине F-критерия F=5,434424 с уровнем значимости p=0,021691 модель можно считать достоверной, но мало информативной.

Применение КТ целесообразно для первичной оценки состояния ОГК у

пациентов с тяжелыми прогрессирующими формами заболевания, а также для дифференциальной диагностики выявленных изменений и оценки динамики процесса. КТ позволяет выявить характерные изменения в легких у пациентов с COVID-19 еще до появления положительных лабораторных тестов на инфекцию с помощью МАНК [14].

При проведении инструментальной диагностики поражения легких (по данным компьютерной томографии (КТ)) полисегментарная интерстициальная пневмония диагностирована у 121 (57,8%) пациента. В 1 группе пневмония с объемом поражения КТ-1 была выявлена у 11 (11,3%) пациентов, у 88,65% пациентов коронавирусная инфекция протекала без поражения легких. Согласно временным клиническим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции», возможно выявление характерных изменений в легких по КТ у пациентов с бессимптомным и легким течением заболевания. Во 2 группе пневмония с объемом поражения легких, соответствующих КТ 1-2, наблюдалась у 59 (93,6%) больных, КТ-3 у 4 (6,3%.) пациентов. В 3 группе КТ 2 имели 2 (4%) пациентов, КТ-3 – у 19 (38,7%) больных, КТ-4 у 6 (12,2%) пациентов (Таблица 4, Рисунок 7).

Таблица 4 - Объем поражения легких по КТ в группах сравнения у пациентов с COVID-19.

	Группа 1 (n=97)		Группа 2 (n=63)		Группа 3 (n=49)		p1	p2	p3
	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
КТ 0	86	88,65%	0	0%	0	0,00%	**0,0000**	-	**0,0000**
КТ 1	11	11,30%	38	60,30%	2	4%	**0,0000**	**0,0000**	0,2199
КТ 2	0	0%	21	33,30%	22	44,90%	**0,0000**	0,2432	**0,0000**
КТ 3	0	0%	4	6,30%	19	38,70%	**0,0227**	**0,0000**	**0,0000**
КТ 4	0	0%	0	0,00%	6	12,20%	-	**0,0058**	**0,0012**

Примечание: p1 – достоверность различий 1 и 2 групп; p2 - достоверность различий 2 и 3 группа, p3 - достоверность различий 1 и 3 групп.

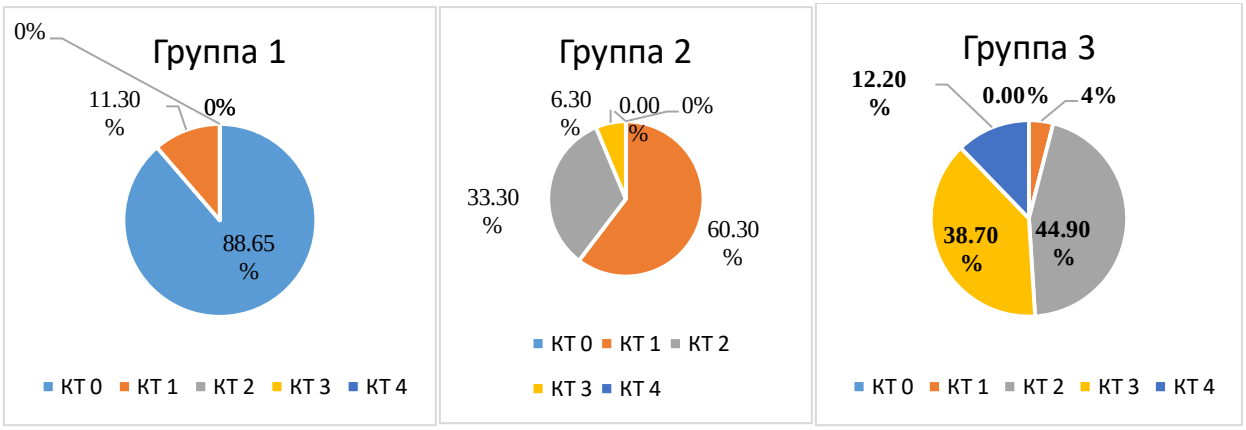


Рисунок 7 – Объем поражения легких у пациентов в зависимости от степени тяжести COVID-19, %

Острая дыхательная недостаточность (ОДН) является основной причиной госпитализации пациентов с COVID-19 в отделение реанимации и интенсивной терапии.

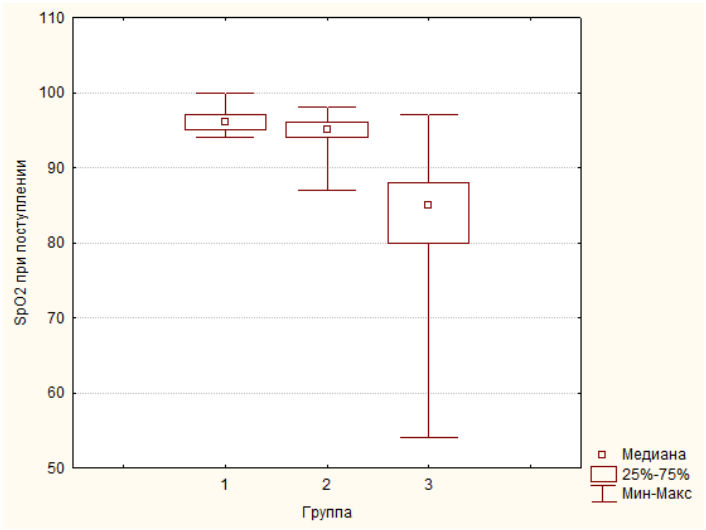


Рисунок 8 – Показатели сатурации у пациентов в зависимости от степени тяжести COVID-19

В группе тяжелых пациентов снижение сатурации было достоверно более выражено, чем в других группах (p=0,0000, медиана 84,00 [75,00;86,00]) (Рисунок 8).

В 1 группе наблюдения у 100% пациентов коронавирусная инфекция протекала без дыхательной недостаточности (ДН). Во 2 группе ДН1 наблюдалась у 8 (12,7%) пациентов, ДН2 – у 1 больного (1,6%). В 3 группе

дыхательная недостаточность выявлена у всех пациентов: с ДН-1 25 (51%) пациентов, с ДН-2 15 (30,6%) больных, с ДН-3 – 9 (18,4%) человек (Таблица 5, Рисунок 9).

Таблица 5 – Сравнительная характеристика степени дыхательной недостаточности у пациентов в зависимости от тяжести COVID-19

	Группа 1 (n=97)		Группа 2 (n=63)		Группа 3 (n=49)		p1	p2	p3
	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
ДН 0	97	100,00%	54	85,70%	0	0%	**0,0002**	**0,0000**	**0,0000**
ДН 1	0	0,00%	9	14,30%	15	30,60%	**0,0002**	0,0618	**0,0000**
ДН 2	0	0,00%	0	1,60%	22	44,90%	-	**0,0000**	**0,0000**
ДН 3	0	0,00%	0	0,00%	12	24,50%	-	**0,0000**	**0,0000**

Примечание: p1 – достоверность различий 1 и 2 групп; p2 - достоверность различий 2 и 3 группа, p3 - достоверность различий 1 и 3 групп.

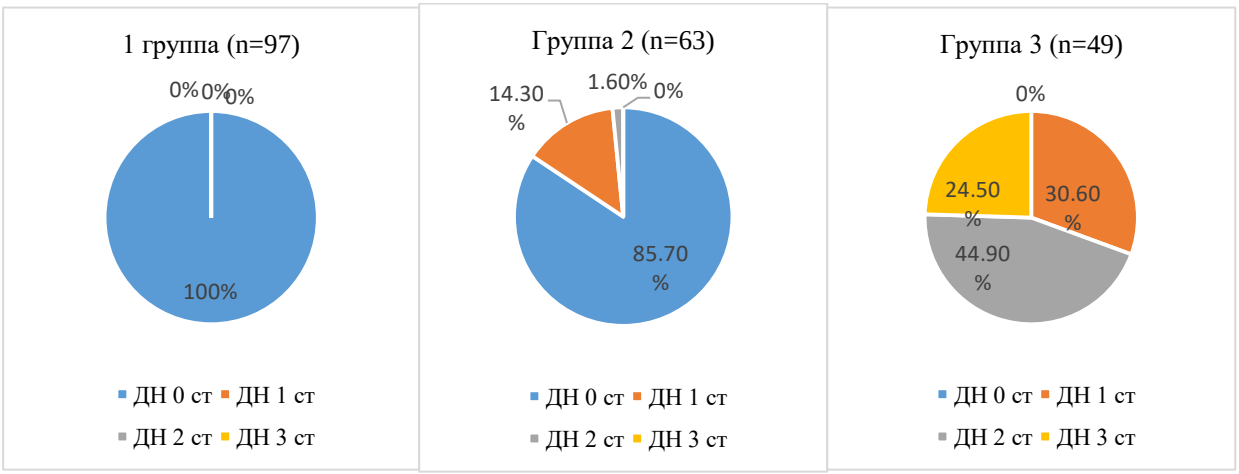


Рисунок 9 - Степень дыхательной недостаточности у пациентов в зависимости от тяжести заболевания COVID-19

Вторичная бактериальная инфекция часто возникает как осложнение вирусных заболеваний и может привести к летальному исходу. Хотя присоединение бактериальной флоры обычно рассматривается как редкое осложнение при коронавирусной инфекции (COVID-19), число случаев, связанных с присоединением бактериальной пневмонии у госпитализированных пациентов, по данным литературы, неуклонно увеличивалось по мере развития пандемии [152, 219].

В группах наблюдения у пациентов с легкой степенью тяжести заболевания не было обнаружено микроорганизмов в мокроте, в группе со средней тяжестью заболевания обнаружение бактерий с определением чувствительности к антибиотикам было выявлено у 55,5%, у больных с тяжелой степенью тяжести COVID-19 присоединение бактериальной инфекции зафиксировано у 85,7%. При микробиологическом исследовании мокроты у пациентов средней и тяжелой степени тяжести выявлена следующая бактериальная флора: Pseudomonas aeruginosa в 8,9% и 22,4% случаев, Acinetobacter pitii у 14,8% и 26,5% пациентов, Klebsiella pnemoniae у 12,7% и 14,3% больных, Streptococcus pneumoniae в 6,3% и 10,2% случаев, Staphylococcus aureus в 12,8% и 12,3% больных случаев. Отсутствие роста микрофлоры в группе пациентов со средней степенью тяжести зафиксировано в 44,5% случаев, в группе тяжелых больных – в 14,3% (Таблица 6, Рисунок 10).

Таблица 6 – Частота встречаемости бактериальных возбудителей у пациентов в группах сравнения

	Отсутствие роста	Pseudomonas aeruginosa	Acinetobacter pitii	Klebsiella pnemoniae	Streptococcus pneumoniae	Staphylococcus aureus
1 группа (n=97)	100%	0%	0%	0%	0%	0%
2 группа (n=63)	44,5%	8,9%	14,8%	12,7%	6,3%	12,8%
3 группа (n=49)	14,3%	22,4%	26,5%	14,3%	10,2%	12,3%

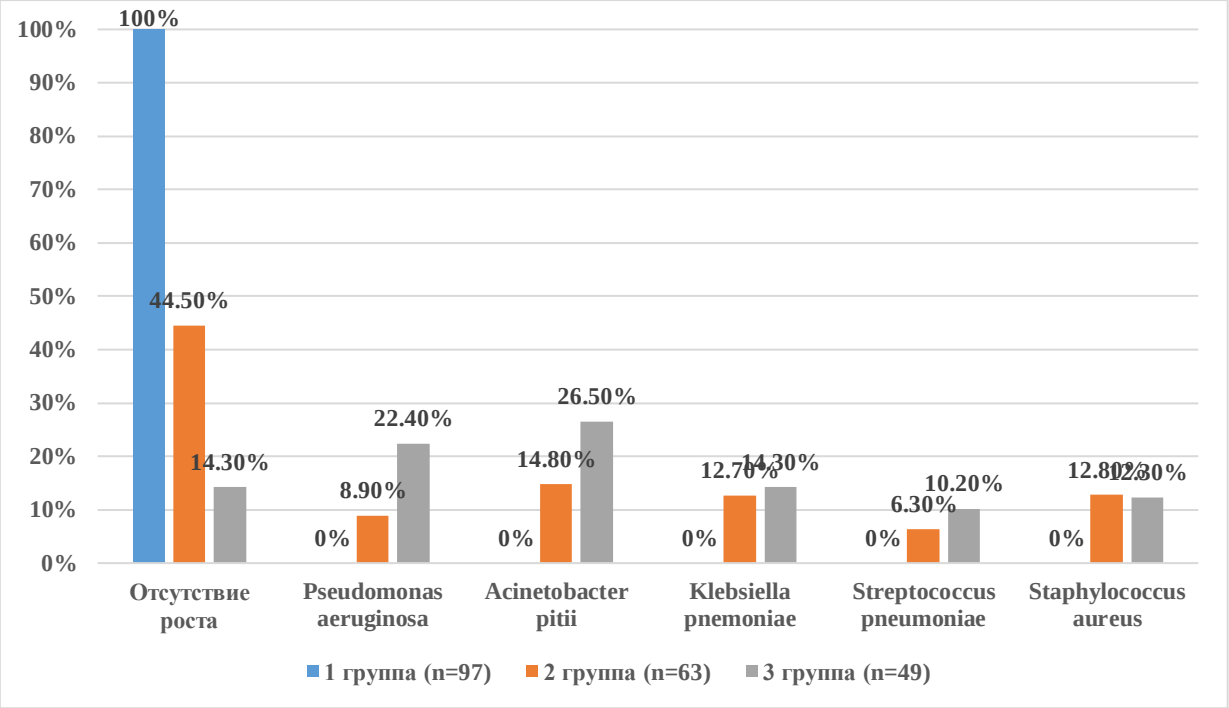


Рисунок 10 – Частота встречаемости бактериальных возбудителей у пациентов в группах сравнения

На основании отечественных и зарубежных научных исследований известно, что наличие сопутствующей патологии (СП) у пациентов неблагоприятно влияет на прогноз и течение коронавирусной инфекции [30].

В данном исследовании у коморбидных пациентов были выявлены следующие соматические заболевания: сахарный диабет (СД) у 23,4%, ожирение у 28,2%, болезни бронхо-легочной системы 10%, онкологические заболевания у 10,5%, ишемическая болезнь сердца (ИБС) и гипертоническая болезнь (ГБ) у 73,5% больных. В 1 группе 27 (27,8%) пациентов не имели сопутствующих заболеваний (p=0,01673), 7 (7,2%) пациентов имели онкологические заболевания, 30 (30,9%) больных страдали ГБ, 14 (14,4%) человек имели СД, у 27 (27,8%) больных встречалось ожирение, ИБС зафиксирована у 7 (2,1%) пациентов. Заболеваний бронхо-легочной системы в этой группе не отмечалось.

Во 2 группе 7 (11,1%) пациентов не имели сопутствующих заболеваний, 4 (6,3%) больных имели онкологические заболевания, 29 (46%) человек страдали гипертонической болезнью, 6 (9,5%) пациентов имели СД, у 15

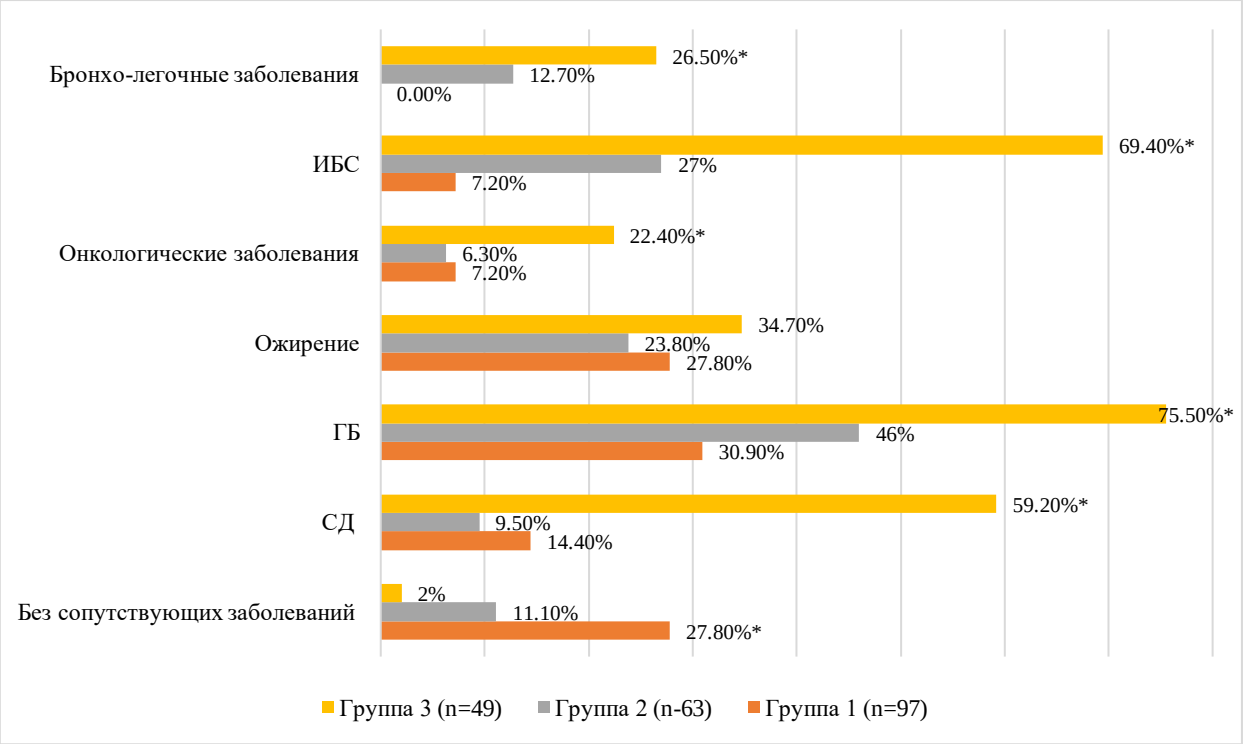
(23,8%) пациентов наблюдалось ожирение, с ИБС и бронхо-легочными заболеваниями выявлено 17 (27%) больных и 8 (12,7%) больных соответственно.

В 3 группе только 1 (2%) пациент не имел сопутствующих заболеваний, 11 (22,4%) больных имели онкологические заболевания, 37 (75,5%) пациентов страдали гипертонической болезнью, 29 (59,2%) пациентов имели сахарный диабет, у 17 (34,7%) больных имели ожирение. Пациентов с ИБС было 34 (69,4%), а с бронхо-легочными заболеваниями 13 (26,5%). (Таблица 7, Рисунок 11).

Таблица 7 - Характеристика наличия сопутствующих заболеваний у пациентов с COVID-19 в группах сравнения.

	Все группы (n=209)	Группа 1 (n=97)	Группа 2 (n=63)	Группа 3 (n=49)	P1	P2	P3
Без сопутствующих заболеваний	16,7%	27,8%	11,1%	2%	**0,01673 ***	0,07749	**0,00008 ***
Сахарный диабет	23,4%	14,4%	9,5%	59,2%*	0,46554	**0,00000 ***	**0,00000 ***
Гипертоническая болезнь	45,9%	30,9%	46%	75,5%*	0,06543	**0,00198 ***	**0,00000 ***
Ожирение	28,2%	27,8%	23,8%	34,7%	0,71334	0,21505	0,44659
Онкологические заболевания	10,5%	7,2%	6,3%	22,4%*	1,00000	**0,02283 ***	**0,01443 ***
ИБС	27,6%	7,2%	27%	69,4%*	**0,00113 ***	**0,00001 ***	**0,00000 ***
Бронхо-легочные заболевания	10%	0%	12,7%	26,5%*	**0,00043 ***	**0,08726 ***	**0,00000 ***

Примечание: p1 – достоверность различий 1 и 2 групп; p2 - достоверность различий 2 и 3 группа, p3 - достоверность различий 1 и 3 групп.



Примечание: * - достоверность различий

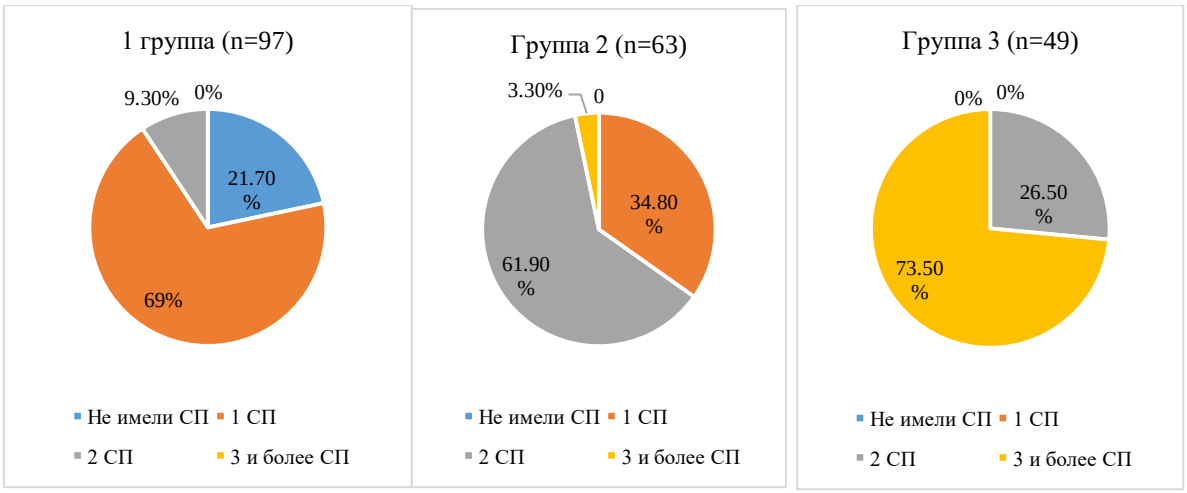
Рисунок 11 – Сравнительная характеристика наличия сопутствующих заболеваний у пациентов в зависимости от степени тяжести COVID-19

Проанализировано количество сопутствующих заболеваний у пациентов с различной степенью тяжести (Таблица 8, рисунок 12).

Таблица 8 – Сравнительная характеристика пациентов по числу сопутствующих заболеваний (СЗ) в зависимости от степени тяжести COVID-19

	Группа 1 (n=97)		Группа 2 (n=63)		Группа 3 (n=49)		p1	p2	p3
	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
Не имели СЗ	21	21,70%	0	0	0	0	**0,0000**	-	**0,0001**
1 СЗ	67	69%	22	34,80%	0	0	**0,0000**	**0,0000**	**0,0000**
2 СЗ	9	9,30%	39	61,90%	13	26,50%	**0,0000**	**0,0003**	0,0125
3 и более СЗ	0	0%	2	3,30%	36	73,50%	0,1535	**0,0000**	**0,0000**

Примечание: p1 – достоверность различий 1 и 2 групп; p2 - достоверность различий 2 и 3 группа, p3 - достоверность различий 1 и 3 групп.



Рисунов 12 – Количество (%) сопутствующих заболеваний в зависимости от степени тяжести COVID-19

Таким образом, тяжелому течению COVID-19 способствовало наличие неблагоприятного преморбидного фона. Сопутствующие заболевания имели 174 (83,2%) больных. Наиболее частыми были следующие: сахарный диабет, хронические бронхолегочные заболевания, заболевания сердечно-сосудистой системы, онкопатология, ожирение, они преобладали в группе больных с тяжелым течением COVID-19. В 18,2% случаев групп наблюдения имели 3 и более сопутствующих заболеваний, причем в группе тяжелых больных таких пациентов оказалось 73,5%, что достоверно больше, чем в 1 и 2 группе.

Имеется достаточное количество доказательств негативного влияния избыточного веса на формирование и прогрессирование патологии дыхательной системы.

Был проведен сравнительный анализ ИМТ у пациентов в зависимости от степени тяжести COVID-19 методом Манна-Уитни (Рисунок 13). ИМТ был выше и значительно варьировал при тяжелом течении COVID-19 (медиана 28,50 [23,00;37,00], при легком течении - 23,00 [22,00;24,00], при средней степени тяжести - 24,00 [23,00;26,00], однако достоверных различий не получено.

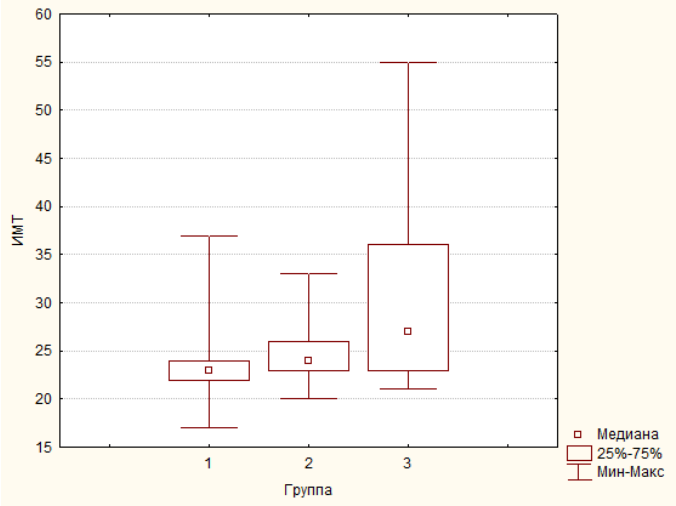


Рисунок 13 – Сравнение ИМТ у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19

3.1.2. Характеристика лабораторных показателей у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19

Был проведен анализ лабораторных показателей у пациентов с COVID-19 в зависимости от тяжести заболевания: клинический анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи, коагулограмма.

При анализе гематологических показателей у пациентов с COVID-19 легкой степени тяжести лейкопения выявлена в 5 (5,2%) случаев (минимально 3,4x10^9/л), лейкоцитоз – в 9 (9,3%) (максимально 20,5x10^9/л), лимфопения – у 24 (24,7%) пациентов, тромбоцитопения у 6 (6,2%) человек (минимально 120x10^9/л), тромбоцитоз у 11 (11,3%) пациентов (максимально 330x10^9/л), повышение СОЭ отмечено у 71 (73,2%) больных (максимально 43 мм/ч).

Повышение СРБ было выявлено у 28 (28,9%) больных (максимально 83 мг/л), повышение ЛДГ у 15 (15,5%) пациентов (максимально 295 u/l).

В 5 (5,2%) случаях отмечалось повышение печеночных трансаминаз. Всем пациентам проводилась оценка биомаркера воспаления – ферритина, повышение которого в 1 группе зарегистрировано не было. При оценке нарушений в системе свертывания крови и факторов, препятствующих тромбообразованию, выявлено следующее: повышение Д-димера у 7 (7,2%)

пациентов (максимально 343 нг/мл), снижение АЧТВ (минимально 24,9 сек) наблюдалось у 3,1%.

По имеющимся в литературе данным при коронавирусной инфекции нередко в моче присутствуют белок или эритроциты [170] [171], [67]. При оценке общего анализа мочи у пациентов в 1 группе была выявлена протеинурия у 2 (2,1%) больных, появление кетоновых тел у 1 (1,03%) человек. Эритроцитурия и лейкоцитурия в данной группе больных выявлено не было.

У пациентов средней степени тяжести лейкопения выявлена в 21 (33,3%) случаев (минимально 2,6х10^9/л), лейкоцитоз – в 15 (23,8%) (максимально 23,3х10^9/л), лимфопения – у 27 (42,9%) пациентов, тромбоцитопения у 24 (38%) человек (минимально 120х10^9/л), тромбоцитоз у 19 (30,2%) пациентов (максимально 434х10^9/л), повышение СОЭ было зафиксировано у 52 (82,5%) больных (максимально 53 мм/ч). Повышение СРБ было выявлено у 59 (93,7%) больных (максимально 144 мг/л), повышение ЛДГ у 33 (52,4%) пациентов (максимально 398 u/l). Повышение ферритина было у 33 (52,4%) больных (максимально 808 мкг/л). У 27% (17 человек) случаев регистрировалось повышение печеночных трансаминаз. При оценке коагулограммы выявлено следующее: повышение Д-димера у 20 (31,7%) пациентов (максимально 400 нг/мл), снижение АЧТВ (минимально 21,2) было в 54% случаев. При анализе показателей мочи была выявлена протеинурия у 18 (28,6%) пациентов, появление кетоновых тел у 21 (33,3%) больных, лейкоцитурия зафиксирована у 13 (20,6%) человек, выявление эритроцитов в моче в 7 (11,1%) случаях. Также выявлена цилиндурия у 11 (17,5%) пациентов.

У пациентов тяжелой степени тяжести лейкопению выявили у 28 (57,1%) человек (минимально 2,3х10^9/л), лейкоцитоз – у 21 (42,9%) (максимально 35,9х10^9/л), лимфопению – у 37 (75,5%) пациентов, тромбоцитопению у 38 (77,5%) человек (минимально 95х10^9/л), тромбоцитоз у 10 (30,4%) пациентов (максимально 630х10^9/л), повышение СОЭ было зафиксировано у 49 (100 %) больных (максимально 73 мм/ч). Повышение СРБ и ЛДГ было выявлено у 49 (100%) больных (СРБ максимально 575 мг/л, ЛДГ максимально 4468 u/l).

Повышение ферритина также наблюдалось в 100% случаев (максимально 1625 мкг/л). У 42 (93,9%) больных было зафиксировано повышение печеночных трансаминаз. При оценке показателей свертывания крови изменения выявлены у 100% пациентов: повышение Д-димера (максимально 4956 нг/мл), значительное снижение АЧТВ (минимально 16,1 сек).

Повышение активности печеночных ферментов у пациентов считается предиктором неблагоприятного исхода коронавирусной инфекции [28, 29, 231, 244]. Причины, вызывающие нарушение работы печени при данной инфекции, разнообразны: это может быть, как непосредственное повреждение гепатоцитов вирусом SARS-Cov-2, так и развитие цитокинового шторма. Нельзя отрицать и возможности гепатотоксичного действия препаратов, применяемых при лечении коронавирусной инфекции [48]. У пациентов третьей группы выявлено достоверное повышение АЛТ и АСТ в 93,9% случаев (p=0,0000), тогда как у пациентов в группах с легкой и средней степенью тяжести синдром цитолиза встречался у 5,2% и 27% соответственно.

Выраженное повреждение почек может возникать в результате вовлечения вируса SARS-CoV-2 в ренин-ангиотензин-альдостероновую систему (РААС), при развитии цитокинового шторма, прямого цитотоксического действия вируса, ишемии, цепной легочно-почечной патогенетической реакции, гиперкоагуляции, рабдомиолиза [55]. У исследуемых больных с тяжелым течением заболевания в анализе мочи наблюдались выраженные изменения: протеинурия у 46 (93,9%) пациентов, цилиндрурия в 39 (79,6%) случаях, наличие кетоновых тел у 34 (69,4%), выявление лейкоцитурии и эритроцитурии у 45 (91,8%) больных. Изменения в моче у пациентов в легким течением заболевания были незначительны – протеинурия встречалась у 2,1% больных, повышение лейкцоитов, эритроцитов и цилиндров не было выявлено. У пациентов средней тяжести COVID-19 часто выявлялись увеличения белка и цилиндров в моче (28,6% и 17,5% соответственно, p=0,0000).

Сравнительные данные лабораторных показателей у пациентов с COVID-19 взависимости от степени тяжести представлены в Таблице 9.

Таблица 9 – Сравнительная характеристика лабораторных показателей у пациентов в зависимости от степени тяжести COVID-19

	Группа 1 (n=97)		Группа 2 (n=63)		Группа 3 (n=49)		p1	p2	p3
	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
Лейкопения	5	5,0%	21	33,30%	28	57,10%	**0,0000**	**0,0135**	**0,0000**
Лейкоцитоз	9	9,30%	15	23,80%	21	42,90%	**0,0218**	**0,0418**	**0,0000**
Лимфопения	24	24,70%	27	42,90%	37	75,50%	**0,0235**	**0,0006**	**0,0000**
Тромбоцитопения	6	6,20%	24	38%	38	77,50%	**0,0000**	**0,0000**	**0,0000**
Тромбоцитоз	11	11,30%	19	30,20%	10	30,40%	**0,0037**	0,2818	0,2104
Ускоренная СОЭ	71	73,20%	52	82,50%	49	100%	0,1853	**0,0022**	**0,0000**
Повышение СРБ	28	28,90%	59	93,70%	49	100%	**0,0000**	0,1300	**0,0000**
Повышение ЛДГ	15	15,50%	33	52,40%	49	100%	**0,0000**	**0,0000**	**0,0000**
Повышение АЛТ	5	5,20%	17	27%	46	93,90%	**0,0002**	**0,0000**	**0,0000**
Повышение АСТ	5	5,20%	17	27%	46	93,90%	**0,0002**	**0,0000**	**0,0000**
Повышение Д-димера	7	7,20%	20	31,70%	48	97,60%	**0,0001**	**0,0000**	**0,0000**
Повышение мочевины	2	2,10%	19	30,20%	47	95,90%	**0,0000**	**0,0000**	**0,0000**
Повышение ферритина	0	0%	33	52,40%	49	100%	**0,0000**	**0,0000**	**0,0000**
Снижение АЧТВ	3	3,10%	34	54%	49	100%	**0,0000**	**0,0000**	**0,0000**
Цилиндурия	0	0%	11	17,50%	39	79,60%	**0,0000**	**0,0000**	**0,0000**
Протеинурия	2	2,10%	18	28,60%	46	93,90%	**0,0000**	**0,0000**	**0,0000**
Кетонурия	1	1,03%	21	33,30%	34	69,40%	**0,0000**	**0,0003**	**0,0000**

Лейкоцитурия	0	0%	13	20,60%	45	91,8%,	**0,0000**	**0,0000**	**0,0000**
Эритроцитурия	0	0%	7	11,10%	45	91,80%	**0,0012**	**0,0000**	**0,0000**

Примечание: p1 – достоверность различий 1 и 2 групп; p2 - достоверность различий 2 и 3 группа, p3 - достоверность различий 1 и 3 групп.

Таблица 10 – Результаты регрессионного анализа

N=209	Итоги Гребневой регрессии для зависимой переменной: Группа l=0,10000 R= 0,50583507 R2= 0,25586912 Скоррект.R2= 0,24318507 F(3,176)=20,173 p<0,00000 Станд. ошибка оценки: 0,70706					
	БЕТА	Стд.Ош. БЕТА	B	Стд.Ош. B	t(176)	p-уровень
Свободный член			0,7020	0,1737	4,0414	0,0001
СОЭ нач	0,2591	0,0680	0,0201	0,0053	3,8088	0,0002
мочев нач	0,1993	0,0645	0,0394	0,0128	3,0884	0,0023
СРБ макс	0,2097	0,0669	0,0021	0,0007	3,1340	0,0020

Таким образом, у пациентов групп сравнения выявлены достоверные различия по большинству лабораторных показателей. Так, с увеличением тяжести заболевания достоверно чаще встречались лейкопения или лейкоцитоз, лимфопения, тромбоцитопения, ускоренная СОЭ (p=0,0000) и повышение СРБ (p=0,0000), повышение ЛДГ и ферритина, мочевины, печеночных показателей (АЛТ и АСТ), снижение АЧТВ, в моче – эритроцитурия, лейкоцитоурия, кетонурия, цилиндрурия, протеинурия (p=0,0000).

Проведен многофакторный анализ лабораторных показателей в зависимости от тяжести заболевания. Сравнительный анализ лабораторных данных выявил наиболее значимые корреляционные силы связи между группами по таким показателям как СОЭ, мочевина, СРБ (Таблица 10).

Таблица 10 – Корреляционный анализ лабораторных показателей в зависимости от тяжести заболевания (по критерию Спирмена).

	Критерий Спирмена R	**p-уровень**
Группа & лейк нач	0,1465	0,0416*
Группа & тромб нач	-0,0787	0,2752
Группа & СОЭ нач	0,3899	0,0000*
Группа & белок нач	0,1880	0,0087*

Группа & альб нач	0,0893	0,2154
Группа & мочев нач	0,2578	0,0003*
Группа & ферр нач	0,1262	0,0811
Группа & ЛДГ нач	0,1190	0,0993
Группа & Д-димер нач	0,0536	0,4603
Группа & Протромбин нач	0,0940	0,1957
Группа & АЧТВ нач	0,2133	0,0030*
Группа & МНО нач	0,2263	0,0016*
Группа & PO2 нач	0,0847	0,2468
Группа & PCO2 нач	0,1898	0,0087*
Группа & СРБ макс	0,4007	0,0000*
Группа & СРБ мин	0,2343	0,0010*
Группа & pH мочи	0,2657	0,0003*
Группа & протеинурия	0,2958	0,0000*
Группа & цилиндры	0,2833	0,0001*
Группа & эритроцитурия	0,3059	0,0000*
Группа & бактерии	0,3096	0,0000*
Группа & кетон.тела	0,2624	0,0003*
Группа & моч.кис	0,2836	0,0001*

Примечание: * достоверные статистические различия

Таким образом, результаты исследования клинических особенностей, наличия сопутствующих заболеваний и данных лабораторных показателей у пациентов с COVID-19 выявили достоверные различия у больных с тяжелой степенью тяжести заболевания по сравнению с другими группами. Достоверно чаще встречались ($p<0,05$) заложенность в грудной клетке (34%), одышка (87,2%) и кашель (95,7%), длительная лихорадка (81,6%), наличие признаков ДН II-III степени (96,5%), объем поражения легких КТ 3-4 (50,9%), наличие 3 и более сопутствующих заболеваний (73,5%). У пациентов групп сравнения выявлены достоверные различия по большинству лабораторных показателей. Так, с увеличением тяжести заболевания достоверно чаще встречались лейкопения или лейкоцитоз, лимфопения, тромбоцитопения, ускоренная СОЭ ($p=0,0000$) и повышение СРБ ($p=0,0000$), повышение ЛДГ и ферритина, мочевины, печеночных показателей (АЛТ и АСТ), снижение АЧТВ, в моче – эритроцитурия, лейкоцитоурия, кетонурия, цилиндрурия, протеинурия ($p=0,0000$). Наибольшей силой корреляционной связи со степенью тяжести заболевания обладали такие показатели как ускоренная СОЭ ($p=0,0000$), повышение СРБ ($p=0,0000$) и повышение мочевины ($p=0,0001$).

У 10% исследуемых пациентов заболевание закончилось летальным исходом. Стоит отметить, что умершие пациенты были из группы

риска – возраст старше 65 лет, с наличием сопутствующих заболеваний (сахарный диабет - 76,2%, ИБС - 90,5%, бронхолегочные заболевания - 47,7%) и поздним поступлением в стационар.

3.2 Особенности клинико-лабораторных показателей COVID-19 в зависимости от пола

Пациенты были распределены на две группы по полу: группа А - 76 (36,4%) пациентов мужского пола и группа В 133 (63,6%) больных женского пола (Рисунок 14).

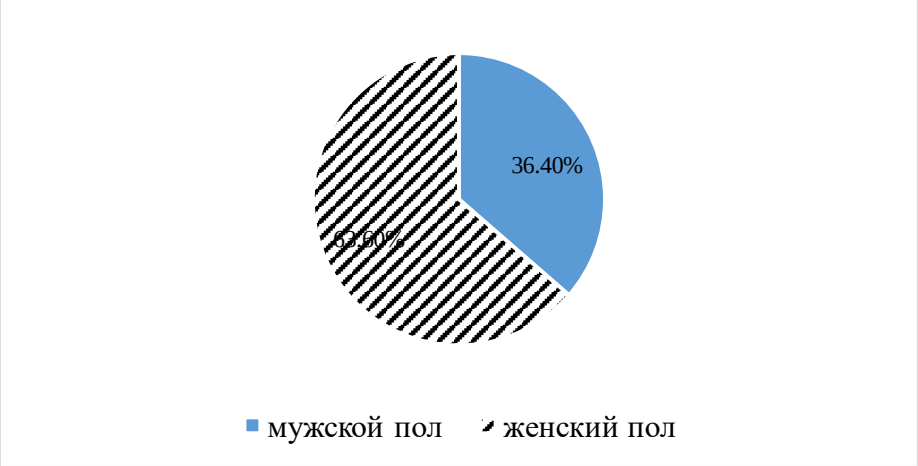


Рисунок 14 – Распределение пациентов на группы в зависимости от пола

Распределение пациентов мужского и женского пола по степени тяжести не выявило достоверных различий (Таблица 11).

Таблица 11 – Распределение пациентов по степени тяжести и полу

	А группа (n=76)		В группа (n=133)		p
	абс.	%	абс.	%	
Легкая степень тяжести	39	51,3%	58	43,6%	0,31432
Средняя степень тяжести	23	30,3%	40	30,1%	1,00000
Тяжелая степень тяжести	14	18,4%	35	26,3%	0,23586

*Примечание: p – достоверность различий.

В группе А субфебрильная температура тела отмечалась у 26 (34,2%) мужчин, фебрильная температура у 50 (65,8%) больных. В группе В

субфебрильная температура тела была отмечена у 41 (30,8%) пациентки, фебрильная температура встречалась у 92 (69,2%) женщин (Рисунок 15). Средняя температура в группах не имела достоверных отличий (у мужчин температура тела составляла 38,10 [37,80;38,45], у женщин 38,20 [37,80;38,60].

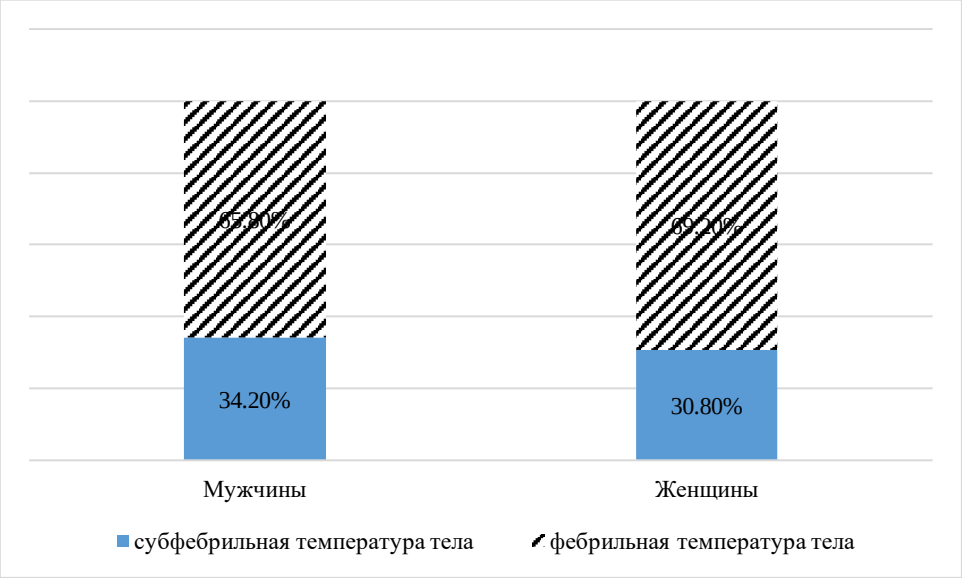


Рисунок 15 – Соотношение субфебрильной и фебрильной температуры тела в группах сравнения

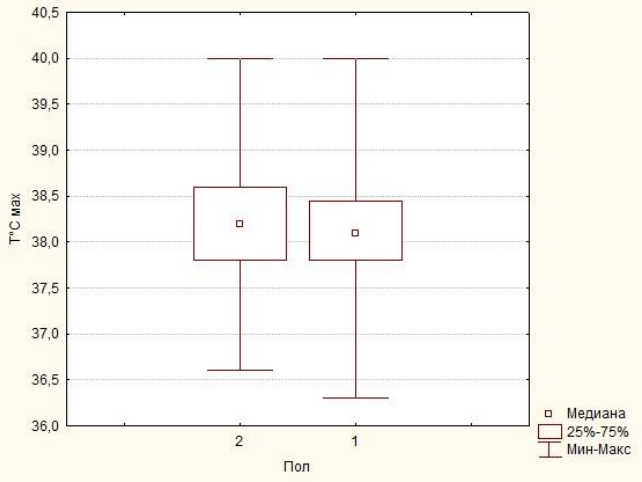


Рисунок 16 – Сравнительная характеристика температурной реакции в зависимости от пола

Длительность лихорадки составила 6,46±0,51 дней (медиана 5,00 [3,00;9,00] и 5,62±0,35 дня (медиана 5,00 [3,00;7,00] соответственно в группах и не имела достоверных различий.

Изучены клинико-лабораторные показатели в зависимости от пола. Во время исследования состояние пациентов в обеих группах характеризовалось сопоставимой клинической картиной. Основными симптомами, на которые жаловались участники, были утомляемость, кашель и одышка. Слабость встречалась у 68 (89,5%) мужчин, у 127 (95,5%) женщин. Кашель присутствовал у 67 (88,1%) мужчин, у 121 (91%) женщин. Одышка выявлена при поступлении 17 (22,4%) мужчин и 30 (22,5%) женщин (p>0,05). Анализ других клинических проявлений также не выявил достоверных различий между мужчинами и женщинами (Таблица 12, Рисунок 17).

Таблица 12 - Клинические проявления COVID-19 у пациентов в зависимости от пола

	Группа А (n=76)		**Группа В (n=133)**		**p**
	абс.	%	абс.	%	
Слабость	68	89,50%	128	96,20%	0,0724
Кашель	52	68,40%	101	75,90%	0,2583
Одышка	16	21%	35	26,30%	0,5033
Заложенность в груди	5	6,60%	18	13,50%	0,1680
Боль в горле	4	5,30%	7	5,30%	1,0000
Насморк	2	2,60%	3	2,30%	1,0000
Потеря обоняния и вкуса	3	3,90%	5	3,63%	1,0000
Конъюнктивит	0	0,00%	0	0,00%	-
Миалгия	5	6,60%	11	8,30%	0,7902
Головная боль	8	10,50%	11	8,30%	0,6216
Диарея	0	0,00%	0	0,00%	-
Сыпь	0	0,00%	0	0,00%	-
Тошнота	0	0,00%	2	1,50%	0,5350
Желтуха	0	0,00%	1	0,75%	1,0000
Рвота	1	1,30%	0	0,00%	0,3636

Примечание: p – достоверность различий

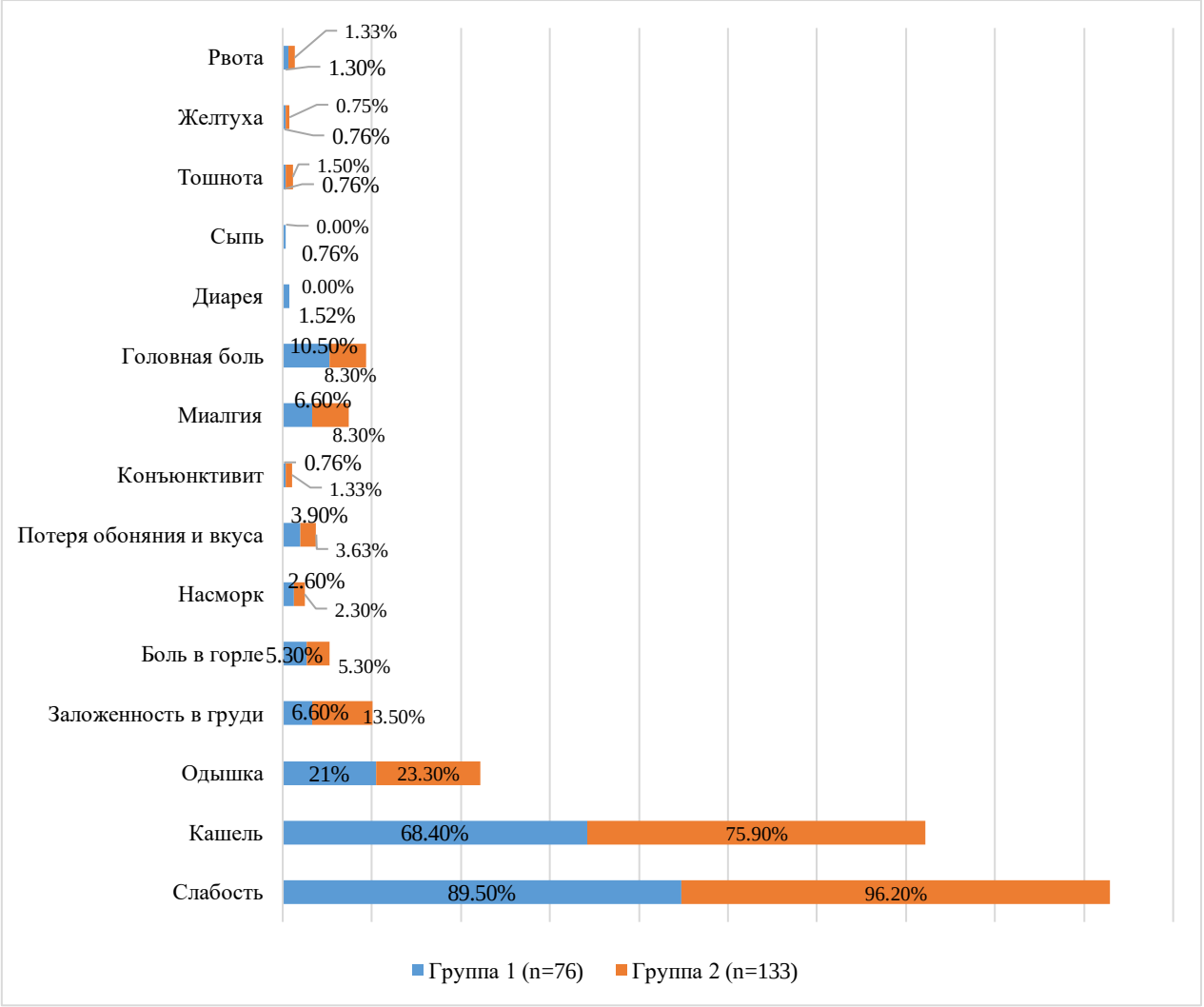


Рисунок 17 – Сравнительная характктеристика клинических проявлений у мужчин и женщин с COVID-19

У 57,8% пациентов в группах наблюдения диагностирована двусторонняя полисегментарная пневмония, с разной степенью поражения легких. В группе А у 31 (40,8%) мужчин COVID-19 протекала без изменений на КТ, пневмония с объемом поражения КТ 1 была выявлена у 8 (10,5%) пациентов (p=0,0004), КТ-2 встречалось в 30,3% (23 больных) случаев (p=0,0124), КТ-3 у 9 (11,9%.) больных, КТ-4 у 5 (6,6%) мужчин (p=0,0249). В группе В у 55 (41,4%) женщин коронавирусная инфекция протекала без поражения легких, пневмония с объемом поражения КТ-1 была выявлена у 43 (32,3%) пациенток (p=0,0004), КТ-2 выявлено у 20 (15%) женщин (p=0,124), КТ-3 у 14 (10,5%) больных, КТ-4 у 1 (0,6%) женщины (p=0,0249) (Таблица 13,

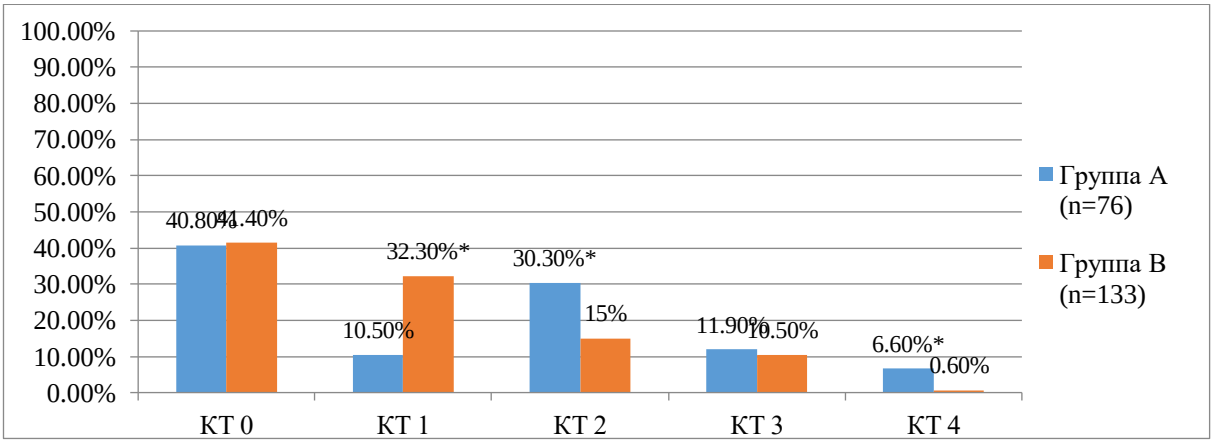
Рисунок 18).

Таблица 13 - Объем поражения легких по КТ у пациентов с COVID-19 в группах сравнения

	А группа (n=76)		В группа (n=133)		p (достоверность различий)
	абс.	%	абс.	%	
КТ 0	31	40,80%	55	41,40%	1,0000
КТ 1	8	10,50%	43	32,30%	**0,0004**
КТ 2	23	30,30%	20	15%	**0,0124**
КТ 3	9	11,90%	14	10,50%	0,8199
КТ 4	5	6,60%	1	0,60%	**0,0249**

Примечание: p – достоверность различий

У женщин достоверно чаще встречалось объем поражения легких, соответствующий КТ 1 (p=0,0004). У мужчин достоверно чаще встречалось поражение легких КТ 2 (p=0,0,0124) и КТ 4 (p=0,0249) по результатам компьютерной томографии.



Примечание: p – достоверность различий

Рисунок 18 – Объем поражения легких у пациентов в зависимости от пола

Была проведена оценка дыхательной недостаточности в зависимости от пола. Выявлено, что у 52 (68,4%) мужчин коронавирусная инфекция протекала без дыхательной недостаточности (ДН), с ДН 1 ст. – 13 (17,1%) больных, с ДН 2 ст – 9 (11,8%) пациентов, ДН 3 ст. – 2 (2,6%) больных. У 104 (78,2%) женщин отсутствовала ДН, с ДН 1ст. было 15 (11,3%) пациенток, с ДН 2 – 7 (5,3%) больных, с ДН 3 ст. – 7 (5,3%) пациенток (Таблица 14). По степени развившейся ДН достоверных различий не выявлено.

Таблица 14 – Степень дыхательной недостаточности у пациентов в зависимости от пола

	Группа А (n=76)		Группа В (n=133)		p
	абс.	%	абс.	%	
ДН 0 ст	52	68,40%	104	78,20%	0,1378
ДН 1 ст	13	11,30%	15	17,10%	0,2914
ДН 2 ст	9	11,80%	7	5,30%	0,1061
ДН 3 ст	7	2,60%	2	5,30%	1,0000

Примечание: p – достоверность различий

Присоединение бактериальной инфекции при вирусной пневмонии отмечено у 50% мужчин и 64,7% женщин, достоверных различий не выявлено. В мокроте у этих пациентов были обнаружены Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter pitii, Klebsiella pnemoniae, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus.

Таким образом, несмотря на достоверно более распространенное поражение легких у мужчин, достоверных различий по дыхательной недостаточности не получено, а лабораторно подтвержденные бактериальные осложнения чаще встречались у женщин.

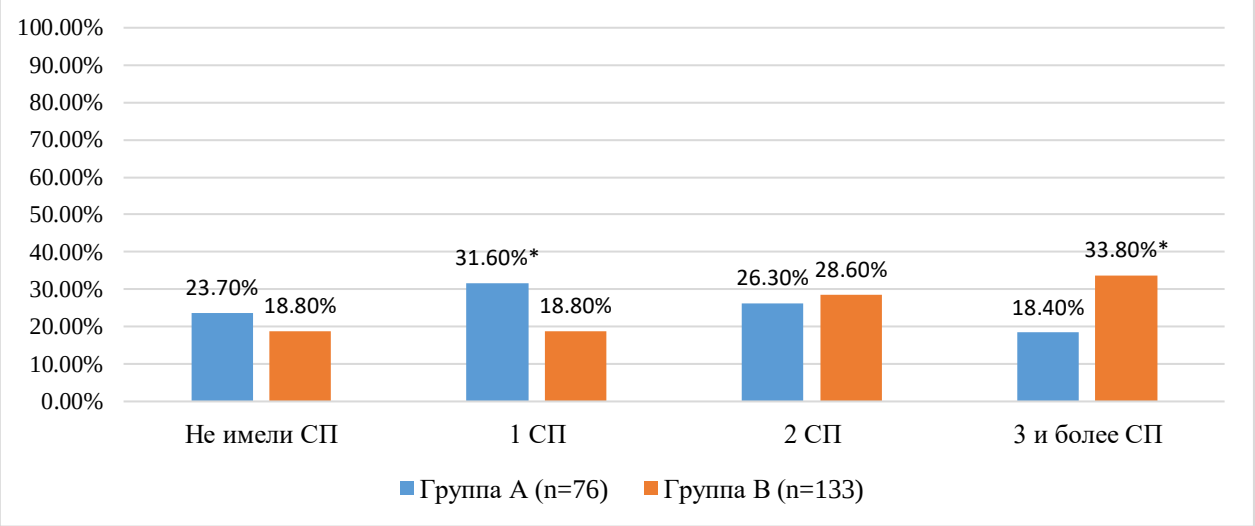
У пациентов в группах сравнения выявлен ряд сопутствующих заболеваний. В группе А 18 (23,7%) пациентов не имели сопутствующих заболеваний, 9 (11,8%) мужчин имели онкологические заболевания, 40 (52,6%) человек страдали ГБ, 13 (17,1%) мужчин пациентов имели СД, у 11 (14,5%) пациентов ожирение, ИБС зафиксирована у 22 (28,9%) лиц мужского пола. Заболевания бронхо-легочной системы в этой группе были выявлены у 6 (7,9%) больных.

В группе В 25 (18,8%) пациенток не имели сопутствующих заболеваний, 13 (9,7%) женщин имели онкологические заболевания, 84 (63,2%) больных страдали гипертонической болезнью, 39 (29,3%) пациенток имели СД, у 32 (24%) женщин ожирение, с ИБС и бронхо-легочными заболеваниями 59 (44,4%) и 11 (8,3%) пациенток соответственно. Данные представлены в Таблице 15 и Рисунке 19.

Таблица 15 - Сравнительная характеристика пациентов по наличию сопутствующих заболеваний (СЗ) в зависимости от пола

	Группа А (n=76)		Группа В (n=133)		p
	абс.	%	абс.	%	
Не имели СП	18	23,70%	25	18,80%	0,4772
1 СЗ	24	31,60%	25	18,80%	**0,0423**
2 СЗ	20	26,30%	38	28,60%	0,7510
3 и СЗ	14	18,40%	45	33,80%	**0,0174**

Примечание: p – достоверность различий.



Примечание: p – достоверность различий

Рисунок 19 - Сравнительная характеристика пациентов по наличию сопутствующих заболеваний (СЗ) в зависимости от пола

У женщин чаще встречались ИБС, ожирение, ГБ, сахарный диабет, однако различия были не достоверны. Сочетание 3 и более сопутствующих заболеваний у женщин встречалось достоверно чаще (p=0,0174).

При оценке лабораторных показателей у пациентов группы А лейкопения выявлена в 23,7% случаях (минимально 2,3x10^9/л), лейкоцитоз – у 25% (максимально 26,5x10^9/л), лимфопения – у 29 (38,2%) мужчин, тромбоцитопения у 11 (14,5%) больных (минимально 95x10^9/л), тромбоцитоз у 11 (14,5%) пациентов (максимально 520x10^9/л), повышение СОЭ было зафиксировано у 58 (76,3%) мужчин (максимально 73 мм/ч). Повышение маркеров воспаления – СРБ и ЛДГ - было обнаружено у 72,4% (максимально

359 мг/л) и 44,7% мужчин (максимально 2365 u/l) соответственно. Повышение ферритина встречалось у 30 (39,5%) больных (максимально 1625 мкг/л). У пациентов с COVID-19 часто выявляются нарушения системы свертывания крови: повышение Д-димера отмечено у 26 (34,2%) пациентов (максимально 2369 нг/мл), снижение АЧТВ (минимально 16,1) было в 38,2% случаев. В анализе показателей мочи была выявлена протеинурия у 24 (31,6%) мужчин, появление кетоновых тел у 16 (21,1%) больных, лейкоцитурия зафиксирована у 20 (26,3%), появление эритроцитов в моче у 17 (22,4%) человек. Также выявлена цилиндурия у 15 (19,7%) мужчин.

У женщин (группа В) лейкопения выявлена в 27% случаях (минимально 2,7x10^9/л), лейкоцитоз – в 19,5% (максимально 35,9x10^9/л), лимфопения – у 59 (44,5%), тромбоцитопения у 51 (38,3%) больных (минимально 99x10^9/л), тромбоцитоз у 29 (21,8%) пациенток (максимально 630x10^9/л), повышение СОЭ было зафиксировано у 114 (85,7%) женщин (максимально 69 мм/ч). Повышение маркеров воспаления – СРБ и ЛДГ - было выявлено у 67% (максимально 575 мг/л) и 47,4% женщин (максимально 4468 u/l) соответственно. Повышение ферритина было у 52 (39,1%) больных группы В (максимально 1495 мкг/л). При оценке нарушения в системе гемостаза выявлено повышение Д-димера у 49 (36,8%) пациенток (максимально 4956 нг/мл), снижение АЧТВ (минимально 17,3) было в 42,9% случаев. В анализе показателей мочи была выявлена протеинурия у 42 (31,6%) женщин, появление кетоновых тел у 40 (30,1%) больных, лейкоцитурия зафиксирована у 38 (26,6%) женщин, выявление эритроцитов в моче в 26,3% случаев. Также выявлена цилиндурия у 35 (26,3%) женщин (Таблица 16).

Таблица 16 – Лабораторные показатели у мужчин и женщин с COVID-19 в группах наблюдения

	Группа А (n=76)		Группа В (n=133)		p
	абс.	%	абс.	%	
Лейкопения	18	23,70%	36	27%	0,6258
Лейкоцитоз	19	25%	26	19,50%	0,3845
Лимфопения	29	38,20%	59	44,50%	0,4667

Тромбоцитопения	17	22,40%	51	38,30%	**0,0212**
Тромбоцитоз	11	14,50%	29	21,80%	0,2075
Ускоренная СОЭ	58	76,30%	114	85,70%	0,0935
Повышение СРБ	55	72,40%	81	67%	0,0999
Повышение ЛДГ	34	44,70%	63	47,40%	0,7737
Повышение АЛТ	23	30,30%	41	31%	1,0000
Повышение АСТ	23	30,30%	41	31%	1,0000
Повышение Д-димера	26	34,20%	49	36,90%	0,7652
Повышение мочевины	23	30,30%	45	33,80%	0,6470
Повышение ферритина	30	39,50%	52	39,10%	1,0000
Снижение АЧТВ	29	38,20%	57	42,90%	0,5601
Цилиндурия	15	19,70%	35	26,30%	0,3155
Протеинурия	24	31,60%	42	31,60%	1,0000
Кетонурия	16	21,10%	40	30,10%	0,1943
Лейкоцитурия	20	26,30%	38	26,60%	0,7510
Эритроцитурия	17	22,40%	35	26,30%	0,6185

Примечание: p – достоверность различий

Достоверные различия по лабораторным показателям между мужчинами и женщинами получены только в отношении тромбоцитопении (p=0,0212). По остальным показателям крови и мочи достоверные различия не выявлены.

Таким образом, при изучении гендерных особенностей по характеру клинических проявлений, результатам инструментальных (КТ) и лабораторных исследований у мужчин и женщин с COVID-19 достоверные данные были получены только в отношении количества тромбоцитов (тромбоцитопения). У женщин достоверно чаще встречалось объем поражения легких, соответствующий КТ 1 (p=0,0004). У мужчин достоверно чаще встречалось поражение легких КТ 2 (p=0,0,0124) и КТ 4 (p=0,0249) по результатам компьютерной томографии, однако достоверных различий по дыхательной недостаточности не получено. Анализ коморбидной патологии выявил, что у женщин достоверно чаще встречается 3 и более сопутствующих заболеваний. Бактериальные осложнения при пневмонии чаще диагностированы у женщин (64,7%). Неблагоприятный исход в данной когорте больных чаще встречался у женщин пожилого возраста с сопутствующей патологией.

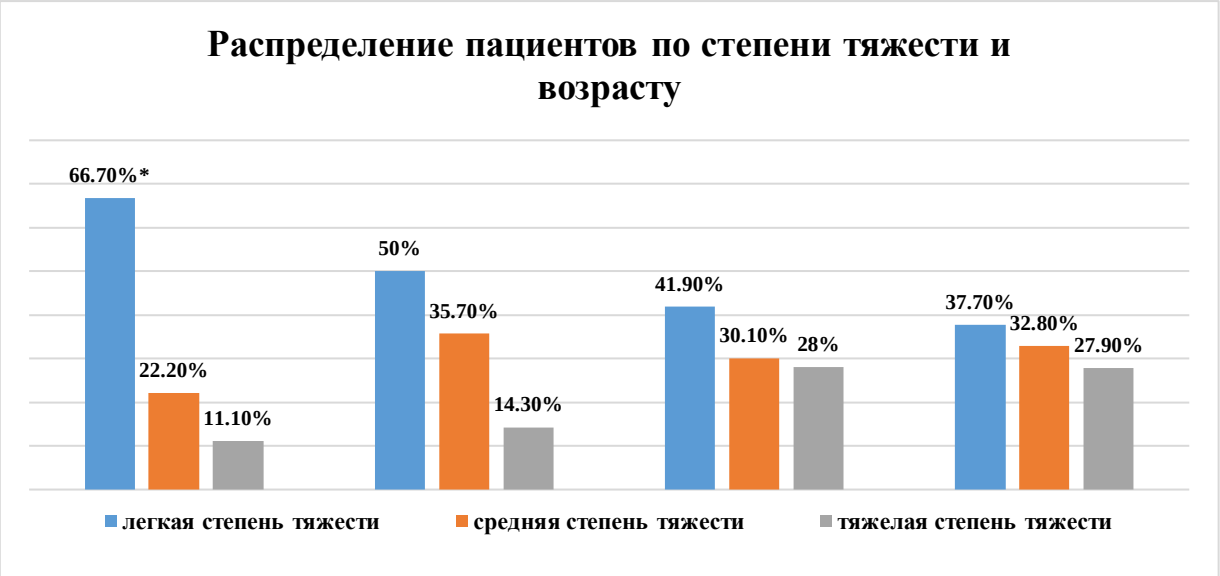
3.3 Возрастные особенности клинических проявлений и лабораторных показателей при COVID-19

По обновлённой классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), опубликованной в марте 2025 года, выделяют следующие возрастные категории: молодой возраст — 18-44 год; средний возраст — 45-59 лет; пожилой возраст — 60-74 года; старческий возраст — 75-90 лет; долгожители — люди старше 90 лет. В соответствии с классификацией возраста ВОЗ пациенты были распределены на четыре группы по возрасту – I группа - 27 (12,9%) пациентов в возрасте от 18 до 44 лет, II группа - 28 (13,4%) больных от 45 до 59 лет, III группа - 93 (44,5%) человека в возрасте с 60 до 74 лет и IV группа 61 (29,2%) пациент старческого возраста (75 лет и старше) (Таблица 17, Рисунок 20).

Таблица 17 - Распределение пациентов по степени тяжести в разных возрастных группах

	18-44 лет		45-59 лет		60-74 лет		75 и > лет		Двусторонний критерий Фишера					
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	P1	P2	P3	P4	P5	P6
легкая степень тяжести	18	66,7 %	14	50%	39	41,9 %	23	37,7 %	0,27721	**0,02916 ***	**0,02012 ***	0,51723	0,35718	0,73668
средняя степень тяжести	6	22,2 %	10	35,7 %	28	30,1 %	20	32,8 %	0,37534	0,47731	0,32537	0,64414	0,81462	0,72279
тяжелая степень тяжести	3	11,1 %	4	14,3 %	26	28%	17	27,9 %	1,00000	0,07978	0,10098	0,21145	0,18622	1,00000

Примечание: p1 – достоверность различий групп 18-44 и 45-59 лет; p2 – достоверность различий групп 18-44 и 60-74 лет; p3 – достоверность различий групп 18-44 и старше 75 лет; p4 – достоверность различий групп 45-59 и 60-74 лет; p5 – достоверность различий групп 45-59 и старше 75 лет; p6 – достоверность различий групп 60-74 и старше 75 лет.



Примечание: * - достоверность различий.

Рисунок 20 - Распределение пациентов по степени тяжести в зависимости от возраста

3.3.1. Изучение клинических особенностей в зависимости от возраста

У пациентов, обращавшихся за медицинской помощью, ведущей жалобой была лихорадка (97% пациентов). Средняя температура в группах не имела достоверных отличий (в I группе средняя температура тела составляла 38,12±0,04, во II группе- 37,98±0,05, в III группе 37,91±0,03, в IV группе – 38,13±0,05).

В I группе субфебрильная температура тела отмечалась у 10 (37%) пациентов, фебрильная температура у 17 (63%) больных. Во II группе субфебрильная температура тела была у 8 (28,6%) пациентов, фебрильная температура отмечалась у 20 (71,4%) больных. В III группе субфебрильная температура тела была у 24 (25,8%) пациентов, фебрильная температура отмечалась у 69 (74,2%) больных. Во IV группе субфебрильная температура тела была у 20 (32,8%) пациентов, фебрильная температура отмечалась у 41 (67,2%) больного (Рисунок 21).

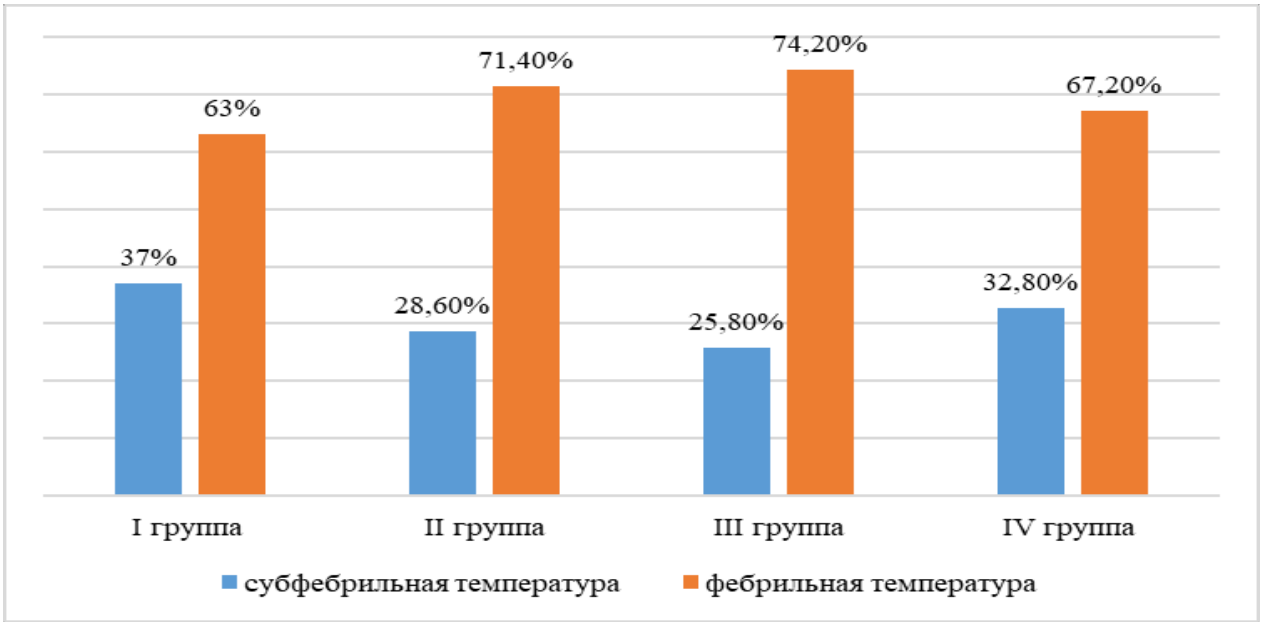


Рисунок 21 – Соотношение субфебрильной и фебрильной температуры тела в группах сравнения

При сравнении температурной реакции достоверных различий в зависимости от возраста выявлено не было.

При поступлении пациенты всех четырех групп имели сходные клинические проявления, достоверных различий между ними не выявлено. Наиболее частыми проявлениями являлись слабость у 25 (92,6%) пациентов в I группе, у 28 (100%) больных - II группе, в III группе – у 84 (90,3%) человек, в IV группе - у 59 (96,7%) пациентов. Кашель присутствовал у 20 (74%) больных в I группе, у 22 (78,6%) пациентов - II группы, у 71 (76,3%) пациентов - III группе, в IV группе – у 40 (65,6%) больных. Одышку отмечали 3 (11%) пациента I группы, 4 (14%) человека II группы, 23 (24,7%) пациента III группы и 16 (26,2%) пациентов IV группы (Таблица 18).

Таблица 18 – Сравнительная характеристика клинических проявлений COVID-19 у пациентов в зависимости от возраста

	I группа (n=27)		II группа (n=28)		III группа (n=93)		IV группа (n=61)		p1	p2	p3	p4	p5	p6
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%						
Слабость	25	92,60%	28	100%	84	90,30%	59	96,70%	0,2364	0,1153	0,2018	1,0000	0,5833	1,0000
Кашель	20	74%	22	78,60%	71	76,30%	40	65,60%	0,7585	1,0000	0,1983	0,8024	0,4688	0,3207
Одышка	3	11,10%	4	14,30%	23	24,70%	16	26,20%	1,0000	0,3073	0,8516	0,1854	0,1612	0,2786
Заложенность в груди	1	3,70%	2	7,10%	15	16,10%	5	8,20%	1,0000	0,3543	0,2203	0,1167	0,6620	1,0000

Боль в горле	1	3,70%	2	7,10%	7	7,50%	1	1,60%	1,0000	1,0000	0,1473	0,6816	0,5219	0,2319
Насморк	1	3,70%	1	3,60%	2	2,20%	0	0%	1,0000	0,5494	0,5185	0,5379	0,3068	0,3146
Потеря обоняния и вкуса	2	7,40%	2	7,10%	4	4,30%	1	1,60%	1,0000	0,6214	0,6487	0,6158	0,2218	0,2319
Миалгия	2	7,40%	3	10,70%	8	8,60%	3	4,90%	1,0000	0,7152	0,5280	1,0000	0,6403	0,3739
Головная боль	2	7,40%	3	10,70%	9	9,70%	5	8,20%	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,7028
Диарея	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	-	-	-	-	-	-
Сыпь	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	-	-	-	-	-	-
Тошнота	1	3,70%	1	3,60%	0	0%	0	0%	1,0000	0,2314	-	0,2250	0,3068	0,3146
Желтуха	0	0%	1	3,60%	0	0%	0	0%	1,0000	0,2314	-	-	-	0,3146
Рвота	0	0%	1	3,60%	0	0%	0	0%	1,0000	0,2314	-	-	-	0,3146

Примечание: p1 – достоверность различий групп 18-44 и 45-59 лет; p2 – достоверность различий групп 18-44 и 60-74 лет; p3 – достоверность различий групп 18-44 и старше 75 лет; p4 – достоверность различий групп 45-59 и 60-74 лет; p5 – достоверность различий групп 45-59 и старше 75 лет; p6 – достоверность различий групп 60-74 и старше 75 лет.

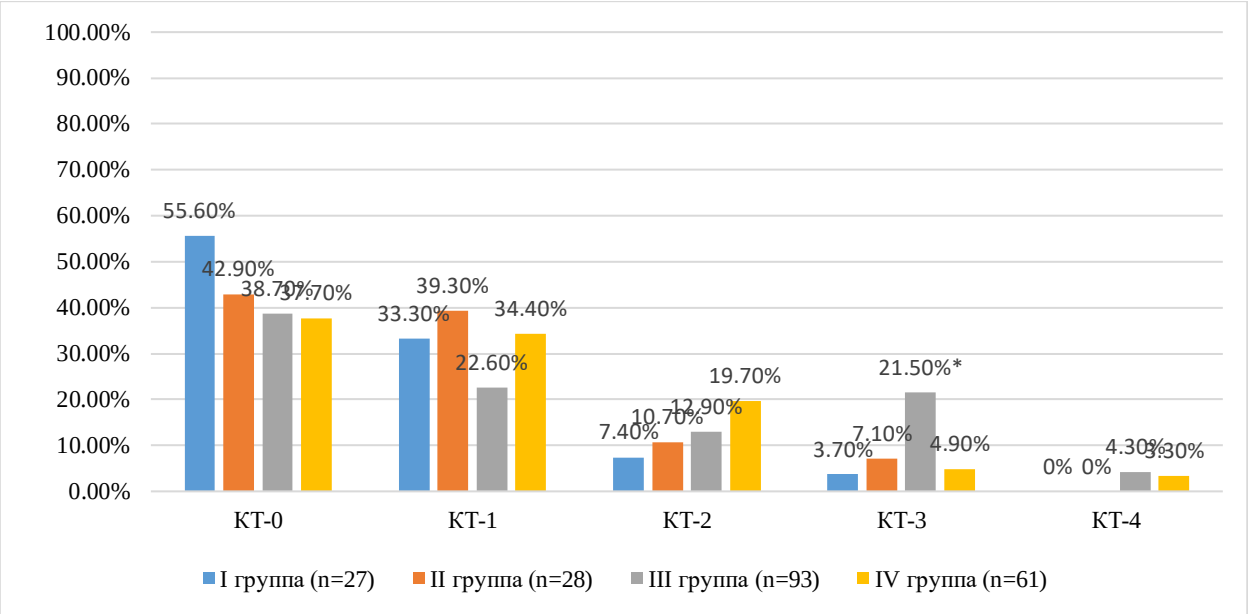
При проведении инструментальной диагностики в I группе отсутствие поражения легких (КТ-0) было зафиксировано у 15 (55,6%) больных, КТ-1 было у 9 (33,3%) пациентов, пневмония с объемом поражения КТ 2 была выявлена у 2 (7,4%) больных, КТ-3 у 1 (3,7%.) пациента, КТ-4 у пациентов этой группы выявлено не было. Во II группе у 12 (42,9%) пациентов коронавирусная инфекция протекала без поражения легких, пневмония с объемом поражения КТ 1-2 была выявлена у 14 (50%) больных, КТ-3 у 2 (7,1%) пациентов. В III группе при компьютерной томографии пневмония не была выявлена у 36 (38,7%) пациентов, пневмония с объемом поражения КТ 1-2 была зафиксирована у 33 (35,5%) больных, у 20 (21,5%) и 4 (4,3%) человек диагностирована пневмония с объемом поражения КТ-3 и КТ-4 соответственно. В IV группе отсутствие поражения легких (КТ-0) было зафиксировано у 23 (37,7%) больных, КТ-1 было у 21 (34,4%) пациентов, пневмония с объемом поражения КТ-2 была выявлена у 12 (19,7%) больных, КТ-3 у 3 (4,9%.) пациентов, КТ-4 – у 2 (3,3%) больных (Таблица 19, Рисунок 22).

Таблица 19 – Сравнительная характеристика объема поражения легких у пациентов в зависимости от возраста

	I группа (n=27)		II группа (n=28)		III группа (n=93)		IV группа (n=61)		p1	p2	p3	p4	p5	p6
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%						
КТ-0	15	55,60%	12	42,90%	36	38,70%	23	37,70%	0,4230	0,8260	1,0000	0,1286	0,1619	0,6488

КТ-1	9	33,30%	11	39,30%	21	22,60%	21	34,40%	0,7808	0,0910	0,1387	0,3133	1,0000	0,8123
КТ-2	2	7,40%	3	10,70%	12	12,90%	12	19,70%	1,0000	1,0000	0,2661	0,7336	0,2106	0,3723
КТ-3	1	3,70%	2	7,10%	20	21,50%	3	4,90%	1,0000	**0,0050**	0,0995	0,6480	1,0000	**0,0416**
КТ-4	0	0%	0	0%	4	4,30%	2	3,30%	-	0,5723	1,0000	0,5735	1,0000	1,0000

Примечание: p1 – достоверность различий групп 18-44 и 45-59 лет; p2 – достоверность различий групп 18-44 и 60-74 лет; p3 – достоверность различий групп 18-44 и старше 75 лет; p4 – достоверность различий групп 45-59 и 60-74 лет; p5 – достоверность различий групп 45-59 и старше 75 лет; p6 – достоверность различий групп 60-74 и старше 75 лет.



Примечание: * - достоверность различий.

Рисунок 22 – Сравнительная характеристика объема поражения легких у пациентов в группах сравнения

По данным Таблицы 19 КТ 3 достоверно чаще встречалось у пациентов III группы (60-74 года) по сравнению с молодыми (p=0.005) и пациентами старческого возраста (p=0.041). КТ 4 диагностирована только у пациентов 60 лет и старше. По другим группам достоверных различий не получено.

При оценке степени дыхательной недостаточности выявлено следующее: в I группе наблюдения у 52 (68,4%) пациентов коронавирусная инфекция протекала без дыхательной недостаточности (ДН), с ДН 1 ст – 13 (17,1%) больных, с ДН 2 ст – 9 (11,8%) пациентов, ДН 3 ст – 2 (2,6%) больных Во II группе без ДН было 104 (78,2%) пациентов, с ДН 1 было 15 (11,3%) пациентов, с ДН 2 – 7 (5,3%) больных, с ДН 3 ст – 7 (5,3%) пациентов (Таблица 20, Рисунок 23).

Таблица 20 – Сравнительная характеристика степени дыхательной недостаточности у пациентов в зависимости от возраста

	I группа (n=27)		II группа (n=28)		III группа (n=93)		IV группа (n=61)		p1	p2	p3	p4	p5	p6
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%						
ДН 0 ст	24	88,90%	24	85,70%	67	72%	43	70,50%	1,0000	0,2115	0,8568	0,0798	0,1018	0,1855
ДН 1 ст	3	11,10%	3	10,70%	16	17,20%	10	16,40%	1,0000	0,5583	1,0000	0,5598	0,7465	0,7475
ДН 2 ст	0	0%	1	3,60%	6	6,50%	6	9,80%	1,0000	1,0000	0,5424	0,3353	0,1714	0,4255
ДН 3 ст	0	0%	0	0%	4	4,30%	2	3,30%	-	0,5723	1,0000	0,5735	1,0000	1,0000

Примечание: p1 – достоверность различий групп 18-44 и 45-59 лет; p2 – достоверность различий групп 18-44 и 60-74 лет; p3 – достоверность различий групп 18-44 и старше 75 лет; p4 – достоверность различий групп 45-59 и 60-74 лет; p5 – достоверность различий групп 45-59 и старше 75 лет; p6 – достоверность различий групп 60-74 и старше 75 лет.

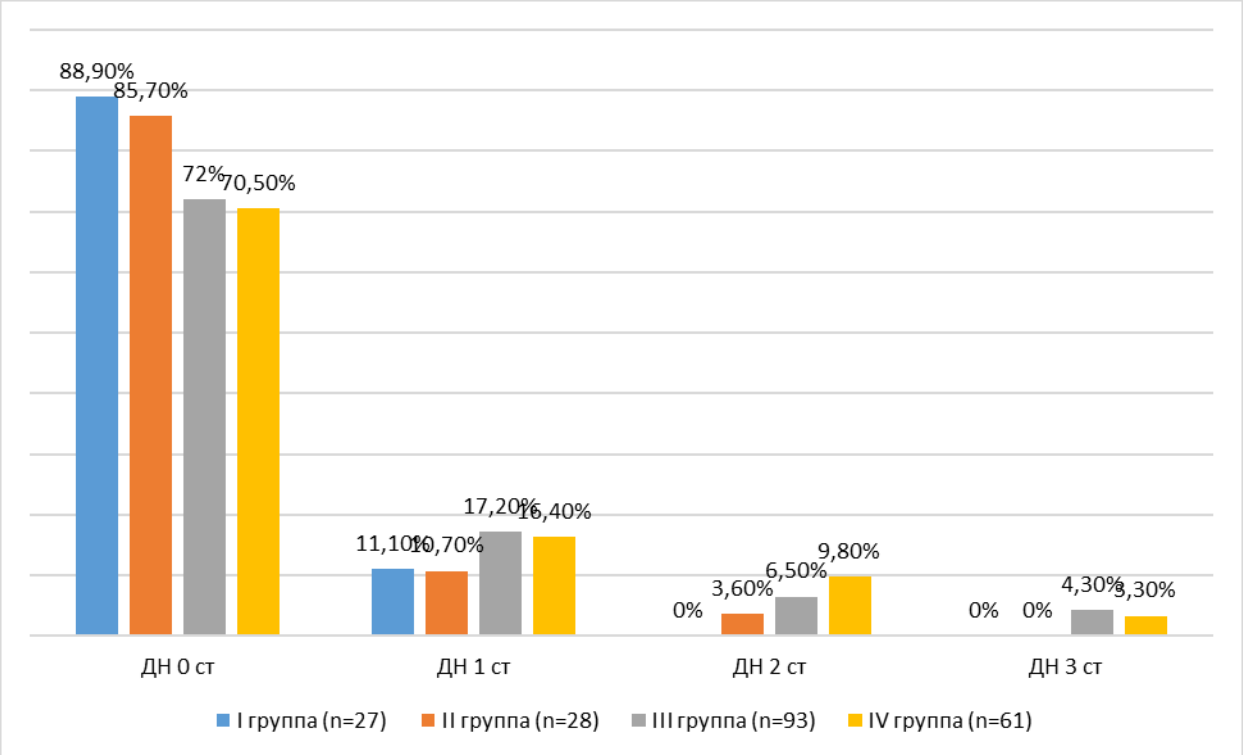


Рисунок 23 – Сравнительная характеристика степени дыхательной недостаточности у пациентов в зависимости от возраста

У пациентов пожилого и старческого возраста чаще диагностирована ДН II-III степени, чем в других возрастных группах, однако различия не были достоверными.

Проведен анализ наличия сопутствующей патологии в зависимости от

возраста у пациентов с COVID-19. В I группе 20 (74,1%) пациентов не имели сопутствующих заболеваний, 2 (7,4%) больных страдали сахарным диабетом, 3 (11,1%) пациента имели ожирение 2-3 степени, 2 (7,4%) ГБ. Во II группе 11 (39,3%) пациентов не имели сопутствующих заболеваний, 5 (17,9%) человек страдали гипертонической болезнью, 1 (3,6%) человек имел онкологическое заболевание, 1 (3,6%) пациент имел СД, у 1 (3,6%) пациента ожирение, с ИБС и бронхо-легочными заболеваниями пациентов не было. В III группе все пациенты имели сопутствующую патологию. ГБ страдали 85 (91,4%) пациентов, имели СД 53 (57%) человек, ИБС была зарегистрирована у 43 (46,2%) больных, ожирение у 27 (29%) пациентов, онкологические заболевания у 5 (5,4%) человек, заболевания бронхо-легочной системы у 11 (11,8%) больных. В IV группе также отсутствовали пациенты без сопутствующей патологии: 7 (11,5%) больных имели онкологические заболевания, 41 (65,1%) пациент страдали гипертонической болезнью, 23 (37,7%) пациента имели сахарный диабет, у 14 (23%) больных было ожирение. Пациентов с ИБС было 49 (80,3%) и 9 (14,8%) пациентов с бронхо-легочными заболеваниями. Данные представлены в Таблице 21 и Рисунке 24. Таким образом, получены достоверные различия по всем представленным сопутствующим заболеваниям.

Таблица 21 - Сравнительная характеристика наличия сопутствующих заболеваний у пациентов в зависимости от возраста

	18-44 лет	45-59 лет	60-74 лет	75 и > лет	P1	P2	P3	P4	P5	P6
ИБС	0%	0%	46,2%	80,3%	1,0000	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***
Онкологические заболевания	0%	3,6%	5,4%	11,5%	1,0000	0,5864	0,0937	1,0000	0,4272	0,2184
Бронхо-легочные заболевания	11,1%	3,6%	5,4%	11,5%	0,3516	0,3772	1,0000	1,0000	0,4272	0,2184
Ожирение	11,1%	3,6%	29%	23%	0,3516	0,0770	0,2480	**0,0042 ***	**0,0305 ***	0,4615
ГБ	7,4%	17,9%	91,4%	65,1%	0,4216	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0002 ***
СД	7,4%	3,6%	57%	37,7%	0,6110	**0,0000 ***	**0,0041 ***	**0,0000 ***	**0,0006 ***	**0,0313 ***

Без сопутствующей патологии	74,1%	39,3%	0%	0%	**0,0143 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	1,0000

Примечание: p1 – достоверность различий групп 18-44 и 45-59 лет; p2 – достоверность различий групп 18-44 и 60-74 лет; p3 – достоверность различий групп 18-44 и старше 75 лет; p4 – достоверность различий групп 45-59 и 60-74 лет; p5 – достоверность различий групп 45-59 и старше 75 лет; p6 – достоверность различий групп 60-74 и старше 75 лет.

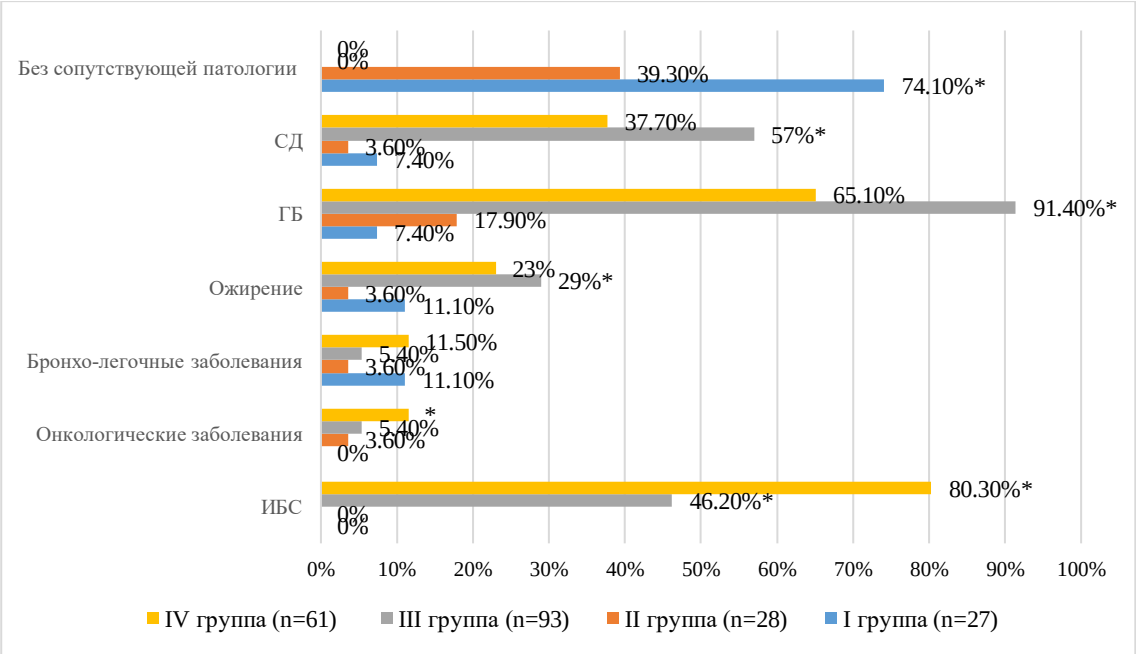


Рисунок 24 – Сравнительная характеристика наличия сопутствующих заболеваний у пациентов в зависимости от возраста

Проанализировано количество сопутствующих заболеваний у пациентов с различной степенью тяжести (Таблица 22).

Таблица 22 – Сравнительная характеристика пациентов по числу сопутствующих заболеваний (СЗ) в зависимости от от возраста

	18-44 лет (n=27)	45-59 лет (n=28)	60-74 лет (n=93)	75 и > лет (n=61)	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Не имели СП	74,1%	57,1%	0%	0%	**0,0143 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	1,0000
1 СП	25,9%	12,5%	0%	0%	0,6110	**0,0000 ***	**0,0000 ***	0,2314	0,3182	1,0000
2 СП	0%	12,5%	66,6%	37,7%	1,0000	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	0,1850
3 и СП	0%	17,9%	33,4%	62,3%	0,0515	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***	**0,0011 ***	**0,0000 ***

Примечание: p1 – достоверность различий групп 18-44 и 45-59 лет; p2 – достоверность различий групп 18-44 и 60-74 лет; p3 – достоверность различий групп 18-44 и старше 75 лет; p4 – достоверность различий групп 45-59 и 60-74 лет; p5 – достоверность различий групп 45-59 и старше 75 лет; p6 – достоверность различий групп 60-74 и старше 75 лет.

В соответствии с возрастными особенностями сопутствующей патологии среди пациентов пожилого и старческого возраста достоверно чаще наблюдались пациенты с ИБС (p=0,0000), ГБ (p=0,0000), сахарным диабетом (p=0,0006), бронхо-легочными заболеваниями, метаболическим синдромом (p=0,0305). Также достоверные данные получены по количеству сопутствующей патологии – чем старше возраст пациента, тем чаще встречались у пациентов 2 и более сопутствующих заболеваний (p=0,0000).

У пациентов разного возраста изучены особенности лабораторных показателей. Сравнительная характеристика лабораторных показателей в зависимости от возраста представлена в Таблице 23.

Таблица 23 – Сравнительная характеристика показателей крови и мочи в зависимости от возраста

	I группа (n=27)		II группа (n=28)		III группа (n=93)		IV группа (n=61)		p1	p2	p3	p4	p5	p6
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%						
Лейкопения	4	14,80%	5	17,90%	27	29%	18	29,50%	1,0000	0,3297	1,0000	0,2108	0,1860	0,3034
Лейкоцитоз	2	7,40%	4	14,30%	21	22,60%	18	29,50%	0,6695	0,4317	0,3494	0,0982	**0,0271**	0,1855
Лимфопения	8	29,60%	10	35,70%	53	57%	17	27,90%	0,7753	0,0550	**0,0005**	**0,0160**	1,0000	0,4670
Тромбоцитопения	6	22,20%	7	25%	33	35,50%	22	36,10%	1,0000	0,3642	1,0000	0,2466	0,2252	0,3401
Тромбоцитоз	3	11,10%	5	17,90%	18	19,40%	14	23%	0,7049	1,0000	0,6854	0,4003	0,2503	0,7816
Ускоренная СОЭ	15	55,60%	20	71,40%	90	96,80%	47	77%	0,2695	**0,0003**	**0,0003**	**0,0000**	0,0745	0,6029
Повышение СРБ	11	40,70%	18	64,30%	86	92,50%	28	34,40%	0,1078	**0,0006**	**0,0000**	**0,0000**	0,8164	0,1174
Повышение ЛДГ	10	37%	16	57,10%	43	46,20%	24	46%	0,1799	0,3896	0,4119	0,5100	1,0000	0,1683
Повышение АЛТ	4	14,80%	9	32,10%	27	29%	24	39,30%	0,2047	0,8149	0,2212	0,2108	**0,0265**	0,6380
Повышение АСТ	4	14,80%	9	32,10%	27	29%	25	39,30%	0,2047	0,8149	0,1633	0,2108	**0,0256**	0,4869
Повышение Д-димера	5	18,50%	7	25%	38	40,90%	25	41%	0,7458	0,1807	1,0000	**0,0405**	0,0519	0,1622
Повышение мочевины	6	22,20%	8	28,60%	30	32,30%	24	39,30%	0,7585	0,8184	0,3919	0,3522	0,1472	0,3534
Повышение ферритина	5	18,50%	9	32,10%	40	43%	28	46%	0,3550	0,3818	0,7426	**0,0242**	**0,0173**	0,2538
Снижение АЧТВ	4	14,80%	6	21,40%	50	53,80%	26	42,60%	0,7287	**0,0027**	0,1910	**0,0003**	**0,0143**	0,0609
Цилиндурия	3	11,10%	4	14,30%	26	28%	17	27,90%	1,0000	0,2115	1,0000	0,0798	0,1030	0,1894
Протеинурия	5	18,50%	6	21,40%	30	32,30%	25	41%	1,0000	0,3487	0,3043	0,2301	0,0519	0,0947
Кетонурия	2	7,40%	4	14,30%	28	30,10%	22	36,10%	0,6695	0,1416	0,4838	**0,0213**	0,4700	**0,0453**
Лейкоцитурия	7	25,90%	10	35,70%	31	33,30%	10	16,40%	0,5619	0,8231	**0,0251**	0,6389	0,3809	0,0567
Эритроцитурия	5	18,50%	8	28,60%	28	30,10%	11	18	0,5279	1,0000	0,1290	0,3285	1,0000	0,2768

Примечание: p1 – достоверность различий групп 18-44 и 45-59 лет; p2 – достоверность различий групп 18-44 и 60-74 лет; p3 – достоверность различий групп 18-44 и старше 75 лет; p4 – достоверность различий групп 45-59 и 60-74 лет; p5 – достоверность различий групп 45-59 и старше 75 лет; p6 – достоверность различий групп 60-74 и старше 75 лет.

По результатам сравнительного анализа выявлены следующие

достоверные различия: у пациентов старческого возраста достоверно чаще встречался лейкоцитоз, увеличение трансаминаз по сравнению с людьми среднего возоаста; частота лимфопении, ускоренной СОЭ и СРБ достоверно возрастала у лиц среднего и пожилого возраста, но не имела достоверных различий у лиц старческого и молодого возраста.

Повышение Д-димера достоверно чаще встречалось у лиц пожилого возраста, а ферритин у пожилого и старческого возраста. Частота снижения АЧТВ имела достоверные различия между пациентами II и III, I и III, I и IV групп. Кетонурия достоверно чаще встречалась в III и IV группах больных.

Таким образом, наиболее выраженные воспалительные изменения на фоне лимфопении наблюдалась у пациентов 45-75 лет, что определяло тяжесть течения COVID-19. У пациентов старческого возраста чаще отмечался лейкоцитоз, поражение печени (трансаминаземия) и метаболические нарушения. Наиболее тяжелое течение по данным лабораторных исследований характерно для лиц 60-74 лет, у которых процесс сопровождался повышением ферритина, нарушением гемостаза (Д-димер, АЧТВ), метаболическими нарушениями.

Проведенные исследования клинико-лабораторных показателей в зависимости от возраста выявили, что наиболее неблагоприятное течение COVID-19 отмечается у лиц 45-74 года, у которых наиболее выражены воспалительные изменения, гемостатические и метаболические нарушения, что сопровождается обширным поражением легких, соответствующим КТ-3 и КТ-4. У лиц старше 75 лет коронавирусная инфекция при менее выраженных воспалительных изменениях приводит к более частому присоединению бактериальной инфекции и развитию органной дисфункции на фоне наличия 3 и более сопутствующих заболеваний, что также определяет неблагоприятное течение COVID-19 у этой возрастной группы.

Глава 4 Характеристика иммунологических показателей и генетических полиморфизмов у пациентов с COVID-19

4.1. Характеристика иммунологических показателей у пациентов с COVID-19

Для изучения иммунологических показателей было обследовано 85 пациентов с COVID-19, которые были разделены на три группы по степени тяжести: 1 группа - 32 (37,6%) человека с легкой степенью тяжести; 2 группа – 30 (35,3%) больных со средней степенью тяжести; 3 группа - 23 (27,1%) пациентов с тяжелой степенью тяжести заболевания, а также контрольная группа здоровых людей (n=30). Во всех группах были исследованы следующие показатели: Ig A, M, G, CD-4, CD-8, CD-19, РБЛТ, интерферон-γ, интерлейкин 18, интерлейкин-10, интерлейкин-4, фактор некроза опухоли-α. Проводилось также исследование функциональной активности нейтрофилов хемилюминесцентным методом (Таблица 24).

Таблица 24 – Иммунологические показатели больных с COVID-19 и лиц контрольной группы

Показатель	Контрольная группа (n=30) Медиана [LQ-UQ]	Больные с COVID-19 (n=96) Медиана [LQ-UQ]	p
1	2	3	4
ХЛ (Imax), (PPs)	0,48 (0,32-0,61)	0,13 (0,07-0,22)*	**0,0283**
IgA, г/л	2,0 (1,8-2,3)	2,8 (2,0-4,0)*	**0,0107**
IgM, г/л	1,8 (1,4-2,0)	1,2 (0,85-1,9)*	**0,0112**
IgG, г/л	10,3 (8,8-12,3)	12,0 (11,0-15,0)*	**0,0037**
IL-18 (сп.), пг/мл	49,0 (50,0-51,0)	80,8 (58,8-132,8)*	**0,0007**
IL-18 (инд.), пг/мл	50,0 (12,0-120,0)	90,3 (60,0-130,0)*	**0,0198**
FNO-α (сп), пг/мл	5,0 (5,0-5,0)	7,7 (4,3-49,9)	0,0538
FNO-α (инд), пг/мл	1150 (1000,0-1300,0)	569,4 (487,7-570,4)*	**0,0000**
IL-4 (сп.), пг/мл	0 (0-0)	0,55 (0,0-2,5)*	**0,0086**
IL-4 (инд.), пг/мл	8,9 (2,4-16,0)	9,3 (5,8-20,8)	0,3516
IL-10 (сп.), пг/мл	3,2 (2,4-7,5)	4,0 (3,1-13,3)	0,2138
IL-10 (инд.), пг/мл	130,3 (105,6-145,2)	100,3 (63,1-169,0)	0,3516

IFN-γ (сп.), пг/мл	2,0 (0,000-4,0)	3,0 (0,2-7,6)	0,4329
IFN-γ (инд.), пг/мл	867,0 (867,0-998,0)	692,2 (237,0-1406,0)	0,5658
РБТЛ (%)	60,0 (60,0-65,0)	37,0 (26,0-52,0)*	**0,0000**
CD3+ CD4+ (%)	41,6 (39,1-43,9)	42,5 (32,0-50,0)	0,6870
CD3+ CD8+ (%)	23,0 (19,5-26,7)	14,0 (11,0-20,0)*	**0,00003**
CD3-CD5+ CD19+ (%)	12,0 (11,0-15,0)	8,5 (6,0-13,0)	0,0528

Примечание: *– достоверность различий

Анализ хемилюминесценции нейтрофилов показал существенное снижение нормированной максимальной интенсивности свечения нейтрофилов (Imax) у больных COVID-19 по сравнению с контрольной группой. В ходе исследования гуморальных факторов иммунитета у пациентов с COVID-19 было зафиксировано достоверное увеличение уровня IgA и IgG в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует об их активации и согласуется с результатами других исследователей [10, 77, 82, 94, 117]. В то же время, в группе больных COVID-19 было отмечено достоверное снижение уровня IgM в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой.

В ходе исследования продукции основных цитокинов было обнаружено достоверное увеличение спонтанной и индуцированной продукции интерлейкина-18 (IL-18) и спонтанной продукции интерлейкина-4 (IL-4), наряду со снижением индуцированной продукции фактора некроза опухоли-альфа (TNF-α); со стороны Т-системы иммунитета установлено статистически достоверное снижение как количественных, так и функциональных показателей Т-лимфоцитов, включая популяцию цитотоксических CD3+CD8+ лимфоцитов. Исследование уровня FNO-α продемонстрировало значительное снижение индуцированной продукции этого цитокина, что, вероятно, является одной из множества причин нарушения противовирусного ответа у пациентов с COVID-19.

Исследования в области патогенеза COVID-19 выявили, по данным литературы, нарушения в системе врожденного иммунитета. Известно, что

чрезмерная потеря нейтрофилами их функциональных возможностей может привести к снижению иммунологической защиты, а чрезмерная активация может вызвать определённые повреждения тканей.

Проведено изучение показателей врожденного иммунитета с использованием хемилюминесцентного анализа у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19. Определены следующие показатели: нормированная светосумма спонтанной и ФМА+фМЛФ-стимулированной продукции нейтрофилов (Sспонт., Sстим.) (показатель светосуммы, деленный на абсолютное количество нейтрофилов в образце крови), нормированная максимальная интенсивность свечения нейтрофилов (Imax) (максимальная интенсивность, деленная на абсолютное количество нейтрофилов в образце крови), коэффициент активации (Ка), равный отношению показателя нормированной светосуммы ФМА+фМЛФ-стимулированных нейтрофилов к показателю нормированной светосуммы спонтанной продукции нейтрофилов. Единицы измерения показателей светосуммы и максимальной интенсивности свечения выражали в PPs (количество импульсов света в секунду времени в пересчете на миллион нейтрофилов).

Выявлено снижение спонтанной в 2,3 раза (p=0,003) и индуцированной в 1,6 раз (p=0,002) продукции АФК (активных форм кислорода) у больных с тяжелым течением заболевания по сравнению с пациентами средней степени тяжести COVID-19 (Таблица 25).

Таблица 25 - Показатели хемилюминесцентного анализа у пациентов с COVID-19 с различной степенью тяжести и контрольной группы

Значения	**Пациенты с COVID-19**			**Контрольная группа (*n* = 30) Mediana $Q_{0.25}$–$Q_{0.75}$**
	1 группа (*n* = 32) Mediana $Q_{0.25}$–$Q_{0.75}$	2 группа (*n* = 30) Mediana $Q_{0.25}$–$Q_{0.75}$	3 группа (*n* = 23) Mediana $Q_{0.25}$–$Q_{0.75}$	

$S_{спонт.}$, PPs	11,0 [6,7-19,0] p=0,003	16,0 [7,0-38,0] p=0,005 **p_2=0,03**	**7,0** [6,0-37,0] p=0,002 **p_3=0,04**	25,3 [15,8-42,3]
$S_{стим}$, PPs	164,0 [132,0-396,0] p=0,002 p_1=0,004	382,5 [211,0-750,0] p_2=0,02	**240,0** [190,0-452,0] p=0,004 p_3=0,002	410,8 [280,1-577,5]
I_{max}, PPs	0,7 [0,39-0,8]	0,6 [0,42-1,5]	0,56 [0,54-1,07]	0,48 [0,32-0,61]
T_{max}, с	2160 [2136-2364] p=0,008	2148 [2112-2460] p=0,01	2100 [1950-2280] p=0,006	2760 [2200-3350]
$К_а$	**13,5** **[7,6-22,5]** **p_1=0,0025**	**22,6** **[8,8-32,6]** **p=0,002** **p_2=0,03**	**35,6** **[19,8-46,2]** **p=0,001** **p_3=0,004**	**15,7** **[9,6-24,5]**

Примечание. p - статистически различия групп больных COVID-19 и контрольной группы; p1 - статистически различия 1 и 2 группы больных COVID-19 (p<0,05); p2 - статистически различия 2 и 3 группы больных COVID-19 (p<0,05). p3 - статистически различия статистически значимые различия 1 и 3 группы больных COVID-19 (p<0,05)

Анализ коэффициента активации нейтрофилов (соотношение $S_{стим}/S_{спонт}$) показал, что его значение увеличивается с ростом тяжести COVID-19: наименьшее значение зафиксировано в группе пациентов с лёгким течением (p_1=0,0025, p_3=0,004), а наибольшее значение – в группе с тяжёлым течением заболевания (p_2=0,03, p_3=0,004). Таким образом, исследование активности нейтрофолов хемилюминесцентным методом выявило наличие различий функции клеток у пациентов с разной степенью тяжести заболевания. Наиболее информативным оказался показатель коэффициент активации (Ка), который может быть использован в качестве прогностического фактора риска тяжелого течения COVID-19.

У пациентов с различной степенью тяжести заболевания были изучены показатели наиболее значимых провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов (IL-1β, TNF-α, ИФНγ, IL-10, IL-18, IL-4) (Таблица 26).

Таблица 26 – Сравнение интерлейкинов в зависимости от степени тяжести заболевания

	Легкая Me [25%; 75%]	Средняя Me [25%; 75%]	Тяжелая Me [25%; 75%]	p
ИЛ-18 сп	68,5 [54,7 ; 81,4]	76,8 [58,6 ; 126,5]	131 [79 ; 228,3]	**0,0369***
Ил-18 инд	71,8 [51,4 ; 97,2]	108,7 [70,9 ; 128,8]	78,4 [11,7 ; 160,5]	0,4655
ФНО сп	12,3 [2,4 ; 222,7]	5,9 [5,3 ; 49,9]	22,2 [5,3 ; 54,6]	0,8882
ФНО инд	569,8 [569,3 ; 570,4]	570,4 [568,8 ; 571]	389,1 [272,7 ; 487,7]	**0,0187 ***
ИЛ-4 сп	0 [0 ; 0,6]	0,5 [0 ; 0,8]	3,4 [2,5 ; 6,1]	**0,0350 ***
ИЛ-4 инд	22,2 [9,3 ; 33,9]	11,9 [7,1 ; 20,8]	8,5 [7,7 ; 12,1]	0,3425
ИЛ-10 сп	6,2 [3,1 ; 17,3]	3,6 [1,8 ; 5,3]	13,2 [4,2 ; 68,5]	0,1056
ИЛ-10 инд	159,3 [84,2 ; 227,1]	100,4 [82,3 ; 150,3]	73,9 [26,5 ; 124,3]	0,1594
ИФНҮ сп	2 [0,2 ; 3,4]	2,2 [1,5 ; 3,4]	8,1 [3,1 ; 22,8]	0,1093
ИФНҮинд	1105 [874 ; 1479]	936,3 [632,1 ; 1406]	263,8 [115,9 ; 378]	**0,0095 ***

Примечание: * - достоверность различий

Анализ, проведенный с помощью коэффициента Спирмена R, позволил выявить достоверную корреляционную зависимость ($p<0,05$) между рядом исследуемых параметров и тяжестью COVID-19 (Таблица 27). Корреляционный анализ показал наличие достоверных связей между тяжестью заболевания и следующими факторами: ИЛ-18 спонтанный – умеренная прямая (R=0,46; p=0,0007); ИЛ-18 индуцированный – умеренная прямая (R=0,34; p=0,0155); αФНО индуцированный – заметная обратная (R=-0,50; p=0,0002); ИЛ-4 спонтанный – высокая прямая (R=0,68;p=0,0000); ИЛ-4 индуцированный – заметная обратная (R=-0,50; p=0,0002); ИЛ-10 индуцированный – слабая обратная (R=-0,28 p=0,0498); ИФНγ спонтанный – умеренная обратная (R=-0,46; p=0,0006); ИФНγ индуцированный – заметная обратная (R=-0,60; p=0,0000).

Таблица 27 – Результаты корреляционного анализа силы связи показателей цитокинов и тяжести заболевания

Пара переменных	Спирмена - R	t(N-2)	p-уровень
1	3	4	5
Тяжесть / ИЛ-18 сп	0,46	3,60	0,0007
Тяжесть / ИЛ-18 инд	0,34	2,51	0,0155
Тяжесть / αФНО инд	-0,50	-4,04	0,0002
Тяжесть / ИЛ-4 сп	0,68	6,57	0,0000
Тяжесть / ИЛ-4 инд	-0,50	-4,09	0,0002
Тяжесть / ИЛ-10 инд	-0,28	-2,01	0,0498
Тяжесть / ИФНγ сп	-0,47	-3,67	0,0006
Тяжесть / ИФНγ инд	-0,60	-5,30	0,0000
ИЛ-18 сп / ИЛ-18 инд	0,93	17,49	0,0000

ИЛ-18 сп / αФНО инд	-0,32	-2,37	0,0220
ИЛ-18 сп / ИЛ-4 сп	0,58	5,03	0,0000
ИЛ-18 сп / ИНФγ сп	-0,33	-2,48	0,0168
ИЛ-18 инд / ИЛ-4 сп	0,44	3,46	0,0011
ИЛ-18 инд / ИФНγ сп	-0,40	-3,06	0,0036
αФНО сп / αФНО инд	0,33	2,48	0,0165
αФНО сп / ИЛ-4 сп	0,28	2,04	0,0466
αФНО сп / ИЛ-10 сп	0,66	6,11	0,0000
αФНО сп / ИЛ-10 инд	0,39	2,94	0,0050
αФНО инд / ИЛ-4 сп	-0,41	-3,14	0,0029
αФНО инд / ИЛ-4 инд	0,37	2,77	0,0080
αФНО инд / ИФНγ сп	0,62	5,55	0,0000
αФНО инд / ИФНγ инд	0,70	6,89	0,0000
ИЛ-4 сп / ИЛ-4 инд	-0,41	-3,12	0,0030
ИЛ-4 сп / ИЛ-10 сп	0,49	3,91	0,0003
ИЛ-4 сп / ИФНγ сп	-0,37	-2,79	0,0076
ИЛ-4 сп / ИФНγ инд	-0,37	-2,81	0,0071
ИЛ-4 инд / ИЛ-10 инд	0,61	5,37	0,0000
ИЛ-4 инд / ИФНγ сп	0,38	2,86	0,0062
ИЛ-4 инд / ИФНγ инд	0,52	4,25	0,0000
ИЛ-10 сп / ИЛ-10 инд	0,45	3,54	0,0009
ИЛ-10 инд / ИФНγ инд	0,46	3,60	0,0007
ИФНγ сп / ИФНγ инд	0,44	3,44	0,0012

Проведено исследование показателей адаптивного иммунитета в зависимости от степени тяжести заболевания (Таблица 28).

Таблица 28 – Сравнительная характеристика показателей адаптивного имунитета в зависимости от степени тяжести

	Легкая Me [25%; 75%]	Средняя Me [25%; 75%]	Тяжелая Me [25%; 75%]	p1	p2	p3
CD16	16,0 [10,0 ; 20,0]	22,0 [17,0 ; 23,0]	24,0 [18,0 ; 30,0]	**0,0186 ***	0,2960	**0,0112 ***
РБТЛ	53,0 [42,0 ; 60,0]	39,0 [35,0 ; 43,0]	8,5 [4,0 ; 13,0]	**0,0254 ***	**0,0000 ***	**0,0000 ***
НФ%	57,3 [45,0 ; 62,0]	59,0 [52,0 ; 66,0]	69,5 [62,0 ; 83,0]	0,2786	0,1205	0,0807
ЛФ%	31,0 [25,0 ; 40,0]	29,0 [24,0 ; 34,0]	15,0 [7,0 ; 33,0]	0,3330	0,0941	**0,0245 ***

Примечание: p1 – достоверность различий 1 и 2 групп; p2 – достоверность различий 2 и 3 группы. p3 – достоверность различий 1 и 3 группы.

При сравнении групп выявлены достоверные различия: для CD16 увеличение показателя с увеличием тяжести заболевания (p_1=0,0186; p_3=0,0112), отмечалось также снижение активности лимфоцитов в РБТЛ с увеличием тяжести заболевания (p_1=0,0254, p_2=0,0000, p_3=0,0000). Выявлено достоверное различие уровня ЛФ% при сравнении групп с лёгкой и тяжёлой степенью тяжести заболевания (p_3=0,0245).

Таким образом, выявлена сильная связь между тяжестью заболевания, объемом поражения легких и такими иммунными показателями как РБТЛ (%), ЛФ (%), СД4(%), СД8(%), СД16(%).

Важным для выработки тактики лечения является прогноз исхода заболевания. Проведен корреляционный анализ силы связи иммунологических показателей и исхода COVID-19 (Таблица 29).

Таблица 29 – Корреляционный анализ силы связи иммунологических показателей и исхода COVID-19

Ранговые корреляции Спирмена ПД попарно удалены Перечисленные корреляции значимы на уровне p <0,005			
Пара переменных	Спирмена - R	t(N-2)	p-уров.
CD4 & CD16	-0,6030	-5,3449	0,0000
CD4 & ИРИ CD4/CD8	0,6374	5,8493	0,0000
CD4 & G	0,3546	2,6816	0,0099
CD4 & РБТЛ %	0,5934	5,2128	0,0000
CD4 & ЛФ%	0,4233	3,3038	0,0018
CD4 & НФ%	-0,4432	-3,4963	0,0010
CD8 & ИРИ CD4/CD8	-0,7368	-7,7066	0,0000
CD8 & ЛФ%	0,5117	4,2117	0,0001
CD19 & A	0,2759	2,0295	0,0477
CD16 & ИРИ CD4/CD8	-0,2922	-2,1608	0,0355
CD16 & РБТЛ %	-0,6117	-5,4679	0,0000
CD16 & ЛФ%	-0,5668	-4,8643	0,0000
CD16 & НФ%	0,4117	3,1942	0,0024
ИРИ CD4/CD8 & Хеми (Max фмлф)	0,3593	2,7227	0,0089
РБТЛ % & G	0,3177	2,3695	0,0217
РБТЛ % & ЛФ%	0,6335	5,7902	0,0000
РБТЛ % & МОН%	0,3995	3,0814	0,0033
РБТЛ % & НФ%	-0,7315	-7,5866	0,0000

ЛФ% & G	0,3192	2,3819	0,0211
ЛФ% & НФ%	-0,7179	-7,2928	0,0000
МОН% & A	0,3822	2,9247	0,0052
МОН% & G	0,3094	2,3004	0,0256
МОН% & НФ%	-0,7674	-8,4635	0,0000
МОН% & ЛФ%	0,3527	2,6653	0,0103
НФ% & M	-0,3147	-2,3440	0,0231
НФ% & G	-0,3490	-2,6330	0,0112
Исход & CD4	-0,3885	-2,9811	0,0044
Исход & CD16	0,5502	4,6589	0,0000
Исход & G	-0,3096	-2,3023	0,0255
Исход & РБТЛ %	-0,6305	-5,7437	0,0000
Исход & ЛФ%	-0,3462	-2,6090	0,0119
Исход & НФ%	0,4559	3,6222	0,0007

На следующем этапе были вычленены показатели с высокой силой связи, с которыми были проведены дальнейшие вычисления. В Таблице 30 приведены результаты корреляционного анализа, позволяющие оценить взаимосвязь анализируемых параметров с кодом группы, а также между собой.

Таблица 30 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи иммунологических показателей с наибольшей силой связи и исхода заболевания

	Спирмена - R	t(N-2)	p-уровень
Исход & CD16	0,550182	4,65888	0,000024
Исход & РБТЛ %	-0,630491	-5,74370	0,000001
Исход & ЛФ%	-0,346154	-2,60897	0,011947
CD16 & РБТЛ %	-0,611717	-5,46786	0,000001
CD16 & ЛФ%	-0,566764	-4,86433	0,000012
РБТЛ % & ЛФ%	0,633548	5,79015	0,000000

Таким образом корреляционный анализ показал наличие достоверных связей между исходом заболевания и следующими факторами: CD16 – заметная прямая (R = 0,5502; p = 0,0000), РБТЛ % – заметная обратная (R = -0,6305; p = 0,0000); лф (%) – умеренная обратная (R = -0,3462; p = 0,0119).

Таким образом, полученные данные взаимосвязи показателей интерлейкинов ИЛ-18сп, ФНО-α инд, ИНФ-γ-инд и тяжестью COVID-19, а также уровня наиболее значимых иммунных показателей СД16, лф%, РБЛТ и

исхода заболевания, могут быть использованы для создания прогностических математических моделей. Это позволяет в более ранние сроки выявить больных с риском тяжелого течения и неблагоприятного исхода COVID-19.

4.2. Роль носительства определенных генетических полиморфизмов некоторых интерлейкинов и Toll-like рецепторов при COVID-19

В настоящее время актуальной задачей является исследование влияния генетических полиморфизмов на риск возникновения COVID-19 и тяжесть его течения. Несмотря на множество исследований, посвященных поиску SNP-маркеров для выявления повышенного риска развития различных заболеваний, публикации данных о связи полиморфных маркеров в генах TLRs с клинической манифестацией и особенностями течения COVID-19 редки и охватывают преимущественно зарубежную популяцию.

В данном исследовании был проведен анализ частоты встречаемости полиморфных вариантов генов TLR3 (rs3775291) и TLR9 (rs352140) у больных COVID-19 в сравнении со здоровыми лицами, в анамнезе которых не было перенесенного заболевания COVID-19 (отрицательные результаты специфического Ig G и ПЦР мазка из носо-ротоглотки на SARS-CoV-2). Данные представлены в Таблице 33.

Было продемонстрировано, что у больных COVID-19 наблюдалось достоверное повышение частоты носительства генотипа CT и снижение частоты носительства генотипа TT полиморфизма TLR3 (rs3775291) по сравнению со здоровыми людьми (Таблица 31).

Таблица 31 - Распределение полиморфных вариантов генов TLR3 (rs3775291) и TLR9 (rs352140) у больных COVID-19 и здоровых людей.

Полиморфизм	Генотип	Пациенты с COVID-19 n(%)	Контрольная группа, n(%)	ОШ (95%ДИ)	P
TLR3 (rs3775291)	CC	77 **(47,0)**	22 **(55,0)**	1,345(0,445-3,245)	0,15
	CT	71 **(43,3)**	11 **(27,5)**	2,54 (0,562-18,73)	**0,043**

	TT	16 **(9,7)**	7 **(17,5)**	7,352 (0,652-2,635)	**0,035**
TLR9 (rs352140)	CC	33 **(20,1)**	13 **(32,5)**	0,489 (0,165-1,562)	**0,04**
	CT	106 **(64,6)**	22 **(55,0)**	1,052 (0,356-2,756)	**0,046**
	TT	25 **(15,2)**	5 **(12,5)**	2,698 (0,498-20,165)	0,26

Примечание: p – достоверность различий между больных COVID-19 и контрольной группы (p<0,05).

Следовательно, можно предположить, что обнаруженная в нашем исследовании увеличенная частота генотипа CT и сниженная частота генотипа TT аллелей rs3775291 у пациентов с COVID-19 могут оказывать значительное влияние на восприимчивость к SARS-CoV-2.

Изучение распространенности TLR9 (rs352140) среди пациентов с COVID-19, по данным нашего исследования, показало, что генотип CT у них встречается чаще, чем у здоровых людей. Это может указывать на его возможное влияние на повышенную восприимчивость к инфекции вирусом SARS-CoV-2 и клиническую манифестацию заболевания.

Проведен сравнительный анализ по частоте встречаемости различных генотипов TLR3 (rs3775291) и TLR9 (rs352140) у больных COVID-19 со средней степенью тяжести и тяжелым течением инфекции (Таблица 32).

Таблица 32 - Распределение полиморфных вариантов генов TLR3 (rs3775291) и TLR9 (rs352140) у больных COVID-19 со средней степенью тяжести и тяжелым течением заболевания.

Полиморфизм	Генотип	Группы наблюдения		
		2 группа (n = 39) абс. (%)	3 группа (n = 40) абс. (%)	Достоверность различий, p
TLR3 (rs3775291)	CC	21 (53,8)	17(42,5)	0,38
	CT	14 (35,9)	20(50)	**0,048**
	TT	4 (10,3)	3 (7,5)	**0,045**
TLR9 (rs352140)	CC	8(20,5)	7 (17,5)	0,18
	CT	22 (56,4)	30 (75)	**0,032**
	TT	9 (23,1)	3 (7,5)	**0,01**

Сравнительный анализ в группах наблюдения выявил достоверные различия встречаемости генотипов CT и TT генов TLR3 и TLR9 у пациентов со средней и тяжелой степенью тяжести заболевания. У пациентов с тяжелым течением COVID-19 преобладал генотип CT полиморфизма TLR3 (rs3775291) по сравнению с больными средней степени тяжести (p=0,048), а генотип TT встречался у этих больных достоверно реже (p=0,045). Полученные данные могут быть использованы при оценке риска тяжелого течения COVID-19. Анализ между группами пациентов по частоте встречаемости генотипов TLR9 (rs352140) выявил, что генотип CT у больных с тяжелым и крайне-тяжелым состоянием встречался достоверно чаще по сравнению с группами больных со средней степенью тяжести (p=0,032). Напротив, генотип TT TLR9 (rs352140) у больных с тяжелым и крайне-тяжелым состоянием встречался достоверно реже по сравнению с группой больных со средней степенью тяжести (p=0,01).

Проведено сравнительное исследование между больными COVID-19 и здоровыми людьми по носительству генетических полиморфизмов ряда интерлейкинов: ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-17, ИЛ-1β, TNF-α (Таблица 33).

Таблица 33 - Распределение полиморфных вариантов генов IL-4, IL-10, IL-17A, IL-1β, TNF-α у больных COVID-19 и лиц контрольной группы

Полиморфизмы	**Генотип**	**Частота встречаемости**				**COVID-19 и контрольная группа**	
		Контрольная группа (n=72)		**COVID-19 (n=142)**		**OR**	**Критерий различий при df=1, χ^2 (p)**
		n	%	n	%		
IL-4 (C-589T)	CC	32	44,4	86	60,6	1,248 (0,449-3,465)	0,061
	CT	37	51,4	48	33,8	0,487 (0,159-1,480)	**0,045***
	TT	3	4,2	8	5,6	2,667 (0,467-19,737)	0,306
IL-10 (G-1082A)	GG	25	34,7	18	12,7	1,088 (0,388-3,039)	0,076
	GA	43	59,7	76	53,5	0,773 (0,273-2,185)	0,636

	AA	4	5,6	48	33,8	1,027 (0,374-2,830)	**0,002***
IL-17A (G-197A)	GG	34	47,2	56	39,4	2,492 (0,176-1,362)	0,065
	GA	35	48,6	66	46,5	1,265 (0,672-3,755)	1,000
	AA	3	4,2	20	14,1	1,250 (0,863-2,532)	**0,037***
IL-1β (T-31C)	TT	24	33,3	61	42,9	2,564 (1,489-5,325)	0,646
	TC	26	36,1	65	45,8	0,487 (0,159-1,480)	0,198
	CC	22	30,6	16	11,3	2,532 (0,662-4,657)	**0,015***
TNF-α (G308A)	GG	40	55,6	118	83,1	1,789 (0,892-4,776)	0,075
	GA	23	31,9	23	16,2	0,561 (0,172-1,987)	**0,048***
	AA	9	12,5	1	0,7	0,652 (0,436-1,756)	**0,031***

Примечание: * – статистически различие показателей в группе больных COVID-19 и контрольной группе ($p < 0,05$; p - критерий различий при df=1, $\chi 2$).

При изучении полиморфизма гена IL-4 (C-589T) было выявлено, что самым широко встречаемым полиморфизмом у больных COVID-19 был генотип -589 C/C (60,6 %), который преобладал по сравнению со здоровыми людьми (44,4%), однако достоверных различий с контрольной группой не получено. Выявлено достоверное уменьшение носительства генотипа C/T полиморфизма (C-5895) IL-4 у больных COVID-19 по сравнению со здоровыми людьми (p=0,045; OR=0,487).

При анализе носительства полиморфизма гена IL-10 G-1082A было установлено, что наиболее часто среди больных COVID-19 встречался генотип -1082G/A (53,5%). Однако частота встречаемости данного генотипа была практически сопоставима с контрольной группой (59,7%). Достоверные результаты были получены по генотипу -1082A/A гена IL-10. Так, в группе больных COVID-19 он регистрировался в 6 раз чаще по сравнению с группой здоровых лиц (p=0,002; OR=1,027).

По результатам изучения полиморфизм IL-17(G-197A) было получено следующее распределение генотипов: наиболее часто в группе пациентов с COVID-19 встречался генотип -197G/A (46,5%), который был отмечен с такой

же частотой, как и в группе здоровых лиц (48,6%). Кроме того, при изучении генотипа -197G/G гена IL-17 не было выявлено достоверных различий по встречаемости у больных COVID-19 по сравнению с контрольной группой. Достоверные различия были получены при изучении генотипа -197A/A гена IL-17: его встречаемость была достоверно выше (в 3,3 раза) у больных COVID-19 по сравнению со здоровыми людьми (p=0,037; OR=1,250).

При изучении носительства полиморфизма (T-31C) гена IL-1β по генотипам T/T, который встречался у больных COVID-19 в 42,9 % случаев и T/C (45,8 %) достоверных различий с контрольной группой не было выявлено. Вместе с тем, были установлены достоверные различия по встречаемости генотипа -31C/C гена IL-1β: так, в группе пациентов с COVID-19 данный генотип встречался достоверно реже (в 3 раза) по сравнению с контрольной группой (p=0,015; OR=2,532).

Анализ носительства полиморфизма гена TNF-α G-308A показал, что наиболее часто встречающимся у больных с COVID-19 был генотип -308 G/G (83,1 %) и он встречался чаще в сравнении с контрольной группой (55,6%), однако различия не были достоверными. Генотип -308 G/A встречался достоверно (в 2 раза) реже в группе пациентов COVID-19 по сравнению со здоровыми лицами (p=0,048; OR=0,561). Носительство генотипа -308 A/A также было достоверно более редким у больных с COVID-19 (p=0,031; OR=3,652).

Таким образом, среди изученных полиморфных вариантов генов цитокинов наиболее значимыми предикторами ассоциации с повышенным риском развития COVID-19 явились: генотип -589C/T гена IL-4, генотип -1082A/A гена IL-10, генотип -197A/A гена IL-17. Напротив, предикторами пониженного риска развития COVID-19 явились: генотип -31C/C гена IL-1β, генотипы -308 G/A и -308 A/A гена TNF-α. Таким образом, анализ полиморфизма генов наиболее значимых цитокинов, таких как IL-4, IL-10, IL-17A, IL-1β, TNF-α дает возможность оценить генетическую предрасположенность пациентов к повышенному риску заболевания COVID-

19, в связи с чем, является важным не только для понимания иммуногенетики, но и для выявления рисков заболевания.

Проведено изучение распределения полиморфных вариантов генов IL-4, IL-10, IL-17A, IL-1β, TNF-α, INF-γ, IFNL3, INFL4, INF a/b –receptor, IL-6, IL-2 у больных COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания (Таблица 34).

Таблица 34 - Распределение полиморфных вариантов генов IL-4 (C-589T), IL-10 (G-1082A), IL-17A (G-197A), IL-1β (T-31C), TNF-α (G308A), INF-γ (rs2430561), IFNL3 (rs12979860), INFL4 (rs368234815), INF a/b –receptor (rs9984273), IL-6 (rs180795), IL-2 (T330G) у больных COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания.

Параметры	**Варианты**	**1 группа**		**2 группа**		**3 группа**		p_1	p_2	p_3
		абс	%	**абс**	%	**абс**	%			
ИЛ4 (C589T)	CC	38	60,3	25	64,1	23	57,5	0,674	0,646	0,838
	CT	21	33,3	12	30,8	14	35,0	0,830	0,811	1,000
	TT	4	6,3	2	5,1	3	7,5	1,000	1,000	1,000
ИЛ10 (G1082A)	AA	25	39,7	7	17,9	13	32,5	**0,028**	0,196	0,532
	GA	30	47,6	25	64,1	21	52,5	0,152	0,363	0,688
	GG	8	12,7	7	17,9	6	15,0	0,567	0,769	0,773
ИЛ1β (T31C)	CC	7	11,1	4	10,3	5	12,5	1,000	1,000	1,000
	TC	31	49,2	19	48,7	15	37,5	1,000	0,367	0,310
	TT	25	39,7	16	41,0	20	50,0	1,000	0,500	0,316
ФНОα (G308A)	AA	0	0,0	1	2,6	0	0,0	0,382	0,493	-
	GA	11	17,5	6	15,4	6	15,0	1,000	1,000	0,792
	GG (GGG)	52	82,5	32	82,1	34	85,0	1,000	0,769	0,792
ИЛ17 (G197A)	AA	5	7,9	7	17,9	5	12,8	0,204	0,754	0,500
	GA	30	47,6	22	56,4	14	35,9	0,420	0,111	0,305
	GG	28	44,4	10	25,6	20	51,3	0,062	**0,0354**	0,5446
IL-2 (T330G)	***T/T***	38	44,1	22	47,8	22	55,0	0,071	0,102	0,23
	T/G	34	39,5	21	45,6	13	32,5	0,68	0,069	**0,05**
	G/G	14	16,4	3	6,6	5	12,5	**0,05**	0,052	0,08
IL-6 (rs180795)	***C/C***	18	20,9	9	19,6	10	25,0	0,13	0,15	0,54
	C/G	41	47,7	22	47,8	21	52,5	0,160	0,11	0,123
	G/G	27	31,4	15	32,6	9	22,5	0,157	0,08	0,07
INF a/b – receptor (rs9984273)	***C/C***	5	5,9	5	10,8	4	10,0	0,07	0,34	0,68
	C/T	13	15,1	4	8,7	8	20,0	**0,05**	0,06	0,142
	T/T	68	79,0	38	82,6	28	70,0	0,166	0,87	0,174

INFL4 (rs368234815)	***T/T***	4	4,6	**3**	6,5	4	10,0	0,132	0,49	0,09
	T/TT	78	90,8	40	87,0	35	87,5	0,112	0,69	0,49
	TT/TT	4	4,6	3	6,5	1	2,5	0,116	0,135	0,31
IFNL3 (rs12979860)	***C/C***	46	53,5	21	45,6	12	30,0	0,009	0,062	0,074
	C/T	31	36,1	19	41,3	18	45,0	0,122	0,36	0,159
	T/T	9	10,4	6	13,1	10	25,0	0,231	0,173	**0,05**
INF-γ (rs2430561)	***A/A***	24	27,9	7	15,2	6	15,0	0,06	0,120	**0,045**
	A/T	28	32,5	18	39,2	16	40,0	0,72	0,169	0,134
	T/T	34	49,5	21	45,6	18	45,0	0,09	0,291	0,192

Примечание. p_1 – достоверность различий 1 и 2 группы больных COVID-19; p_2 - достоверность различий 2 и 3 группы больных COVID-19; p_3 – достоверность различий 1 и 3 группы больных COVID-19.

Проведенный анализ выявил достоверные различия между пациентами 2 и 3 групп в отношении носительства гомозиготного полиморфизма GG ИЛ17 (G197A), который встречался чаще у пациентов с тяжелым течением заболевания. Генотип АА полимофризма ИЛ-10 (G1082A) и генотип GG полиморфизма IL-2 (T330G) достоверно чаще встречались у пациентов с легкой степенью тяжести по сравнению с пациентами средней тяжести заболевания (p=0,028 и p=0,05 соответственно). В группе пациентов с легкой по сравнению со средней степенью тяжести заболевания по полиморфизмам IL-2 (T330G), IL-6 (rs180795), INFL4 (rs368234815), INFL3 (rs12979860), INF-γ (rs2430561) не было выявлено статистически значимых различий. Однако по полиморфизму INF a/b receptor (rs9984273) было выявлено достоверное повышение встречаемости генотипа C/T в 1,7 раза у больных с легкой степенью по сравнению с пациентами со средней степенью тяжести (p=0,05; OR=2,05).

Сравнительный анализ изучаемых полиморфизмов IL-2 (T330G), IL-6 (rs180795), INF a/b receptor (rs9984273), INFL4 (rs368234815), INFL3 (rs12979860), INF-γ (rs2430561) между группой со средней степенью тяжести и группой с тяжелым и крайне тяжелым течением заболевания по частоте встречаемости генотипов не выявил достоверно значимых различий. Однако, при сравнении группы с легким течением заболевания по сравнению с группой с тяжелым течением по генотипу T/G полиморфизма IL-2 (T330G), было

выявлено достоверное повышение частоты его встречаемости (p=0,05; OR=0,71). Дальнейшие исследования полиморфизмов IL-6 (rs180795) и INFL4 (rs368234815) не выявили статистически значимых различий в изучаемых группах. Однако частота встречаемости генотипа T/T полиморфизма INFL3 (rs12979860) у пациентов с легкой степенью тяжести была достоверно ниже по сравнению с пациентами с тяжелым течением (p=0,05; OR=2,65). Вместе с тем, были получены достоверные отличия в данных группах по генотипу A/A полиморфизма INF-γ (rs2430561), который достоверно в 1,9 раза встречался чаще в группе с легким течением заболевания по сравнению с пациентами с тяжелым течением COVID-19 (p=0,045; OR=2,97).

Таким образом, при исследовании генетических полиморфизмов интерлейкинов только для полиморфизма IL-17 (G197A) достоверно определяется высокая частота гомозиготного генотипа GG ($p<0,05$) у пациентов с тяжелым течением заболевания по сравнению со средней степенью тяжести. Однако обнаружены достоверные различия между легкой и среденетяжелой степенью тяжести COVID-19 по генотипу AA полиморфизма ИЛ10 (G1082A) (p=0,028) и между легкой и тяжелой по генотипу T/G полиморфизма ИЛ-2 (T339G) (p=0,05), генотипу T/T полиморфизма IFNL3 (rs12979860) (p=0,05) и по генотипу A/A полиморфизма INF-γ (rs2430561) (p=0,045). Сравнительный анализ генетических полиморфизмов Toll-like рецепторов у пациентов с COVID-19 в зависимости от степени тяжести выявил достоверно ($p<0,05$) более высокую частоту встречаемости генотипа CT и наиболее низкую частоту встречаемости генотипа TT полиморфизма TLR9 (rs352140) и полиморфизма TLR3 (rs3775291) у больных с тяжелым течением заболевания, что может играть роль в развитии осложнений и неблагоприятных исходов. Полученные данные могут быть использованы при оценке риска тяжелого течения COVID-19 и выработки оптимального алгоритма лечения.

ГЛАВА 5. Математическое моделирование прогноза тяжести течения и исходов COVID-19

5.1. Разработка модели прогнозирования степени тяжести COVID-19

На основании изучения показателей цитокинов разработана модель прогнозирования степени тяжести COVID-19.

Математическая модель, которая позволяет прогнозировать степень тяжести у больных COVID-19, была построена с помощью статистической обработки данных в результате многофакторного анализа. Для решения поставленной задачи первым этапом многофакторного анализа стала оценка корреляционной связи независимых факторов-предикторов с развитием той или иной степени тяжести у больных COVID-19. Для построения модели степени тяжести заболевания параметр, обозначающий принадлежность пациента к той или иной группе, условно был закодирован: пациенты с легкой степенью тяжести получили код «1», средней - «2», тяжелой - «3».

В дальнейшем были вычленены показатели с высокой достоверностью, с которыми были проведены дальнейшие вычисления. Установлено, что показатели цитокинов – ИЛ-4 спонтанного, ИФНγ индуцированного, αФНО индуцированного, ИЛ-18 спонтанного являются высоко значимыми критериями для прогнозирования степени тяжести COVID-19.

Следующим этапом стало построение непосредственно модели для дифференциации больных по степеням тяжести методом пошагового регрессионного анализа. Коэффициенты модели (B) для факторов, включенных в модель, и их значимость даны в Таблице 35.

В таблице 35 также приводятся оценки качества модели:

– коэффициент детерминации (R2=0,53), определяющий ее информационную значимость;

– значение F-критерия (F(4,46)=13,02 и уровень значимости модели ($p<0,0000$), определяющие статистическую значимость модели.

Таблица 35 – Результаты регрессионного анализа

Итоги Гребневой регрессии для зависимой переменной: Тяжесть
l=0,10 R=0,72874364 R2=0,53106730 Скоррект. R2=0,49029054
F (4, 46) = 13,024 p<0,00000
Станд. ошибка оценки: 0,56834

	БЕТА	Стандартная ош. - БЕТА	B	Ст.Ош. – B	t(46)	p-значение
Св.член			2,0257	0,2553	7,9356	0,0000
ИЛ-4 сп.	0,4770	0,1298	0,1534	0,0418	3,6745	0,0006
ИФНγ инд.	-0,3124	0,1080	-0,0005	0,0002	-2,8940	0,0058
αФНО инд.	-0,1088	0,0996	-0,0005	0,0004	-1,0919	0,2806
ИЛ-18 сп.	0,0391	0,1295	0,0005	0,0016	0,3018	0,7641

Степень влияния независимых факторов на степень тяжести заболевания (Таблица 36) рассчитывался, исходя из величины стандартизированных коэффициентов регрессии BETA (по результатам регрессионного анализа) с помощью формулы:

$$K_j = \frac{100 \times BETA_j}{\sum_j \left| BETA_j \right|} \times R^2, в\%$$

Таблица 36 – Степень влияния факторов на критерий риска

Фактор	BETA	Степень влияния , %
ИЛ-4 сп	0,4770	27,02
ИФНγ инд	-0,3124	17,70
αФНО сп	-0,1088	6,16
ИЛ-18 сп	0,0391	2,21

Таким образом, наибольшее влияние на прогноз степени тяжести заболевания оказывает значение ИЛ-4 спонтанного (27,02 %), меньше - значение ИФНγ индуцированного (17,70 %) и значительно меньший вклад

вносят показатели αФНО индуцированного (6,16 %) и ИЛ-18 спонтанного (2,21 %), прочие показатели не вносили вклада в модель, в связи с этим были исключены.

Модель для диагностики степени тяжести заболевания имеет вид:

$$y = 0{,}1534 * x_1 - 0{,}0005 * x_2 - 0{,}0005 * x_3 + 0{,}0005 * x_4 + 2{,}0257 ,$$

где у – где у – код группы (степень тяжести, 1– легкая; 2 – средняя; 3 – тяжелая), x_1 – ИЛ-4 спонтанный, x_2 – ИФНγ индуцированный, x_3 – αФНО индуцированный, x_4 – ИЛ-18 спонтанный.

В Таблице 37 приведены данные дисперсионного анализа полученной регрессионной модели и оценки ее информативности. Вклад факторов, включенных в модель (Регресс. = 16,83), составляет 53,11% от общей суммы квадратичных отклонений параметра у, а часть вклада (46,89%) вносят неучтенные (случайные) факторы (Остатки = 14,86), что свидетельствует о заметной информационной способности модели. По величине F-критерия, F = 13,02 с уровнем значимости p<0,00000 модель можно считать значимой и достоверной.

Таблица 37 – Результаты дисперсионного анализа

	Сумма квадратов	Степень свободы	Среднее квадратичное	F	p-уровень
Регресс.	16,83	4,00	4,21	13,02	0,0000
Остатки	14,86	46,00	0,32		
Итого	31,69				

Полученная модель дифференциации пациентов по прогнозируемой степени тяжести позволяет путем подстановки в указанную формулу значений показателей факторов получить критерий прогнозирования степени тяжести заболевания.

При значении: у = 0-1,5 заболевание у пациента будет иметь наиболее вероятную степень тяжести «легкая», у = 1,5-2,5 – наиболее вероятная степень тяжести «средняя», у = 2,5 и выше – наиболее вероятная степень тяжести «тяжелая».

Модель дифференциации пациентов по степени тяжести заболевания имеет информационную значимость (коэффициент детерминации R2=0,531) и статистическую ценность (F (4,46) = 13,02 p<0,0000).

В данной модели p-значение меньше 0,00000, что существенно меньше обычного уровня значимости 0,05. Это указывает на то, что регрессионная модель в целом статистически значима.

Способ является простым, точным, недорогим методом диагностики. Построенная математическая модель с высокой степенью достоверности может осуществлять прогноз степени тяжести у пациентов COVID-19.

Для подтверждения этой гипотезы мы провели обследование 51 пациента с различными степенями тяжести COVID-19 в ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» (Россия). Правильный диагноз был установлен в 96 % случаев.

Реализация предложенного способа доказывается следующими примерами.

Пациент №1 (легкая степень тяжести COVID-19).

Пациентка Т., 69 лет. Жалобы при поступлении: слабость, сухой надсадный кашель, снижение аппетита. Болеет 11 дней, когда появились вышеуказанные жалобы. Принимала парацетамол, ципрофлоксацин. Состояние легкой степени тяжести. Рост 164 см, вес 73 кг., ИМТ 27,14 кг/м^2. Кожный покров обычной окраски. Аускультация легких: дыхание ослабленное, хрипов нет, ЧДД 18 в мин, сатурация 98%. Тоны сердца: ясные, ритмичные, шумов и перебоев нет. АД 123/78 мм рт ст, ЧСС 75 уд/мин. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень, селезенка не увеличены. Мочеиспускание свободное, безболезненное. Менингеальных знаков нет. Неврологическая и очаговая симптоматика отсутствует. Сопутствующий диагноз: ИБС, гипертоническая болезнь 2 степени, риск 2 (получает эналаприл 5 мг).

Компьютерная томография органов грудной клетки (КТ) – двусторонние интерстициальные изменения, объем поражения КТ-1 (12%).

Общий анализ крови – нормальное количество лейкоцитов, тромбоцитопения ($125x10^9$л). Мазок из зева и носа методом ПЦР на SARS-CoV-2 – положительный.

Лечение. Режим домашний. Противовирусная терапия – фавипиравир по 1800 мг 2 раза в первый день, со второго дня – по 800 мг 2 раза в день. Антикоагулянтная терапия – ривораксабан 20 мг 1 раз в день.

Основной диагноз: Коронавирусная инфекция COVID-19, лабораторно подтвержденная методом ПЦР, легкая степень тяжести. Осложнение: двусторонняя полисегментарная пневмония (КТ-1) без дыхательной недостаточности. Сопутствующий диагноз: ИБС. Гипертоническая болезнь 2 степени, риск 2.

Проведено обследование пациентки Т. По предложенному способу, в результате которого были получены следующие показатели: ИЛ-4 спонтанный – 0 пг/мл, ИФНγ индуцированный – 1454,0 пг/мл, αФНО индуцированный – 623 пг/мл, ИЛ-18 спонтанный – 37,9 пг/мл.

$$y = 0{,}1534 * 0 - 0{,}0005 * 1454{,}0 - 0{,}0005 * 623 + 0{,}0005 * 37{,}9 + 2{,}0257 = 0{,}958$$

Так как значение у в диапазоне от 0 до 1,5, то наиболее вероятная степень тяжести «легкая», что и было подтверждено.

Пациент №2 (средняя степень тяжести COVID-19).

Пациентка Н., 59 лет. Жалобы при поступлении: слабость, сухость во рту, головные боли, нарушение сна, повышение температуры тела, потливость, разжиженный стул. Болеет более 20 дней, когда появились вышеуказанные жалобы. Принимала парацетамол, азитромицин, терафлю, положительного эффекта от лечения не было. Состояние средней степени тяжести. Рост 172 см, вес 67 кг., ИМТ 22,65 кг/м^2. Кожный покров бледной окраски. Аускультация легких: дыхание ослабленное, в нижних отделах, ЧДД 20 в мин, сатурация 94%. Тоны сердца: ясные, ритмичные, шумов и перебоев нет. АД 145/82 мм рт ст, ЧСС 82 уд/мин. Живот при пальпации мягкий,

безболезненный. Печень, селезенка не увеличены. Мочеиспускание свободное, безболезненное. Менингеальных знаков нет. Неврологическая и очаговая симптоматика отсутствует. Сопутствующий диагноз: тиреоидит.

Компьютерная томография органов грудной клетки (КТ) – двусторонние интерстициальные изменения, объем поражения КТ-2 (44%). Общий анализ крови – лейкопения (2,26х10^{9}/л), тромбоцитопения (89х10^{9}/л). Мазок из зева и носа методом ПЦР на Sars-CoV-2 – положительный.

Лечение. Режим палатный. Противовирусная терапия — гидроксихлорохин 400 мг в первый день, далее 200 мг в сутки (100 мг 2 раза в день), в течении 6 дней. Антикоагулянтная терапия – апиксабан 2,5 мг 2 раза в день.

Основной диагноз: Коронавирусная инфекция COVID-19, лабораторно подтвержденная методом ПЦР, средней степени тяжести. Осложнение: двусторонняя полисегментарная пневмония (КТ-2) без дыхательной недостаточности. Сопутствующий диагноз: тиреоидит.

Проведено обследование пациентки Н. по предложенному способу, в результате которого были получены следующие показатели: ИЛ-4 спонтанный – 0 пг/мл, ИФНγ индуцированный – 340,5 пг/мл, αФНО индуцированный – 423 пг/мл, ИЛ-18 спонтанный – 56,4 пг/мл.

$$y = 0{,}1534 * 0 - 0{,}0005 * 340{,}5 - 0{,}0005 * 423 + 0{,}0005 * 56{,}4 + 2{,}0257 = 1{,}616$$

Так как значение у в диапазоне от 1,5 до 2,5, то наиболее вероятная степень тяжести «средняя», что и было подтверждено.

Пациент №3 (тяжелая степень тяжести COVID-19).

Пациентка Д., 59 лет. Жалобы при поступлении: повышение температуры тела, слабость, сухой кашель, одышку, боль в горле. Заболела 7 дней назад, когда повысилась температура до 38,5, появилась выраженная слабость, боль в горле. Лечилась аспирином, мукалтином. За медицинской помощью не обращалась. Температура тела также сохранялась на фебрильных

цифрах, нарастала слабость и одышка. Состояние при поступлении тяжелое. Рост 158 см, вес 78 кг., ИМТ 31,24 кг/м^2. Кожный покров бледной окраски. Аускультация легких: дыхание ослабленное, ЧДД 25 в мин, сатурация 75% без подачи увлажненного кислорода. Тоны сердца: ясные, ритмичные, шумов и перебоев нет. АД 90/50 мм рт ст, ЧСС 112 уд/мин. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень +2 см из-под края реберной дуги, селезенка не увеличена. Мочеиспускание свободное, безболезненное. Менингеальных знаков нет. Неврологическая и очаговая симптоматика отсутствует. Сопутствующий диагноз: сахарный диабет II типа, ИБС, гипертоническая болезнь 3 ст, риск 4. ХИМ 1 степени. Хронический пиелонефрит, нестойкая ремиссия.

Компьютерная томография органов грудной клетки (КТ) – двусторонние интерстициальные изменения, объем поражения КТ-3 (70%). Общий анализ крови – лейкоцитоз (16,65х10^{9}л), тромбоцитопения (22х10^{9}л). Мазок из зева и носа методом ПЦР на SARS-CoV-2 – положительный.

Лечение. Режим ОРИТ. Противовирусная терапия – ремдесивир по 200 мг в/в капельно в первый день, со второго дня по 100 мг 1 раз в день. Антикоагулянтная терапия – гепарин по 5000 ЕД 4 раза в день. Патогенетическая терапия – актемра 400 мг в/в капельно однократно. Антибактериальная терапия – цефтриаксон по 1 г 2 раза в день, левофлоксацин по 1 г 1 раз в день в/в капельно. Противовоспалительная терапия – метилпреднизолон 250 мг в/в капельно. Ингибиторы протонной помпы – омепразол 20 мг 1 раз в день.

Основной диагноз: Коронавирусная инфекция, лабораторно подтвержденная методом ПЦР, тяжелой степени тяжести. Осложнение: Двусторонняя полисегментарная пневмония (КТ-3), дыхательная недостаточность 2 степени. Сопутствующий диагноз: сахарный диабет II типа, ИБС, гипертоническая болезнь 3 ст, риск 4. ХИМ 1 степени. Хронический пиелонефрит, нестойкая ремиссия.

Проведено обследование пациентки Д. по предложенному способу, в результате которого были получены следующие показатели: ИЛ-4 спонтанный – 31,2 пг/мл, ИФНγ индуцированный – 0 пг/мл, αФНО индуцированный – 119 пг/мл, ИЛ-18 спонтанный – 262,9 пг/мл.

$y = 0{,}1534 * 31{,}2 - 0{,}0005 * 0 - 0{,}0005 * 119 + 0{,}0005 * 262{,}9 + 2{,}0257 = 6{,}0853$

Так как значение у более 2,5, то наиболее вероятная степень тяжести «тяжелая», что и было подтверждено.

Таким образом, предложенный способ объективен, достоверен и может быть использован для прогноза степени тяжести COVID - 19.

При использовании предложенного метода диагностики удается достичь:

-определения степени тяжести заболевания у пациентов при COVID - 19 при помощи математических вычислений даже тогда, когда диагностика другими инструментальными и лабораторными методами затруднительна;

-возможности рационально выстроить маршрут больного по степени тяжести в реанимационное отделение для начала интенсивной терапии;

-уменьшения экономических затрат, исключая дорогостоящее компьютерное обследование в динамике,

- своевременноой корректировке лечебно-диагностические мероприятий.

-своевременного определения степени тяжести заболевания пациентов с COVID-19, что будет способствовать повышению эффективности лечения.

5.2. Разработка модели прогнозирования исходов COVID-19

На основании изучения иммунологических показателей была разработана модель прогнозирования исходов COVID-19 методом пошагового регрессионного анализа. Коэффициенты модели (B) для факторов, включенных в модель, и их значимость даны в Таблице 38.

В Таблице 38 также приводятся оценки качества модели:

– коэффициент детерминации (R2=0,4180), определяющий ее информационную значимость; значение F-критерия (F(3,48) = 11,490) и уровень значимости модели (p<0,000009), определяющие статистическую значимость модели.

Таблица 38 – Результаты регрессионного анализа

Итоги Гребневой регрессии для зависимой переменной: Исход l=0,10000 R= 0,64650583 R2= 0,4180 Скоррект. R2 0,38159290 F(3,48)=11,490 p<0,00001						
	БЕТА	Стандартная ошибка - БЕТА	B	Стандартная ошибка - B	t(48)	p-значение
Св.член			0,1741	0,22	0,78	0,44
РБТЛ %	-0,47	0,13	-0,0096	0,00	-3,58	0,00
CD16	0,28	0,13	0,0128	0,01	2,11	0,04
ЛФ(%)	0,14	0,12	0,0047	0,00	1,17	0,25

Степень влияния независимых факторов на исход заболевания (Таблица 39) рассчитывался, исходя из величины стандартизированных коэффициентов регрессии BETA (по результатам регрессионного анализа) с помощью формулы:

$$K_j = \frac{100 \times BETA_j}{\sum_j \left| BETA_j \right|} \times R^2, в\%$$

Таблица 39 – Степень влияния факторов на критерий риска

Фактор	BETA	Степень влияния K_j, %
РБТЛ %	-0,4694	21,89
CD16	0,2844	13,26
ЛФ(%)	0,1427	6,65

Таким образом, наибольшее влияние на прогноз исхода заболевания оказывает фактор РБТЛ (21,89%), меньше - CD16 (13,26%) и лф(%), 6,65%).

Модель для диагностики исходов заболевания имеет вид:

$$y = -0{,}0096 * x_1 + 0{,}0128 * x_2 + 0{,}004652 * x_3 + 0{,}1741$$

где y – код группы (исход заболевания: 0 – выздоровление, 1 – смерть), x_1 – РБТЛ, x_2 – CD16, x_3 – лф %.

В Таблице 40 приведены данные дисперсионного анализа полученной регрессионной модели и оценки ее информативности. Вклад факторов,

включенных в модель (Регресс. = 4,28), составляет 41,80 % от общей суммы квадратичных отклонений параметра у, а часть вклада (58,20%) вносят неучтенные (случайные) факторы (Остатки = 5,95), что свидетельствует о степени информационной способности модели. По величине F-критерия, F = 11,49 с уровнем значимости p=0,000009 модель можно считать значимой с высокой степенью достоверности.

Таблица 40 – Результаты дисперсионного анализа

	Сумма квадратов	Степень свободы	Среднее квадратичное	F	p-уровень
Регресс.	4,28	3	1,43	11,49	0,000009
Остатки	5,95	48	0,12		
Итого	10,23				

Модель дифференциации пациентов по исходу заболевания имеет информационную значимость (коэффициент детерминации R2=0,4180) и статистическую ценность (F(3,48) = 11,49 p=0,000009).

В данной модели p-значение равно 0,000009, что существенно меньше обычного уровня значимости 0,05. Это указывает на то, что регрессионная модель в целом статистически значима. Полученная модель дифференциации пациентов по прогнозируемому исходу позволяет путем подстановки в указанную формулу значений показателей факторов получить критерий принадлежности к группе вероятного исхода.

При значении: у = 0-0,5 заболевание у пациента будет иметь наиболее вероятный исход «выздоровление», у = 0,5 и выше – будет более вероятен летальный исход.

Для подтверждения этой гипотезы мы провели обследование 52 пациентов с различными исходами COVID – 19 в ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи». Правильный диагноз был установлен в 95 % случаев.

Лечение COVID-19 было проведено в соответствии с Временными методическими рекомендациями «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19), Версия 17 от 14.12.22 [16].

Реализация предложенного способа доказывается следующими примерами.

Пример 1 (летальный исход)

Пациентка Н., 54 года. Поступила в боксированное отделение ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» с жалобами на одышку, слабость, сухой кашель. Болеет 10 дней, за медицинской помощью не обращалась, занималась самолечением. Состояние средней тяжести. Обследование показало: Рост 158 см, вес 65 кг, ИМТ 26,04 кг/м ^{2}; кожные покровы бледные, чистые. Аускультация легких: дыхание ослабленное, проводится во все отделы, единичные сухие хрипы в нижних отделах легких, ЧДД 28 в минуту, сатурация 85% на атмосферном воздухе, на инсуффляции увлажненного кислорода на скорости 20% - сатурация 97%. Тоны сердца: приглушенные, ритм ослаблен, систолический шум, АД 100/70 мм рт. ст., ЧСС 99 уд/мин. Живот при пальпации мягкий, безболезненный во всех отделах, печень выступает за края реберной дуги на 1 см. Мочеиспускание затруднено, имеется дизурия. Очаговой неврологической симптоматики нет, органы чувств без особенностей. Сопутствующий диагноз: ИБС, гипертоническая болезнь 3 ст, риск 3 (получает невиболол 5 мг), бронхиальная астма (получает беродуал).

Компьютерная томография органов грудной клетки (КТ) – двусторонние интерстициальные изменения, объем поражения КТ-3 (75%). Общий анализ крови - лейкопения 2,1*10^{9}/л (норма 4-9*10^{9}/л), тромбоцитопения 82*10^{9}/л (норма 180-320*10^{9} л), сдвиг лейкоцитарной формулы вправо. Мазок из зева и носа методом ПЦР на SARS-CoV-2 – положительный. Терапия: Режим ОРИТ. Продленная ИВЛ. Противовирусная терапия (ремдесивир 200 мг в/в капельно в первые сутки, по 100 мг в/в капельно в последующие дни лечения); патогенетическая терапия (тоцилизумаб 400 мг в/в капельно); антибактериальная терапия (цефтриаксон по 1 г в/м 2 раза в сутки, моксифлоксацин по 400 мг в/в капельно 1 раз в сутки); антикоагулянтная терапия (гепарин по 5000 ЕД п/к 4 раза в сутки); посиндромная терапия. Через

7 дней интенсивной терапии наступило ухудшение состояния с дыхательной недостаточностью, пациентка скончалась.

Диагноз: Коронавирусная инфекция COVID-19, лабораторно подтвержденная методом ПЦР, тяжелая степень тяжести. Осложнение: Двусторонняя полисегментарная интерстициальная пневмония (КТ-4), ОРДС. ДН 3 степени. Отек головного мозга. Полиорганная недостаточность.

Проведено обследование пациентки Н. по предложенному способу, в результате которого были получены следующие показатели: РБТЛ- 12%; CD16+ 38%, лф% – 23%.

$$y = -0{,}0096 * 12 + 0{,}0128 * 38 + 0{,}004652 * 23 + 0{,}1741 = 0{,}6528$$

Так как полученное значение больше значения 0,5, то прогнозируется летальный исход, что в итоге и произошло.

Пример 2 (выздоровление).

Пациент А., 59 лет. Жалобы при поступлении: одышка, выраженная слабость, сухой кашель. Болеет около 2-х недель, принимал препараты при повышении температуры выше 38^0С. Состояние тяжелое. Рост 178 см, вес 85 кг, ИМТ 26,89 кг/м ^{2}. Кожные покровы бледные. Аускультация легких: дыхание ослабленное, в нижних отделах выслушиваются единичные сухие хрипы в нижних отделах легких, ЧДД 29 в мин., сатурация 85% на атмосферном воздухе, на инсуффляции увлажненного кислорода на скорости 20% - сатурация 87%. Тоны сердца: приглушенные, перебоев в ритме и шумов нет, АД 140/90 мм рт. ст., ЧСС 102 уд/мин. Живот при пальпации мягкий, безболезненный во всех отделах, печень не увеличена. Мочеиспускание затруднено, безболезненное, имеется дизурия. Очаговой неврологической симптоматики нет. Сопутствующий диагноз: гипертоническая болезнь 2 степени, риск 2 (получает невиболол, 5 мг).

Компьютерная томография органов грудной клетки (КТ) – двусторонние интерстициальные изменения, объем поражения КТ-3 (60%). Общий анализ крови – незначительная лейкопения $3{,}9*10^9$/л (норма $4\text{-}9*10^9$/л), сдвиг

лейкоцитарной формулы вправо. Мазок из зева и носа методом ПЦР на SARS-CoV-2 – положительный.

Лечение. Режим ОРИТ. Продленная ИВЛ. Противовирусная терапия (ремдесивир 200 мг в/в капельно в первые сутки, по 100 мг в/в капельно в последующие дни лечения). Патогенетическая терапия (тоцилизумаб 400 мг в/в капельно). Антибактериальная терапия(цефепим по 1 г в/м 2 раза в сутки, ванкомицин по 1 г 2 раза в сутки в/в капельно 1 раз в сутки). Антикоагулянтная терапия (гепарин по 5000 ЕД п/к 4 раза в сутки).

Основной диагноз: Коронавирусная инфекция COVID-19, лабораторно подтвержденная методом ПЦР, тяжелая степень тяжести. Осложнение: Двусторонняя полисегментарная интерстициальная пневмония (КТ-3), ДН 2 степени. Сопутствующий диагноз: гипертоническая болезнь 2 степени (Невиболол, 5 мг).

Проведено обследование пациента А. по предложенному способу, в результате которого были получены следующие показатели: РБТЛ- 42%; CD16+ составил 17%, лф% – 54%.

$$y = -0{,}0096 * 42 + 0{,}0128 * 17 + 0{,}004652 * 54 + 0{,}1741 = 0{,}2397$$

Так как полученное значение меньше 0,5, то прогнозируется выздоровление, что в итоге и произошло.

Пациент №3 (летальный исход)

Пациент Р., 64 года. Поступил в боксированное отделение ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» с жалобами на повышение температуры тела, выраженную одышку, слабость, сухой кашель. Болеет около 1 недели, за медицинской помощью не обращался. Состояние средней тяжести. Обследование показало: Рост 174 см, вес 85 кг, ИМТ 28,1 кг/м 2; кожные покровы бледно-серые, чистые. Аускультация легких: дыхание ослабленное, множественные сухие хрипы в нижних отделах легких, ЧДД 29 в минуту, сатурация 81% на атмосферном воздухе, на инсуффляции увлажненного кислорода на скорости 20% - сатурация 85%. Тоны сердца: приглушенные,

аритмия, шумов нет, АД 110/75 мм рт. ст., ЧСС 89 уд/мин. Живот при пальпации мягкий, безболезненный во всех отделах, печень увеличена на 1,5 см. Мочеиспускание не затруднено, безболезненное, дизурии нет. Слабая неврологическая симптоматика в виде беспокойства, нарушении сна, органы чувств без особенностей. Сопутствующий диагноз: ИБС.

Компьютерная томография органов грудной клетки (КТ) – двусторонние интерстициальные изменения, объем поражения КТ-3 (62%). Общий анализ крови - лейкопения $3,1*10^9$ л (норма $4-9*10^9$ л), тромбоцитопения $110*10^9$ л (норма $180-320*10^9$ л), сдвиг лейкоцитарной формулы вправо. Мазок из зева и носа методом ПЦР на SARS-CoV-2 – положительный. Терапия: Режим ОРИТ. Продленная ИВЛ. Противовирусная терапия (ремдесивир 200 мг в/в капельно в первые сутки, по 100 мг в/в капельно в последующие дни лечения); патогенетическая терапия (тоцилизумаб 400 мг в/в капельно); антибактериальная терапия (цефтриаксон по 1 г в/м 2 раза в сутки, моксифлоксацин по 400 мг в/в капельно 1 раз в сутки); антикоагулянтная терапия (гепарин по 5000 ЕД п/к 4 раза в сутки); посиндромная терапия.

Диагноз. Коронавирусная инфекция COVID-19, лабораторно подтвержденная методом ПЦР, тяжелой степени тяжести. Осложнение: Двусторонняя полисегментарная интерстициальная пневмония (КТ-4), ОРДС. ДН 3 степени. Отек головного мозга. Полиорганная недостаточность.

Проведено обследование пациента Р. по предложенному способу, в результате которого были получены следующие показатели: РБТЛ- 4%; CD16+ 32%, лф% – 21%.

$$y = -0,0096 * 4 + 0,0128 * 32 + 0,004652 * 21 + 0,1741 = 0,6429$$

Так как полученное значение оказалось больше значения 0,5, то прогнозируется летальный исход, что в итоге и произошло.

Таким образом, предложенный способ объективен, достоверен и может быть использован для прогноза риска развития летального исхода COVID – 19.

Таким образом, на основании проведенных исследований и полученных результатов можно выявить ряд прогностических факторов риска развития тяжелого течения заболевания: преморбидные - пожилой и старческий возраст, метаболический синдром, сахарный диабет как сопутствующая патология, наличие нескольких сопутствующих заболеваний; клинические - высота и длительность лихорадки, одышка, заложенность в груди, признаки дыхательной недостаточности, объем поражения легких КТ-3-4; лабораторные: повышение СОЭ, мочевинв, СРБ; иммунологические: повышение ИЛ4, ИЛ18 сп, ФНО-α индуцированного, СД-16 и снижение РБТЛ, СД8; генетические – генотип СТ полиморфизма TLR9 (rs352140), TLR3 (rs3775291), а также высокая частота гомозиготного генотипа GG ($p<0,05$) полиморфизма ИЛ-17 (G197A) у больных с тяжелым течением COVID-19.

Анализ, проведенный с помощью коэффициента Спирмена R, позволил выявить достоверную корреляционную зависимость ($p<0,05$) между рядом исследуемых параметров и тяжестью COVID-19, а также исходом заболевания. В результате определены модели методом пошагового регрессионного анализа с выявлением наиболее значимых иммунологических показателей. Это позволило разработать математическую модель прогнозирования тяжелого течения COVID-19 и модель прогнозирования исходов COVID-19.

Впервые создана нейросетевая рекомендательная система (НРС) для прогнозирования степени тяжести COVID-19 на основе генетического тестирования, которая представляет собой компьютерную автоматизированную систему. На первом этапе создания продукта была проведена предварительная обработка и оптимизация входных данных. На следующем этапе проведено обучение системы и создании модели на основе классификатора, выбранных признаков, в нашем случае полиморфизм генов, кодирующих цитокины и Toll-like рецепторы, и создание на основе этой информации прогнозируемых классов. Далее на основании значений выбранных признаков вычисляются прогнозируемые классы, а именно

степень тяжести течения COVID-19 путем сопоставления вычисленной и фактической информации.

На основании комплексной оценки клинико-лабораторных, иммунологических и определения носительства определенных генетических полиморфизмов показателей при COVID-19 в зависимости от степени тяжести появляется возможность этапной диагностики факторов риска тяжелого течения заболевания:

I этап – на основании клинико-лабораторных показателей на амбулаторном этапе в ФАПах;

II этап – на основании иммунологических показателей в условиях круглосуточного стационара специализированного учреждения;

III этап – на основании высокотехнологических методов исследования – определения носительства генетических полиморфизмов.

Заключение

В настоящее время COVID-19, хотя и не рассматривается как глобальная чрезвычайная ситуация, продолжает распространяться без выраженной сезонности, что приводит к множественным заболеваниям из-за появления новых вариантов вируса. Это сохраняет высокий уровень тревоги в обществе. Актуальными задачами в сфере здравоохранения остаются дальнейшее исследование эпидемиологических характеристик болезни, её профилактика, а также разработка новых методов диагностики и лечения. По-прежнему важным остается поиск предикторов, способствующих выявлению пациентов с тяжелой формой заболевания и высоким риском смертельного исхода. В различных исследованиях было проанализировано прогностическое значение ряда клинических и лабораторных показателей при COVID-19 [24, 32, 44].

Установлено, что снижение уровня тромбоцитов и лимфоцитов, а также повышенные значения таких лабораторных показателей, как С-реактивный белок (СРБ), D-димер, лактатдегидрогеназа, ферритин и прокальцитонин, служат предикторами неблагоприятных исходов заболевания [48]. Изучение

генетического полиморфизма структур, отвечающих за развитие защитного иммунного ответа и предсказывающих тяжесть течения коронавирусной инфекции, является особенно актуальным, поскольку в настоящее время невозможно исключить риск появления новых, потенциально более вирулентных штаммов SARS-CoV-2.

Разработка моделей прогнозирования с использованием комплексного подхода, включающего клинико-лабораторные, иммунологические и генетические маркеры, позволит на ранних стадиях выявлять пациентов, нуждающихся в госпитализации, а также в более интенсивной противовирусной и посиндромной терапии. Это обеспечит возможность персонифицированного подхода к лечению пациентов и своевременной корректировки тактики их ведения.

Диссертационная работа проведена на базе ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи», который во время пандемии COVID-19 работал как специализированный госпиталь для пациентов с COVID-19, и представляет одноцентровое сравнительное научное исследование, выполненное в соответствии с принципами Хельсинкской Декларации.

Цель исследования - оптимизировать прогноз развития тяжелой степени тяжести COVID-19 на основании изучения преморбидных факторов, клинико-лабораторных, иммунологических и молекулярно-генетических особенностей при различных вариантах течения заболевания у взрослых пациентов.

Исследование проводилось с августа 2021 г. по февраль 2022 г. на клинической базе кафедры инфекционных болезней Пензенского института усовершенствовании врачей - филиала федерального государственного автономного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» (руководитель – заведующая кафедрой, к.м.н., доцент О.Н. Лесина) – в инфекционном боксированном отделении и отделении реанимации и интенсивной терапии ГБУЗ

«Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» (главный врач – к.м.н. С.Б. Рыбалкин). Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом. Пациенты старше 18 лет были информированы о целях и дизайне исследования и подписали информированное согласие.

Клиническое обследование пациентов включало сбор жалоб, эпидемиологического анамнеза (возвращение из зарубежной поездки за 14 дней до появления симптомов; наличие тесных контактов за последние 14 дней с лицом, находящимся под наблюдением по COVID-19, который в последующем заболел; наличие тесных контактов за последние 14 дней с лицом, у которого лабораторно подтвержден диагноз COVID-19; наличие профессиональных контактов с лицами, у которых выявлен подозрительный или подтвержденный случай заболевания COVID-19), анамнеза жизни (данные об аллергических реакциях, наличие сопутствующих заболеваний, перенесенные заболевания), физикального осмотра всех систем организма.

Использовались следующие лабораторные и инструментальные методы обследования: клинический анализ крови с подсчетом количества лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитарной формулы, скорости оседания эритроцитов; биохимический анализ крови с определением уровня общего белка и альбумина, мочевина и креатинина, общего и прямого билирубина, АЛТ и АСТ, глюкозы, ЛДГ; коагулограмма, в том числе АЧТВ, МНО, протромбиновое время, протромбин по Квику; определение уровня прокальцитонина, ферритина; бактериологическое исследование мокроты. Всем исследуемым пациентам проводилась компьютерная томография органов грудной клетки, ЭКГ, по показаниям - УЗИ сосудов нижних конечностей и плевральных полостей.

Также изучались иммунологические показатели при коронавирусной инфекции COVID-19: показатели врожденного иммунитета, а именно активность нейтрофилов хемилюминесцентным методом, показатели адаптивного иммунитета (Ig A, Ig M, Ig G, CD-4, CD-8, CD-16, CD-19) и

регуляторные про- и противовоспалительные цитокины (интерферон-γ, интерлейкин 18, интерлейкин-10, интерлейкин-4, фактор некроза опухоли альфа).

Кроме того, проводилось исследование генетических полиморфизмов Toll-like рецепторов и ряда интерлейкинов у пациентов с коронавирусной инфекцией в зависимости от степени тяжести заболевания. Были выбраны для изучения генетических полиморфизмов Toll-like-3 и Toll-like-9 рецепторы, так как рецепторы именно TLR3 и TLR9 могут быть вовлечены в развитие COVID-19.

Важным являлась разработка математических моделей для прогноза тяжести и исходов заболевания на основании наиболее достоверных иммунологических маркеров.

Статистическая обработка результатов была проведена с помощью современных математических пакетов статистической обработки и специализированных языков программирования на персональном компьютере. Были использованы методы параметрической и непараметрической статистики (Гланц С. 1999, Платонов А.Е. 2000, Реброва О.Ю. 2002). Проверка на нормальность распределения по выборке осуществлялись с помощью критерия Колмогорова-Смирнова.

Данные представлены в виде медианы (Me) и квартилей (P-25%; P-75%) нестандартное распределение. При $p<0,05$ различие между количественными признаками считалось статистически достоверным. При статистическом анализе данных использовался метод сравнения несвязанных выборок – Mann-Whitney тест. Для оценки различия групп по качественному признаку использован критерий $\chi 2$ с поправкой Yates, а при нарушении условий его применимости – двусторонний критерий Фишера (PF). Различие групп считали статистически значимым при $p<0,05$. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов odds ratio (OR) и 95% доверительному интервалу. Исследование взаимосвязи между изучаемыми

показателями проводилось с помощью метода корреляционного анализа по Спирмену с вычислением коэффициента корреляции (r). Коэффициент корреляции (r), характеризующий прямую связь, обозначали знаком «+», обратную – «-». Сила коэффициента: r> 0,70 – сильная, r = 0.50-0.69 – средняя, r<0,49 – слабая.

Для информационной конфиденциальности использовался персональный компьютер с созданием и регистрацией баз данных. Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 12.0».

Было проведено изучение клинико-лабораторных особенностей COVID-19: 1) в зависимости от степени тяжести заболевания (3 группы) - 1 группа - 97 (46,4%) пациентов с легкой степенью тяжести, 2 группа - 63 (30,1%) пациента со средней степенью тяжести, 3 группа - 49 (23,4%) пациентов с тяжелой степенью тяжести); 2) в зависимости от пола (2 группы) - группа А - пациенты мужского пола (75 мужчин) и группа В - пациенты женского пола (134 женщины); 3) в зависимости от возраста (4 группы) - I группа - 27 (12,9%) пациентов в возрасте от 18 до 44 лет, II группа - 28 (13,4%) больных от 45 до 59 лет, III группа - 93 (44,5%) человека в возрасте с 60 до 74 лет и IV группа - 61 (29,2%) пациент старческого возраста (старше 75 лет).

По результатам исследования в группах сравнения по степени тяжести COVID-19| было установлено, что наиболее длительный амбулаторный период был выявлен в группе тяжелых больных, максимально до 24 (11,00 [7,00;14,00]) дней, в то время как у больных с легким и среднетяжелым течением COVID-19 амбулаторный период составил 13,50 [9,00;22,00], 6,00 [4,00;9,00] соответственно. У пациентов, обращавшихся за медицинской помощью, ведущей жалобой была фебрильная лихорадка (97% пациентов). В 1 и 2 группах преобладала субфебрильная температура тела - 82,5% и 69,8% пациентов соответственно, а в 3 группе чаще встречались больные (81,6%) с фебрильной температурой тела.

При сравнительной характеристике температурной реакции методом

Манна-Уитни выявлено, что у пациентов с тяжелой степенью тяжести высота температуры была достоверно выше, чем в группах сравнения и составила 38,50 [38,00;39,20]. Длительность лихорадки составила 3,00 [3,00;5,00] дней, 5,00 [4,00;8,00] дней, 9,00 [5,00;13,00] дней соответственно в группах ($p<0,05$).

Таким образом, анализ температуры тела у больных COVID-19 выявил более высокие показатели температурной реакции и длительность лихорадки при тяжелой степени тяжести заболевания.

При анализе клинических проявлений в группах сравнения выявлено отсутствие достоверных различий по таким симптомам, как слабость, боль в горле, насморк. Кашель достоверно чаще встречался во 2-й и 3-й группах по сравнению с пациентами с легким течением заболевания ($p=0,0000$). Одышка, заложенность в грудной клетке достоверно чаще встречались в 3 группе ($p=0,0000$).

Анализируя степень поражения легких по КТ у пациентов в группах сравнения, выявлены достоверные различия между тяжестью состояния и процентом поражения легочной ткани - практически у всех пациентов (95,8%) в группе больных с тяжелой степенью тяжести COVID-19 наблюдалось поражение легких объемом КТ3-КТ4 ($p<0,05$).

В группе пациентов с тяжелой степенью тяжести снижение сатурации было достоверно ($p<0,05$) более выражено, чем в других группах (медиана 84,00 [75,00;86,00]). В 1 группе наблюдения у 100% пациентов коронавирусная инфекция протекала без дыхательной недостаточности (ДН). При средней степени тяжести ДН1 наблюдалась у 12,7% пациентов, а ДН2 – у 1 больного. В 3 группе дыхательная недостаточность выявлена у всех пациентов: ДН-1 у 51%, ДН-2 у 30,6% больных, ДН-3 – у 18,4% человек ($p=0,0000$).

Тяжелому течению COVID-19 способствовало наличие неблагоприятного преморбидного фона (97,9%). Эти пациенты имели 3 и более сопутствующих заболеваний в 73,5% случаев, что достоверно больше, чем в 1 и 2 группе ($p=0,0000$). У пациентов с тяжелой степенью тяжести заболевания достоверно чаще ($p>0,05$), чем в других группах встречались гипертоническая

болезнь (75,5%), ИБС (69,4%), сахарный диабет (59,2%), онкологические заболевания (22,4%) , бронхо-легочные заболевания (26,5%).

Был проведен анализ лабораторных показателей у пациентов с COVID-19 в зависимости от тяжести заболевания: у пациентов групп сравнения выявлены достоверные различия по большинству лабораторных показателей. Так, с увеличением тяжести заболевания достоверно чаще встречались лейкопения или лейкоцитоз, лимфопения, тромбоцитопения, повышение ЛДГ и ферритина, мочевины, печеночных показателей (АЛТ и АСТ), снижение АЧТВ, в моче – эритроцитурия, лейкоцитоурия, кетонурия, цилиндрурия, протеинурия ($p<0.05$). У пациентов с тяжелой степенью тяжести достоверно чаще встречались ускоренная СОЭ ($p=0,0000$) и повышение СРБ ($p=0,0000$).

Проведен корреляционный анализ лабораторных показателей в зависимости от тяжести заболевания (по критерию Спирмена), который выявил наиболее значимые достоверные различия между группами по таким показателям как СОЭ ($p=0,0000$), мочевина ($p=0,0003$)) и СРБ ($p=0,0000$).

Таким образом, результаты изучения клинических особенностей, наличия сопутствующих заболеваний и данных лабораторных исследований у пациентов с COVID-19 выявили достоверные различия у больных с тяжелой степенью тяжести заболевания по сравнению с другими группами. Достоверно чаще встречались ($p<0,05$) заложенность в грудной клетке (34%), одышка (87,2%) и кашель (95,7%), длительная лихорадка, наличие признаков ДН II-III степени, объем поражения легких КТ 3-4, наличие 3 и более сопутствующих заболеваний (ИБС, ожирение, сахарный диабет, онкологические и бронхо-легочные заболевания), лейкопения, ускоренная СОЭ, повышение мочевины и СРБ.

Были исследованы клинические особенности у пациентов с COVID-19 в зависимости от пола. Средняя температура тела у мужчин и женщин (38,10 [37,80;38,45] у мужчин, 38,20 [37,80;38,60] у женщин) и длительность лихорадки (5,00 [3,00;9,00] и 5,00 [3,00;7,00] соответственно в группах) не имели достоверных различий.

Клинические проявления COVID-19 у мужчин и женщин были сопоставимы. Основными симптомами были утомляемость, кашель и одышка. Слабость встречалась у 89,5% мужчин и у 95,5% женщин. Кашель присутствовал у 88,1% мужчин и у 91% женщин. Одышка выявлена при поступлении у 22,4% мужчин и 22,5% женщин ($p>0,05$). Анализ других клинических проявлений также не выявил достоверных различий в группах.

COVID-19 протекала без изменений в легких по результатам КТ у 40,8% мужчин и у 41,4% женщин. У женщин достоверно чаще встречалось КТ 1 (32,3%, $p=0,0004$). У мужчин достоверно чаще встречался объем поражения легких КТ2 (30,30%, $p=0,0124$) и КТ4 (6,60%, $p=0,0249$), однако по степени ДН, развившейся на фоне вирусной пневмонии, достоверных различий не выявлено. Присоединение бактериальной инфекции при вирусной пневмонии отмечалось у 50% мужчин и 64,7% женщин, при этом достоверных различий выявлено не было.

Таким образом, несмотря на достоверно более распространенное поражение легких у мужчин, достоверных различий по дыхательной недостаточности не получено, а лабораторно подтвержденные бактериальные осложнения чаще встречались у женщин.

Анализ коморбидной патологии в группах выявил, что у женщин чаще встречались ИБС, ожирение, ГБ, сахарный диабет, однако различия были не достоверны. Сочетание 3 и более сопутствующих заболеваний отмечено у 33,80% женщин и 18,4% мужчин, достоверность различий $p=0,0174$.

Достоверные различия по лабораторным показателям между мужчинами и женщинами получены только в отношении тромбоцитопении Тромбоцитопения встречалась у 38,3% женщин и 22,4% мужчин ($p=0,0212$). По остальным лабораторным показателям крови и мочи достоверные различия не выявлены.

Таким образом, при изучении гендерных особенностей по характеру клинических проявлений, результатам инструментальных (КТ) и лабораторных исследований у мужчин и женщин с COVID-19 достоверные

данные были получены только в отношении тромбоцитопении, чаще встречающейся у женщин (p=0,0212) и объема поражения легких, преобладавшего у мужчин - КТ2 (30,30%, p=0,0124) и КТ4 (6,60%, p=0,0249). Анализ коморбидной патологии выявил, что у женщин достоверно чаще встречается 3 и более сопутствующих заболеваний. Бактериальные пневмонии чаще диагностированы у женщин (64,7%) (p>0,05). Неблагоприятный исход в нашей когорте больных чаще встречался у женщин пожилого возраста с сопутствующей патологией и присоединением бактериальных осложнений.

Изучено распределение пациентов с COVID-19 по степени тяжести в различных возрастных группах. Пациенты с тяжелой степенью тяжести чаще встречались в возрастной группе 60 лет и старше– 28% больных III и 27,9% больных IV группы. У молодых лиц тяжелое течение отмечено у 11% пациентов, а у среднего возраста – в 14,3% случаев.

У пациентов, обращавшихся за медицинской помощью, ведущей жалобой была лихорадка (97% пациентов). При сравнении температурной реакции достоверных различий в зависимости от возраста выявлено не было. Средняя температура тела в группах составляла: в I группе – 38,12±0,04, во II группе – 37,98±0,05, в III группе – 37,91±0,03, в IV группе – 38,13±0,05. При поступлении пациенты всех четырех групп имели сходные клинические проявления, достоверных различий между ними не выявлено.

Инструментальные исследования показали, что поражение легких объемом КТ 3 достоверно чаще встречалось у пациентов 3 группы (60-74 года) по сравнению с молодыми лицами и пациентами старческого возраста. КТ 4 диагностирована только у пациентов 60 лет и старше. По другим группам достоверных различий не получено.

У пациентов пожилого и старческого возраста чаще, чем в других возрастных группах, диагностирована ДН II-III степени, однако различия не были достоверными.

В III и IV группе все пациенты имели сопутствующую патологию в отличие от лиц молодого возраста (25,9%) и среднего возраста (60,7%) –

p=0,0043 и p=0,0000. В соответствии с возрастными особенностями сопутствующей патологии среди пациентов пожилого и старческого возраста достоверно чаще, чем в I и II группе (p<0,05), наблюдались пациенты с ИБС (46,2%, 60,1% в III и IV группе соответственно), ГБ (91,4%, 65,1%), сахарным диабетом (57%, 37,7%), бронхо-легочными заболеваниями (11,8%, 14,8%), метаболическим синдромом (29%, 23% в III и IV группе соответственно), 3 и более сопутствующих заболевания имели 55,7% (p=0,0000).

У пациентов разного возраста изучены особенности лабораторных показателей. По результатам сравнительного анализа выявлены следующие достоверные различия: у пациентов старческого возраста достоверно чаще встречался лейкоцитоз (39,5%, p=0,0271), увеличение трансаминаз (29,3%, p=0,0265) по сравнению с молодыми людьми (7,4%, 14,8% соответственно); частота лимфопении преобладала у лиц 60-75 лет (p3=0,0005, p4=0,0160) и встречалась у 57% пациентов этой возрастной группы. Число пациентов с ускоренной СОЭ достоверно возрастала у лиц среднего и пожилого возраста, достоверно преобладала у лиц пожилого возраста (96,8%, p2=0,0003, p3=0,0003, p4=0,0000), но не имела достоверных различий у лиц старческого и молодого возраста. Аналогичная закономерность наблюдалась в отношении СРБ: наибольшее количество пациентов с высокими цифрами СРБ отмечалось в возрасте 60-75 лет (92,5%, p2=0,0006, p3=0,0000, p4=0,0000), причем с возрастом эти показатели увеличивались, а в группе 76 лет и старше не имелось достоверных различий с лицами молодого возраста.

Повышение Д-димера достоверно чаще встречалось у лиц пожилого и старческого возраста (40,9%, p=0,0405; 41%, p=0,0519) в III и IV группе соответственно), ферритин также чаще был повышен у пациентов пожилого и старческого возраста (43%, p4=0,0242; 46%, p5=0,0173) в III и IV группе соответственно). Частота снижения АЧТВ возрастала с возрастом и имела достоверные различия между пациентами I и III (p=0,0027), II и III (p4=0,0003), I и IV (p=0,0143) групп. Кетонурия достоверно чаще встречалась в III (30,1%, p=0,0213) и IV (36,1%, p=0,0453) группах больных.

Таким образом, наиболее выраженные воспалительные изменения на фоне лимфопении наблюдалась у пациентов 45-59 и 60-75 лет, что определяет тяжесть течения COVID-19 в этих возрастных группах. У пациентов старческого возраста чаще присоединялась бактериальная инфекция, что проявлялось лейкоцитозом, отмечалось поражение печени (трансаминаземия) и метаболические нарушения. Наиболее тяжелое течение по данным лабораторных исследований характерно для лиц 60-74 лет, у которых процесс достоверно чаще сопровождается повышением ферритина, нарушением гемостаза (Д-димер, АЧТВ), метаболическими нарушениями. У 10% исследуемых пациентов заболевание закончилось летальным исходом. Умершие пациенты были из группы риска – возраст старше 65 лет, имели сопутствующие заболевания (сахарный диабет - 76,2%, ИБС - 90,5%, бронхолегочные заболевания - 47,7%) и поздно поступали в стационар.

Проведенные исследования клинических особенностей и лабораторных показателей у пациентов с COVID-19 популяции Пензенской области в целом совпадают с популяциями других регионов РФ и зарубежными данными [4, 10, 22]. У больных с тяжелой степенью тяжести заболевания по сравнению с другими группами достоверно чаще встречались ($p<0,05$) заложенность в грудной клетке (34%), одышка (87,2%) и кашель (95,7%), длительная лихорадка, наличие признаков ДН II-III степени, объем поражения легких КТ 3-4, наличие 3 и более сопутствующих заболеваний (ИБС, ожирение, сахарный диабет, онкологические и бронхо-легочные заболевания), лейкопения, ускоренная СОЭ, повышение мочевины и СРБ.

При сравнении по гендерному признаку достоверные данные были получены только в отношении тромбоцитопении, чаще встречающейся у женщин ($p=0,0212$) и объема поражения легких, преобладавших у мужчин - КТ2 (30,30%, $p=0,0124$) и КТ4 (6,60%, $p=0,0249$), у женщин также достоверно чаще встречались 3 и более сопутствующих заболеваний (64,7%, $p<0,05$). и бактериальные пневмонии.

Тяжелое и неблагоприятное течение COVID-19 отмечалось у лиц 45-74

года, у которых были наиболее выражены воспалительные изменения, гемостатические и метаболические нарушения, что сопровождалось обширным поражением легких, соответствующим КТ-3 и КТ-4. У лиц старше 75 лет коронавирусная инфекция при менее выраженных воспалительных изменениях приводила к более частому присоединению бактериальной инфекции и развитию органной дисфункции на фоне наличия 3 и более сопутствующих заболеваний, что также определяло неблагоприятное течение COVID-19 у этой возрастной группы.

Для изучения иммунологических показателей было исследовано 85 пациентов с COVID-19, которые были разделены на три группы по степени тяжести: 1 группа - 32 (37,6%) человека с легкой степенью тяжести; 2 группа – 30 (35,3%) больных со средней степенью тяжести; 3 группа - 23 (27,1%) пациента с тяжелой степенью тяжести заболевания, а также контрольная группа здоровых людей (n=30), в анамнезе которых не было перенесенного заболевания COVID-19 (отрицательные результаты специфического Ig G и ПЦР мазка из носо-ротоглотки на SARS-CoV-2). Во всех группах были исследованы следующие показатели: Ig A, M, G, CD-4, CD-8, CD-19, РБЛТ, интерферон-γ, интерлейкин 18, интерлейкин-10, интерлейкин-4, фактор некроза опухоли-α. Проводилось также исследование функциональной активности нейтрофилов хемилюминесцентным методом. В процессе исследования были установлены различия в иммунных показателях у пациентов с COVID-19 и здоровых людей контрольной группы: достоверное увеличение IgA (p=0,0107), IgG (p=0,0037), ИЛ18 сп (p=0,0007), ИЛ18 сп (p=0,0198), ИЛ4 сп (p=0,0086) у больных с COVID-19 (что связано непосредственно с инфекционным процессом), существенное снижение у них нормированной максимальной интенсивности свечения нейтрофилов (Imax) (p=0,0283), значительное снижение индуцированной продукции FNO-α (p=0,0000) (что, вероятно, является одной из множества причин нарушения противовирусного ответа у пациентов с COVID-19). Анализ количественных показателей клеточного иммунитета у пациентов с COVID-19 выявил

значительное (в 1,6 раз, p=0,00003) снижение субпопуляции лимфоцитов CD3+CD8+ по сравнению со здоровыми людьми. Исследование функционального состояния лимфоцитов с использованием реакции бластной трансформации с ФГА выявило снижение функциональной активности лимфоцитов в 1,6 раза (p=0,0000) в группе больных COVID-19 по сравнению с контрольной группой здоровых лиц.

Проведено изучение показателей врожденного иммунитета с использованием хемилюминесцентного анализа у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19. Выявлено снижение спонтанной в 2,3 раза (p=0,003) и индуцированной в 1,6 раз (p=0,002) продукции АФК (активных форм кислорода) у больных с тяжелым течением заболевания по сравнению с пациентами средней степени тяжести COVID-19. Коэффициент активации нейтрофилов увеличивался с ростом тяжести COVID-19: в группе с тяжёлым течением заболевания этот показатель был достоверно выше, чем при средней степени тяжести и по сравнению с контрольной группой (p2=0,03, p3=0,004). Таким образом, исследование активности нейтрофилов хемилюминесцентным методом выявило наличие различий их функции у пациентов с разной степенью тяжести заболевания. Наиболее информативным оказался показатель коэффициент активации (Ка), который может быть использован в качестве прогностического фактора риска тяжелого течения COVID-19.

У пациентов с различной степенью тяжести заболевания были изучены показатели наиболее значимых провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов (IL-1β, TNF-α, ИФНγ, IL-10, IL-18, IL-4). Корреляционный анализ показал наличие достоверных связей между тяжестью заболевания и следующими факторами: ИЛ-18 спонтанный – умеренная прямая (R=0,46; p=0,0007); ИЛ-18 индуцированный – умеренная прямая (R=0,34; p=0,0155); ФНО-α индуцированный – заметная обратная (R=-0,50; p=0,0002); ИЛ-4 спонтанный – высокая прямая (R=0,68;p=0,0000); ИЛ-4 индуцированный – заметная обратная (R=-0,50; p=0,0002); ИЛ-10 индуцированный – слабая

обратная (R=-0,28 p=0,0498); ИФНγ спонтанный – умеренная обратная (R=-0,46; p=0,0006); ИФНγ индуцированный – заметная обратная (R=-0,60; p=0,0000) связь.

Проведено исследование показателей адаптивного иммунитета в зависимости от степени тяжести заболевания, в ходе которого выявлена сильная связь между степенью поражения легких, тяжестью заболевания и такими иммунными показателями как РБТЛ (%), ЛФ (%), СД4 (%), СД8 (%), СД16 (%).

Важным для выработки тактики лечения является прогноз исхода заболевания. Проведен корреляционный анализ силы связи иммунологических показателей и исхода COVID-19. Корреляционный анализ показал наличие достоверных связей между исходом заболевания и факторами: CD16 – заметная прямая (R = 0,5502; p = 0,0000), РБТЛ % – заметная обратная (R = -0,6305; p = 0,0000); лф (%) – умеренная обратная (R = -0,3462; p = 0,0119).

Особенно актуальным такой прогноз является для пациентов с факторами риска, но отсутствием на начальном этапе болезни выраженных воспалительных маркеров.

Полученные данные взаимосвязи показателей интерлейкинов ИЛ-18сп, ФНО-α инд, ИНФ-γ-инд с тяжестью COVID-19, а также уровня наиболее значимых иммунных показателей СД16, лф%, РБЛТ и исхода заболевания, были использованы для создания прогностических математических моделей. Использование математических моделей позволяет в более ранние сроки выявить больных с риском тяжелого течения и неблагоприятного исхода COVID-19.

I. На основании изучения показателей цитокинов разработана модель прогнозирования степени тяжести COVID-19. Математическая модель, которая позволяет прогнозировать степень тяжести у больных COVID-19 была построена с помощью статистической обработки данных, в результате

многофакторного анализа. В дальнейшем были вычленены показатели с высокой достоверностью, с которыми были проведены дальнейшие вычисления.

Модель для диагностики степени тяжести заболевания имеет вид:

$$y = 0{,}1534 * x_1 - 0{,}0005 * x_2 - 0{,}0005 * x_3 + 0{,}0005 * x_4 + 2{,}0257 ,$$

где у – где у – код группы (степень тяжести – легкая; 2 – средняя; 3 – тяжелая), x_1 – ИЛ-4 спонтанный, x_2 – ИФНγ индуцированный, x_3 – αФНО индуцированный, x_4 – ИЛ-18 спонтанный.

Установлено, что показатели цитокинов – ИЛ-4 спонтанного, ИФНγ индуцированного, αФНО индуцированного, ИЛ-18 спонтанного являются высоко значимыми критериями для прогнозирования степени тяжести COVID-19. Для прогноза степени тяжести у больных COVID-19 полученные значения показателей ИЛ-4 спонтанного, ИФНγ индуцированного, αФНО индуцированного, ИЛ-18 спонтанного подставляют в математическую модель. Наибольшее влияние на прогноз степени тяжести заболевания оказывает значение ИЛ-4 спонтанного (27,02 %), меньше - значение ИФНγ индуцированного (17,70 %) и значительно меньший вклад вносят показатели αФНО спонтанный (6,16 %) и ИЛ-18 спонтанный (2,21 %), прочие показатели не вносили вклада в модель, в связи с этим были исключены.

Способ является простым, точным, недорогим методом диагностики. Построенная математическая модель с высокой степенью достоверности может осуществлять прогноз степени тяжести у пациентов COVID-19.

II. На основании изучения иммунологических показателей была разработана модель прогнозирования исходов COID-19 методом пошагового регрессионного анализа.

Степень влияния независимых факторов на исход заболевания рассчитывался, исходя из величины стандартизированных коэффициентов

регрессии BETA (по результатам регрессионного анализа) с помощью формулы:

$$K_j = \frac{100 \times BETA_j}{\sum_j |BETA_j|} \times R^2, в\%$$

Таким образом, наибольшее влияние на прогноз исхода заболевания оказывает фактор РБТЛ (21,89%), меньше - CD16 (13,26%) и лф (6,65%).

Модель для диагностики исхода заболевания имеет вид:

$$y = -0{,}0096 * x_1 + 0{,}0128 * x_2 + 0{,}004652 * x_3 + 0{,}1741$$

где y – код группы (исход заболевания: 0 – выздоровление, 1 – смерть), x_1 – РБТЛ, x_2 – CD16, x_3 – лф (%).

Модель дифференциации пациентов по исходу заболевания имеет информационную значимость (коэффициент детерминации R2=0,4180) и статистическую ценность (F(3,48) = 11,49 p=0,000009).

В данной модели p-значение равно 0,000009, что существенно меньше обычного уровня значимости 0,05. Это указывает на то, что регрессионная модель в целом статистически значима. Полученная модель дифференциации пациентов по прогнозируемому исходу позволяет путем подстановки в указанную формулу значений показателей факторов получить критерий принадлежности к группе вероятного исхода.

При значении: y = 0-0,5 заболевание у пациента будет иметь наиболее вероятный исход «выздоровление», y = 0,5 и выше – будет более вероятен летальный исход.

В настоящем исследовании был проведен анализ частоты встречаемости различных генотипов полиморфизмов TLR3 (rs3775291) и TLR9 (rs352140) у больных COVID-19 в сравнении со здоровыми лицами, в анамнезе которых не было перенесенного заболевания COVID-19 (отрицательные результаты специфического Ig G и ПЦР мазка из носо-ротоглотки на SARS-CoV-2). Было продемонстрировано, что у больных COVID-19 наблюдалось достоверное

повышение частоты носительства генотипа CT и снижение частоты носительства генотипа TT полиморфизма TLR3 (rs3775291) по сравнению со здоровыми людьми. Следовательно, можно предположить, что обнаруженная в исследовании увеличенная частота генотипа CT и сниженная частота генотипа TT аллелей rs3775291 у пациентов с COVID-19 могут оказывать значительное влияние на восприимчивость к SARS-COV2.

Проведен сравнительный анализ по частоте встречаемости различных генотипов полиморфизмов TLR3 (rs3775291) и TLR9 (rs352140) у больных COVID-19 со средней степенью тяжести и тяжелым течением инфекции.

Сравнительный анализ в группах наблюдения выявил достоверные различия встречаемости генотипов CT и TT полиморфизмов генов TLR3 и TLR9 у пациентов со средней и тяжелой степенью тяжести заболевания. У пациентов с тяжелым течением COVID-19 преобладал генотип CT гена TLR3 (rs3775291) по сравнению с больными средней степени тяжести ($p=0,048$), а генотип TT встречался у этих больных достоверно реже ($p=0,045$). Анализ между группами пациентов по частоте встречаемости генотипов TLR9 (rs352140) выявил, что генотип CT у больных с тяжелым и крайне-тяжелым состоянием встречался достоверно чаще по сравнению с группами больных со средней степенью тяжести ($p=0,032$). Напротив, генотип TT у больных с тяжелым и крайне-тяжелым состоянием встречался достоверно реже по сравнению с группами больных со средней степенью тяжести ($p=0,01$). Полученные данные могут быть использованы при оценке риска тяжелого течения COVID-19.

Проведено сравнительное исследование между больными COVID-19 и здоровыми людьми по носительству генетических полиморфизмов ряда интерлейкинов: ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-17, ИЛ-1β, TNF-α.

Среди изученных полиморфных вариантов генов цитокинов наиболее значимыми предикторами ассоциации с повышенным риском развития COVID-19 явились: генотип -589C/T гена IL-4, генотип -1082A/A гена IL-10, генотип -197A/A гена IL-17. Напротив, предикторами пониженного риска

развития COVID-19 явились: генотип -31C/C гена IL-1β, генотипы -308 G/A и -308 A/A гена TNF-α. Таким образом, анализ носительства полиморфизмов генов наиболее значимых цитокинов, таких как IL-4, IL-10, IL-17A, IL-1β, TNF-α дает возможность оценить генетическую предрасположенность пациентов к повышенному риску заболевания COVID-19, в связи с чем, является важным не только для понимания иммуногенетики, но и для выявления рисков заболевания.

Проведено изучение носительства определенных генотипов полиморфизмов IL-4 (C-589T), IL-10 (G-1082A), IL-17A (G-197A), IL-1β (T-31C), TNF-α (G308A), INF-γ (rs2430561), IFNL3 (rs12979860), INFL4 (rs368234815), INF a/b –receptor (rs9984273), IL-6 (rs180795), IL-2 (T330G) у больных COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания. При исследовании генетических полиморфизмов интерлейкинов только для полиморфизма IL-17 (G197A) достоверно определяется высокая частота гомозиготного генотипа GG ($p<0,05$) у пациентов с тяжелым течением заболевания по сравнению со средней степенью тяжести. Однако обнаружены достоверные различия между легкой и среденетяжелой степенью тяжести COVID-19 по генотипу AA полиморфизму ИЛ10 (G1082A) ($p=0,028$) и между легкой и тяжелой по генотипу T/G полиморфизма ИЛ-2 (T339G) ($p=0,05$), T/T IFNL3 (rs12979860) ($p=0,05$) и по A/A INF-γ (rs2430561) ($p=0,045$). Сравнительный анализ генетических полиморфизмов Toll-like рецепторов у пациентов с COVID-19 в зависимости от степени тяжести выявил достоверно ($p<0,05$) более высокую частоту встречаемости генотипа CT и наиболее низкую частоту встречаемости генотипа TT полиморфизмов TLR9 (rs352140) и TLR3 (rs3775291) у больных с тяжелым течением заболевания, что может играть роль в развитии осложнений и неблагоприятных исходов. Полученные данные могут быть использованы при оценке риска тяжелого течения COVID-19 и выработки оптимального алгоритма лечения.

Таким образом, на основании проведенных исследований и полученных результатов можно выявить ряд прогностических факторов риска развития

тяжелого течения заболевания: преморбидные - пожилой и старческий возраст, метаболический синдром, сахарный диабет как сопутствующая патология, наличие нескольких сопутствующих заболеваний; клинические - высота и длительность лихорадки, одышка, заложенность в груди, признаки дыхательной недостаточности II и III степени, объем поражения легких КТ3, КТ4 по данным компьютерной томографии; лабораторные – повышение СОЭ, мочевины, СРБ. Результаты исследования иммунологических показателей свидетельствуют о наличии у больных с тяжелым течением заболевания нарушения функциональной активности нейтрофилов (снижение спонтанной в 2,3 раза ($p=0,003$) и индуцированной в 1,6 раз ($p=0,002$) продукции АФК, проявившейся в достоверном увеличении коэффициента активации в зависимости от степени тяжести заболевания); снижения показателей адаптивного иммунитета - РБТЛ, СД8 и повышение СД16; дисбаланс регуляторных механизмов иммунного ответа - достоверном повышении ИЛ4 спонтанного и снижении ИЛ4 индуцированного, повышении ИЛ18 спонтанного и индуцированного, снижении ФНО-α индуцированного, снижении ИФНγ спонтанного и индуцированного. В настоящем исследовании обнаружены генетические особенности у пациентов с тяжелым течением COVID-19 – наличие генотипа CT полиморфизов TLR9 (rs352140), TLR3 (rs3775291), а также высокая частота гомозиготного генотипа GG ($p<0,05$) полиморфизма ИЛ-17 (G197A). Обнаруженные клинико-лабораторные критерии тяжести заболевания, иммунологические и генетические особенности у больных с тяжелой степенью тяжести заболевания могут быть использованы для индивидуального прогнозирования осложненного течения COVID-19 и риска развития летальных исходов. На основании комплексной оценки клинико-лабораторных, иммунологических и генетических показателей при COVID-19 в зависимости от степени тяжести появляется возможность этапной диагностики факторов риска тяжелого течения заболевания:

I этап – на основании клинико-лабораторных показателей на амбулаторном этапе;

II этап – на основании иммунологических показателей в условиях круглосуточного стационара специализированного учреждения с использованием математических моделей;

III этап – на основании высокотехнологических методов исследования – исследования генетических показателей с обработкой данных в рекомендательной нейросетевой системе.

Выводы

1. Тяжелые формы COVID-19, в том числе с риском летального исхода, характерны для пациентов пожилого возраста, у которых процесс достоверно чаще сопровождается повышением ферритина, нарушением гемостаза, метаболическими нарушениями ($p<0,05$), при наличии нескольких сопутствующих заболеваний (73,5%) и продолжительном амбулаторном периоде (11,00 [7,00;14,00], p=0,0000). Клинико-лабораторными маркерами развития тяжелой степени тяжести заболевания являются высота (38,50 [38,00;39,20], p=0,0142) и длительность (9,00 [5,00;13,00], p=0,0019) лихорадки, одышка (87,2%, p=0,0000), заложенность в груди (34%, p=0,0015), объем поражения легких КТ3-4 (50,9%, p=0,0058), признаки дыхательной недостаточности ДНII (44,90%, p=0,0000) и ДНIII (24,5%, p=0,0000), выраженность воспалительного синдрома – увеличение СОЭ (29,00 [20,00;35,00], p=0,02), СРБ более 5 норм (37,68 [20,20;95,73], p=0,01), а также повышение мочевины (13,90 [11,50;16,70], p=0,0006) у 95,90% пациентов.

2. Тяжелая степень тяжести COVID-19 сопровождалась нарушением врожденного иммунитета - достоверным снижением спонтанной (p=0,03) и стимулированной (p=0,02) продукции активных форм кислорода нейтрофилами, повышением коэффициента активации нейтрофилов (p=0,002)), угнетением клеточного иммунитета - снижением СД4-лимфоцитов и функциональной активности лимфоцитов в РБТЛ с ФГА, повышением

СД16-лимфоцитов, а также дисбалансом цитокинов, регулирующих иммунный ответ. Выявлена достоверная прямая корреляционная зависимость между уровнями СД16-лимфоцитов (R = 0,52), спонтанного ИЛ-18 (R = 0,46), спонтанного ИЛ-4 (R = 0,68) и достоверная обратная корреляционная зависимость между уровнями РБТЛ (R = -0,56), индуцированного ФНО-α (R=-0,50); индуцированного ИЛ-4 (R = -0,50); спонтанного ИФНγ (R = -0,46); индуцированного ИФНγ (R=-0,60) и тяжелым течением заболевания.

3. Сравнительный анализ генетических полиморфизмов Toll-like рецепторов у пациентов с COVID-19 в зависимости от степени тяжести выявил более высокую частоту встречаемости генотипа CT и наиболее низкую частоту встречаемости генотипа TT полиморфизма TLR9 (rs352140) и TLR3 (rs3775291) ($p<0,05$), а также высокую частоту гомозиготного генотипа GG ($p< 0,05$) полиморфизма ИЛ17 (G197A) у больных с тяжелым течением заболевания, что может играть ключевую роль в развитии осложнений и неблагоприятных исходов.

4. Исследование наиболее информативных иммунологических показателей позволяет разработать математические модели оценки прогноза степени тяжести и исходов COVID – 19. Модель для диагностики степени тяжести заболевания имеет вид: $y=0,1534*x_1-0,0005*x_2-0,0005*x_3+0,0005*x_4+2,0257$, где y – код группы (степень тяжести – легкая; 2 – средняя; 3 – тяжелая), x_1 – ИЛ-4 спонтанный, x_2 – ИФНγ индуцированный, x_3 –ФНО-α индуцированный, x_4 – ИЛ-18 спонтанный. Модель для прогноза исхода заболевания имеет вид: $y=-0,0096*x_1+0,0128*x_2+0,004652*x_3+0,1741$, где y – код группы (исход заболевания: 0 – выздоровление, 1 – смерть), x_1 – РБТЛ, x_2 – CD16, x_3 – лф (%).

5. Разработана нейросетевая рекомендательная система для прогнозирования тяжелых форм COVID-19 на основе генетического тестирования.

Практические рекомендации

1. При организации стационарной помощи больным COVID-19 необходимо учитывать возрастной состав больных, наличие метаболического

синдрома, нескольких коморбидных заболеваний, продолжительность амбулаторного периода, так как это определяет характер течения болезни. Наличие значимых клинических и лабораторно-инструментальных маркеров заболевания у конкретного пациента позволяет оценить вероятность развития тяжелой степени тяжести COVID-19: высота и продолжительность лихорадки, кашель, миалгия, головная боль, заложенность в грудной клетке, одышка, SpO2<90%, мультилобарная инфильтрация легких, ДН II–III степени. Это необходимо для оказания своевременной эффективной медицинской помощи пациентам.

2. Математические модели, разработанные на основании изучения особенностей иммунологических показателей у пациентов с тяжелой степенью тяжести заболевания и у пациентов с неблагоприятным исходом COVID-19 позволяют своевременно определить риск развития тяжелого течения и неблагоприятного исхода заболевания, что можно использовать в клинической практике для осуществления персонифицированного подхода к пациентам и выбору наиболее эффективной терапии: пациентам с высоким риском рекомендуется осуществлять динамическое наблюдение и своевременную госпитализацию в палату интенсивной терапии.

3. Нейросетевая рекомендательная система на основании генетических маркеров позволяет проводить наиболее раннее прогнозирование риска развития тяжёлой степени тяжести COVID – 19 и неблагоприятных исходов.

4. Выявленные преморбидные, клинико-лабораторные, иммунологические и генетические факторы и разработанные математические модели и нейросетевая рекомендательная система позволяют проводить этапное прогнозирование риска развития тяжёлой степени тяжести COVID – 19 и неблагоприятных исходов заболевания в зависимости от вида медицинской помощи.

Перспектива дальнейшей разработки темы

Перспектива изучения прогностических критериев тяжести и исхода коронавирусной инфекции COVID-19 связана с возможностью более качественной оценки течения заболевания и разработки эффективных мер по оказанию своевременного оптимального лечения и предупреждению неблагоприятного исхода заболевания. Некоторые направления исследований в этой области:

- анализ и систематизация противоречивых данных о прогностическом значении различных лабораторных показателей при тяжёлом течении COVID-19. Это поможет определить наиболее значимые маркеры и составить лабораторную карту обследования пациента;
- исследование влияния качества лечения сопутствующих заболеваний на тяжесть течения коронавирусной инфекции;
- изучение иммунологических особенностей у пациентов с сопутствующими заболеваниями и их влияние на течение респираторных инфекций;
- дальнейшее изучение влияния генетических и иммунологических особенностей пациентов на тяжесть течения инфекционного процесса, что позволит расшифровать иммунно-генетические механизмы и определить роль внутренних факторов макроорганизма в патогенезе инфекционного процесса;
- разработка универсальных алгоритмов и математических моделей с использованием технологии искусственного интеллекта для прогнозирования течения и исходов респираторных инфекций.

Список литературы

1. Агеева, Е.С. Частота встречаемости полиморфизма генов C-589T IL4 и G-1082A IL10 у детей с новой коронавирусной инфекцией / Е.С. Агеева, Р.Н. Аблаева, Н.В. Рымаренко [и др.] // Российский иммунологический

журнал. - 2024. - Т. 27, № 2. - С. 323-328. - DOI: 10.46235/1028-7221-16742-FOP.

2. Алексеева, Е.И. COVID-19- индуцированный «цитокиновый шторм» — особая форма синдрома активации макрофагов / Е.И. Алексеева, Р.Ф. Тепаев, И.Ю. Шилькрот [и др.] // Вестник РАМН. – 2021. - 76(1) – С. 51–66. - DOI: 10.15690/vramn1410.
3. Алиева, А.М. Интерлейкин-1 – биологический маркер при сердечной недостаточности / А.М. Алиева, В.А. Кисляков, К.В. Воронкова [и др.] // Архивъ внутренней медицины. – 2022. - 12(6). – С. 422-429. - DOI: 10.20514/2226-6704-2022-12-6-422-429.
4. Анисенкова, А.Ю. Основные прогностические факторы риска цитокинового шторма у пациентов с COVID-19 (ретроспективное клиническое исследование) / А.Ю. Анисенкова, С.В. Апалько, З.П. Асауленко [и др.] // Клиническая практика. – 2021. – Т.12, №1. – С.5-15. - DOI: 10.17816/clinpract63552.
5. Артеьмьева, О.В. Роль полиморфных вариантов генов врожденного иммунитета в долголетии и возраст-ассоцивированных заболеваний / О.В. Артемьева, Л.В. Ганковская // Иммунология. – 2022. – 43 (3). – С. 333-342. – DOI: 10.33 029/0206-4952-2022-43-3-333-342.
6. Ащина Л.А. Прогностическая значимость полиморфизма генов TLR3 и TLR9 в оценке тяжести COVID-19 / Л.А. Ащина, Н.И. Баранова, А.И. Болгова [и др.] // Журнал инфектологии. – 2024. – Т. 16. - №1. – С. 47-55. – DOI: 10.22625/2072-6732-2024-16-1-47-55.
7. Баранова, Н.И. Роль полиморфных вариантов генов цитокинов в прогнозе исходов COVID-19 / Н.И. Баранова, Л.А. Ащина, А.И. Болгова [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2024. - №2. – С.70-74. – DOI: 10.14427/jipai.2024.2.70.
8. Баранова, Н.И. Анализ нежелательных побочных реакций при фармакотерапии COVID-19 / Н.И. Баранова, Л.А. Ащина //

Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2024. – №13, Т.1. – С. 67–72. - DOI: https://doi.org/10.33029/2305-3496- 2024-13-1-67-72.

9. Бадалян, К.Р. COVID-19: долгосрочные последствия для здоровья / К.Р. Бадалян, Э.Ю. Соловьева // Consilium Medicum. - 2021;23(12). – С. 993–999. - DOI: 10.26442/20751753.2021.12.201347.
10. Биличенко, Т.Н. Факторы риска, иммунологические механизмы и биологические маркеры тяжелого течения COVID-19 (обзор исследований) / Т.Н. Биличенко // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2021. – Т. 5, №5. – С. 237-244. - DOI: 10.32364/2587-6821-2021-5-5-237-244.
11. Болгова, А.И. Клинический случай крайне тяжелого течения COVID-19 с благоприятным исходом / А.И. Болгова, Л.А. Ащина, Н.И. Баранова [и др.] // Журнал инфектологии. – 2024. – Т. 16. - №3. – С. 145-150. – DOI: 10.22625/2072-6732-2024-16-3-145-150.
12. Боголепова, А.Н. Когнитивные нарушения после COVID-19: отдаленные последствия / А.Н. Боголепова, Е.А. Коваленко, Е.В. Махнович [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2022/ - 18 (26) – С. 24–30. - DOI 10.33978/2307-3586-2022-18-26-24-30.
13. Временные методические рекомендации "Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 14
14. Временные методические рекомендации "Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)". Версия 7
15. Временные методические рекомендации "Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)". Версия 15».
16. Временные методические рекомендации "Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 17».
17. Временные методические рекомендации "Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 11»
18. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 18»

19. Временные методические рекомендации "Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)". Версия 3»
20. Галимова, Э.С. Миссенсмутация Gln11Leu гена Toll-подобного рецептора 7 и предрасположенность к псориазу» / Э.С. Галимова, К. Кинго, С. Кокс // Медицинская иммунология. - 2017. - Т. 19, № 3. - С. 267-274. - DOI: 10.15789/1563-0625-2017-3-267-274.
21. Грибакина, О.Г. Фармакокинетические взаимодействия лекарственных веществ, метаболизируемых изоферментом цитохрома Р450 CYP2C9/ О.Г. Грибакина, Г.Б. Колыванов, А.А. Литвин и [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2016. – №1. – С. 21–32. – DOI: 10.30906/0869-2092-2015-78-12-18-22.
22. Дрягина, Н. В. Прогностическая значимость лабораторных показателей в определении тяжести течения и исхода новой коронавирусной инфекции (COVID-19) / Н.В. Дрягина, Н. А. Лестева, А. А. Денисова [и др.] // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2023. – Т. 20, № 2. – С. 54–65. - DOI: 10.24884/2078-5658-2022-20-2-54-65.
23. Жиленкова, Ю.И. Клинико-патогенетическое значение определения ферритина сыворотки при коронавирусной инфекции (COVID-19) / Ю.И. Жиленкова, Н.Ю. Черныш // Лабораторная служба. -2021. - 10(4). – С.41–46. – DOI: 10.17116/labs20211004141.
24. Зорина, В.В. Некоторые генетические маркеры, ассоциированные с тяжестью течения COVID-19 у человека / В.В. Зорина, А.Д. Худякова, Е.В. Гарбузова // Профилактическая медицина. – 2023. - 26(12). – С.121–127. DOI: 10.17116/profmed202326121121.
25. Ивашкин, В.Т. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) и система органов пищеварения / В.Т. Ивашкин, А.А. Шептулин, О.Ю. Зольникова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2020. - Т. 30(3). – С. 7–13. – DOI: 10.22416/1382-4376-2020-30-3-7.

26. Ильченко, Л.Ю. COVID-19 и поражение печени / Л.Ю. Ильченко, И.Г. Никитин, И.Г. Федоров // Архивъ внутренней медицины. – 2020. - 10(3). – С. 188–197. – DOI: 10.20514/2226-6704-2020-10- 3-188-197.
27. Ищенко, О.В. Хроническая обструктивная болезнь легких и курение при COVID-19 / О.В. Ищенко // Иммунопатология, аллергология, инфектология. - 2021. - Том№1. – С. 39-47. - DOI: 10.14427/jipai.2021.1.39
28. Кантемирова, Б. И. Сравнительная оценка влияния носительства полиморфизма генов CYP2C19, CYP2C9, CYP4F2 на клинико-лабораторные особенности пациентов с острым коронарным синдромом / Б.И. Кантемирова, М.А. Абдуллаев, Е.Н. Чернышева [и др.] // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2023. – №1. – С. 46–55. – DOI: 10.37489/2588-0527-2023-1-46-55.
29. Карпович, Г.С. Определение спонтанной и стимулированной продукции цитокинов в культуре клеток у пациентов с COVID-19 ассоциированным мультисистемным воспалительным синдромом // Г.С. Карпович, И.В. Куимова, Т.И. Рябиченко [и др.] // Детские инфекции. - 2024. - 23(4):29-34. - DOI: 10.22627/2072-8107-2024-23-4-29-34
30. Кичигин, В.А., Прогностическая значимость клинических и лабораторных показателей при новой коронавирусной инфекции COVID-19 / В.А. Кичигин, Абызов А.С., Орешников Е.В. [и др] // Acta medica Eurasica. – 2022. – № 3. – С. 20–28. – DOI: 10.47026/2413-4864-2022-3-20-28.
31. Кузник, Б. И. Изменения состояния жизненно важных систем организма при Long-COVID-19 / Б. И. Кузник, К. Г. Шаповалов, Н. И. Чалисова // Успехи современной биологии. – 2023. - Т. 143. № 1. – С. 38-51. – DOI: 10.31857/S0042132423010052.
32. Лебедкина, М.С. Применение комбинации вируснейтрализующих моноклональных антител касиривимаба и имдевимаба при легком и

среднетяжелом течении COVID-19 у пациентов с высоким риском прогрессии. Результаты неинтервенционного наблюдательного исследования. / М. С. Лебедкина, Д. С. Фомина, З. Ю. Мутовина [и др.] // Терапевтический архив. – 2023. – Т. 95, № 6. – С. 494–499. – DOI: 10.26442/00403660.2023.06.202297.

33. Леонова, М.В. Перепрофилированные противомикробные и противовирусные препараты для лечения COVID-19: безопасность и побочные эффекты в реальной клинической практике (научный обзор) / Леонова М.В. // Consilium Medicum. – 2022. – Т.24, №9. – С. 567– 573. – DOI: 10.26442/20751753.2022.9.201763.
34. Матвеев, А.В. Безопасность ингибиторов РНК-зависимой РНК-полимеразы COVID-19 по данным спонтанных сообщений / А. В. Матвеев, К. Б. Мирзаев, Д. А. Сычев [и др.] // Вестник Росздравнадзора. – 2022. – № 6. – С. 11–19. – DOI: 10.37489/2588-0519-2020-S4-106-114.
35. Малинка, Т.В. Диагностические предикторы тяжелого течения инфекции COVID-19/ Т.В. Малинка, Д.И. Крачак, С.С. Галицкая [и др.] / Медицинские новости. – 2021. – №1. – С.72–75. - DOI: 10.15829/1560-4071-2022-5279
36. Мищенко, Т.А. Предикторы тяжелого течения новой коронавирусной инфекции (COVID-19): дизайн исследования / Т.А. Мищенко, П.А. Ермакова, А.А. Ермакова [и др.]. - Терапевтический архив. – 2022. - 94(11):1246–1251. - DOI: 10.26442/004036 60.2022.11.201402.
37. Мироманова, Н.А. Значение полиморфизма гена интерлейкина-17 в патогенезе гриппа у детей / Н.А. Мироманова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2013, 6(94). – С. 33-37. – DOI: 10.22625/2072-6732-2013-5-4-30-35.
38. Новицкая, Я.Г. Изоформа CYP1A2, как составная часть суперсемейства цитохрома Р450 / Я.Г. Новицкая, В.П. Жердев, А.О. Виглинская, А.А. Литвин // Фармакокинетика и Фармакодинамика. – 2014. – №1. – С. 4–13.

39. Никонова, А. А. Генетическое разнообразие и эволюция биологических свойств коронавируса SARS-CoV-2 в условиях глобального распространения / А. А. Никонова, Е. Б. Файзулоев, А. В. Грачева [и др.] // ACTA NATURAE. – 2021. - ТОМ 13 № 3 (50). - С. 77-89. – DOI: 10.32607.
40. Образцов, И.В. Оценка функциональной активности нейтрофилов цельной крови методом двухстадийной стимуляции: новый подход к хемилюминесцентному анализу / И.В. Образцов, М.А. Годков, А.М. Полимова [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2015. - Том 9(18), № 4. - С. 418–425.
41. Орлова О. А. Организация эпидемиологической диагностики вентилятор-ассоциированных инфекций дыхательных путей / О. А. Орлова, В. Г. Акимкин // Медицинский алфавит. – 2017. – Т. 30, № 3. – С. 15–19.
42. Орлова, С. Н. Факторы риска неблагоприятного течения новой коронавирусной инфекции/ С. Н. Орлова, Н. Н. Шибачева, С. А. Машин [и др.] // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2021. - Т. 26, № 1. – С.21-27. - DOI 10.52246/1606-8157-2021-26-1-21.
43. Патент №2779454. Способ прогнозирования тяжести COVID-19: №2022112827: заявл. 12.05.2022: опубл. 07.09.2022 / Кирюхин А.И., Имашева Г.В., Константинов Д.Ю. [и др.]; заявитель, патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 10 стр.].
44. Патент №2754776. Способ клинико-лабораторного прогнозирования тяжести COVID-19: № 2021115333: заявл. 27.05.2021: опубл. 07.09.2021 / Константинов Д.Ю., Недугов Г.В., Попова Л.Л. [и др.]; заявитель, патентообладатель Федеральное государственное бюджетное

образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 7 стр

45. Патент №2789426. Способ экспресс-диагностики степени тяжести пневмонии при COVID-19: №2022115834: заявл. 10.06.2022: опубл. 02.02.2023 / Гасанов К.Г., Кчибеков Э.А., Тхохова Е.Н. [и др.]; заявитель, патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Астраханский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 13 стр
46. Петров, В.И. Этиопатогенетические аспекты повреждения печения у пациентов в COVID-19 / В.И. Петров, А.В. Пономарева, И.В. Ивахненко [и др.] // Вестник ВолгГМУ. – 2020. - Выпуск 4 (76). – С. 9-12. - DOI: 10.19163/1994-9480-2020-4(76)-9-15.
47. Поляков, В.Я. Предикторы неблагоприятного течения COVID-19/ В.Я. Поляков, Ю.А. Николаев, Ж.А. Гарина [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2023. - 43(4). – С. 139–145. - DOI: 10.18699/SSMJ20230415.
48. Селицкая, О.П. Современные представления о клинической и лабораторной характеристике цитокинового шторма у пациентов с COVID-19 и возможности его интенсивной терапии / О.П. Селицкая, М.Л. Доценко, С.С. Грачев – Рецепт. – 2022. - Том 25, № 6 – С. 821-834. – DOI: 10.34883/pi.2022.25.6.009.
49. Синякин, И.А. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе COVID-19 / И.А. Синякин, И.А. Андриевская, Н.А. Ишутина [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. - 2021. - Вып.82. - С.107– 115. - DOI: 10.36604/1998-5029- 2021-82-107-115.
50. Слуханчук, Е.В. Внеклеточные ловушки нейтрофилов как маркеры тромбовоспаления в патогенезе злокачественных новообразований женских половых органов и молочной железы / Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, А.Г. Солопова [и др.] // Акушерство, Гинекология и

Репродукция. – 2022/ - 16(4). – С. 426–437. – DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.335.

51. Смирнов, В.С. Врождённый иммунитет при коронавирусной инфекции / В.С. Смирнов, А.А. Тотолян // Инфекция и иммунитет. – 2020 – Том 10, №2. – С. 259–268. – DOI: 10.15789/2220-7619-III-1440.
52. Сокологорский, С. В. Факторы риска и методы прогнозирования клинического исхода COVID-19 (обзор) / С.В. Сокологорский, А. М. Овечкин, И. В. Хапов [и др.] / Общая реаниматология. – 2022. - 18 (1): 31–38. – DOI: 10.15360/1813-9779-2022-1-31-38.
53. Счастливенко, А.И. Поражение почек при инфекции COVID-19 / А.И. Счастливенко, Л.Р. Выхристенко, Е.В. Бондарева [и др.] // Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 7-23. DOI: 10.22263/2312-4156.2021.1.7.
54. Терещенко, И.В. Фактор некроза опухоли α и его роль в патологии / И.В. Терещенко, П.Е. Каюшев // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2022. - 6(9). – С. 523-527. - DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-9-523-52.
55. Траспов, А.А. Полиморфизмы RS17713054 и RS1800629 генов LZTFL1 и TNF ассоциированы с тяжестью течения COVID-19 / А.А. Траспов, М.М. Минашкин, С.В. Поярков, А.Г. Комаров [и др.] // Вестник РГМУ. – 2022. – № 6. – С. 35–40. DOI: 10.24075/vrgmu.2022.065.
56. Черешнева, Н.Д. Влияние вакцинации и сопутствующей патологии на тяжесть течения COVID-19 у пожилых пациентов (Медико-социальное исследование// Черешнева Н.Д., Тимошилов В.И. - Медико-фармацевтический журнал "Пульс". - 2022. - Т.24. №5. - С. 88-94. - DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-5-88-94.
57. Шикалова, И.А. Нарушение обмена железа — универсальный патогенетический фактор в поражении органов и систем при COVID-19 / И.А. Шикалова, И.А. Вознюк, А.Н. Лодягин [и др.] // Журнал им. Н.В. Склифосовского. Неотложная медицинская помощь. – 2021. - 10 (2): 259-267. – DOI: 10.23934/2223-9022-2021-10-2-259-267.

58. Яцков, И.А. Концентрация липополисахарид-связывающего белка и пресепсина у пациентов с вирусным поражением легких SARS-CoV-2, проживающих в Республике Крым / И.А. Яцков, В.А. Белоглазов, А.В. Кубышкин [и др.] // Пульмонология. - 2022. - Т. 32, № 2. - С. 162-170. – DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-2-162-170.
59. Ackermann, M. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in COVID-19 / M. Ackermann, SE Verleden, M Kuehnel [et al.] // N Engl J Med. – 2020. – Vol. 383, No. 2. – P. 120-8. – DOI:10.1056/NEJMoa2015432.
60. Adekunle, S Comorbidity and its Impact on Patients with COVID-19 / S. Adekunle, O. Chuku, A. Marinkovic [et al.] // SN Compr Clin Med. – 2020. – Vol. 2(8). P. 1069-1076. – DOI: 10.1007/s42399-020-00363-4.
61. Ahmed, S Presepsin as a Predictive Biomarker of Severity in COVID-19 / S. Ahmed, M. Mansoor, MS. Shaikh [et al.] // Systematic Review. Indian J Crit Care Med. – 2021. – Vol. 25(9). P. 1051-1054. – DOI: 10.5005/jp-journals-10071-23967.
62. Akhtar, H COVID-19 and diabetes: knowledge in progress / H. Akhtar, B. Bishwajit, C. Nayla // Diabetes Research and Clinical Practice. – 2020. – P. 162. - DOI: 10.1016/ j.diabres.2020.108142.
63. Alotaibi, M. Effectiveness and Safety of Favipiravir Compared to Hydroxychloroquine for Management of Covid-19: A Retrospective Study Int / M. Alotaibi, A. Ali, D.B. Alatawi, S. Alotaibi, [et al.] // J Gen Med. – 2021. – Vol.14. –P.5597–5606. – DOI: 10.2147/IJGM.S329881.
64. Alshabeeb, M. A. Pharmacogenes that demonstrate high association evidence according to CPIC, DPWG, and PharmGKB / M.A. Alshabeeb, M. Alyabsi, M. A. Aziz, S. Abohelaika // Front. in Med. – 2022. – Vol. 9. – P. 1–12. – DOI: 10.3389/fmed.2022.1001876.
65. Alhabibi, AM Impact of Toll-Like Receptor 2 and 9 Gene Polymorphisms on COVID-19 / AM. Alhabibi, AS. Hassan, Abd Elbaky [et al.] //

Susceptibility, Severity and Thrombosis. – 2023. – Vol. 16. – P. 665-675. - DOI: 0.2147/JIR.S394927.

66. Almeida, NBF Variant-dependent oxidative and cytokine responses of human neutrophils to SARS-CoV-2 spike protein and anti-spike IgG1 antibodies / NBF. Almeida, KM. Fantone, D. Sarr [et al.] // Front Immunol. – 2023. – Vol.14:1255003. - DOI: 10.3389/fimmu.2023.1255003.
67. Alseoudy, MM. Prognostic impact of toll-like receptors gene polymorphism on outcome of COVID-19 pneumonia: A case-control study / MM. Alseoudy, M. Elgamal, DA. Abdelghany [et al.] // Clin Immunol. – 2022. – Vol. 235. - DOI: 10.1016/j.clim.2022.108929.
68. Al-Tamimi, ZHD Effect of Toll-Like Receptor 7 Gene Polymorphism and ABO Blood Groups on the Severity of COVID-19 Patients / ZHD. Al-Tamimi, AH. Alta'ee, AH. Jasim // Acta Inform Med. – 2022. - Vol. 30(3). – P.191-195. - DOI: 10.5455/aim.2022.30.191-195.
69. Ameesh Isath. Nationwide Analysis of the Outcomes and Mortality of Hospitalized COVID-19 Patients / Isath Ameesh, Aaqib H Malik, Akshay Goel [et al.] // Curr Probl Cardiol. – 2023. – Vol. 48, No. 2. – P. 101440. – DOI: 10.1016/j.cpcardiol.2022.101440.
70. Ameesh, Isath Nationwide Analysis of the Outcomes and Mortality of Hospitalized COVID-19 Patients / Isath Ameesh, H Malik Aaqib, Goel Akshay [et al.] // Curr Probl Cardiol. – 2021. – Vol. 5(5). P. 237-244. – DOI: 10.1016/j.cpcardiol.2022.101440.
71. Ashwaghosha, Parthasarathi The Role of Neutrophil-to-ymphocyte Ratio in Risk Stratification and Prognostication of COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis / Parthasarathi Ashwaghosha, Padukudru Sunag, Arunachal Sumalata [et al.]. – 2022. Vol.10. – P.1233. – DOI: 10.3390/vaccines10081233.
72. Asano ,T. X-linked recessive TLR7 deficiency in ~1% of men under 60 years old with life-threatening COVID-19 / T.Asano, B. Boisson, F. Onodi [et al.]

// Sci. Immunol. – 2021. Vol. 6(62). P.4348. - DOI: 10.1126/sciimmunol.abl4348.

73. Bao, Y. Omics-Assisted Biomarkers Identification and Docking-Based Therapeutic Exploration of Moringa Phytoconstituents in Chronic Obstructive Pulmonary Disease/ Basavaraj Mallikarjunayya Vastrad, Shivaling Pattanashetti, Chanabasayya Vastrad [et al.] // Am J Respir Cell Mol Biol. – 2019. – Vol. 61(2). – P. 143-149. - DOI: 10.21203/rs.3.rs-7522725/v1.
74. D, Bajić Prognostic Role of Monocyte Distribution Width, CRP, Procalcitonin and Lactate as Sepsis Biomarkers in Critically Ill COVID-19 Patients / D. Bajić, J. Matijašević, Andrijević [et al.] // J. Clin. Med. – 2023. – Vol. 12 (3). – P. 1197. – DOI: 10/3390/jcm12031197.
75. Barbosa, M.X.S. Pentraxin-3 (PTX-3) as a potential biomarker for predicting death in hospitalized patients with COVID-19 / M.X.S. Barbosa, da Costa Armstrong, A. de Souza [et al.] // Virol J. – 2024. – Vol. 21(1):233. – DOI: 10.1186/s12985-024-02501-z.
76. B, Bayyurt Relationship of Toll-Like Receptor 7, 9, and 10 Polymorphisms and the Severity of Coronavirus Disease 2019 / Bayyurt B, Baltacı S, Şahin NÖ [ey al.] // Jpn J Infect Dis. – 2024. – Vol. 77(3). – P. 161-168. - DOI: 10.7883/yoken.JJID.2023.411.
77. Bennett Tellen D. Clinical Characterization and Prediction of Clinical Severity of SARS-CoV-2 Infection Among US Adults Using Data From the US National COVID Cohort Collaborative. / Tellen D Bennett, Richard A Moffit, Janos G Hajagos [et al.] // Jama Netw Open. – 2021. – T. 4, No. 7. – P. 2116901. – Doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.16901
78. Beeching N. J. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) / N. J. Beeching, T. E. Fletcher, R. Fowler // BMJ. – 2020 Apr. – Vol. 369. – P. 1403
79. Bortolotti, Bernardo Sovereign Wealth Funds and the COVID-19 shock: Economic and Financial Resilience in Resource-Rich Countries / Bernardo

Bortolotti, Veljko Fotak // SSRN Electronic Journal. – 2020. - DOI:10.2139/ssrn.3665993

80. GFG, Bezemer TLR9 and COVID-19: A Multidisciplinary Theory of a Multifaceted Therapeutic Target. Front Pharmacol / Bezemer GFG, Garssen J // Front Pharmacol. – 2021. - DOI: 10.3389/fphar.2020.601685.
81. Bwire, George M Coronavirus: Why Men are More Vulnerable to Covid-19 Than Women. / George M Bwire // SN Compr Clin Med. – 2020. – T. 2, No.7. – P. 874–876. – DOI: 10.1007/s42399-020-00341-w
82. Burhamah W. Prognostic Factors and Predictors of In-Hospital Mortality Among COVID-19 Patients Admitted to the Intensive Care Unit: An Aid for Triage, Counseling, and Resource Allocation / W. Burhamah, I. Qahi, M. Oroszlányová [et al.] // Ann Lab Med. – 2022. – T. 42, No. 4. – P. 406-414. – DOI:10.7759/cureus.16577.
83. M, Braga Association between polymorphisms in TLR3, TICAM1 and IFNA1 genes and covid-19 severity in Southern Brazil / Braga M, Shiga MAS, Silva PES [et al.] // Expert Rev Mol Diagn. – 2024. – Vol. 24(6). – P.525-531. - DOI: 10.1080/14737159.2024.2367466.
84. V.Carlini The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions / Carlini V., Noonan D.M., Abdalalem E // Front. Immunol. – 2023. - Vol. 14, 1161067. - DOI: 10.3389/fimmu.2023.1161067.
85. Chen, G Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. / G Chen, Wu D, Guo W [et al.] // Clin Invest. - 2020. – T. 130, No. 5. – P. 2620–2629. – doi: 10.1172/JCI137244.
86. Chakraborty, C. Agoramoorthy G. COVID-19: Consider IL-6 receptor antagonist for the therapy of cytokine storm syndrome in SARS-CoV-2 infected patients /C. Chakraborty, A.R. Sharma, M. Bhattacharya, [et al.] // J Med Virol. –2020. – Vol. 92, N.11. – P.2260–2262. – DOI: doi: 10.1002/jmv.26078.

87. G, Chen Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019 / Chen G, Wu D, Guo W [et al.] // J Clin Invest. - 2020. – Vol. 130(5). P. 2620-2629. – DOI: 10.1172/JCI137244.
88. Wu, Chaomin Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China / Chaomin Wu, Xiaoyan Chen, Yanping Cai [et al.] // AMA Intern Med. – 2020. – Vol. 180(7). – P. 934-943. - DOI: 10.1001/jamainternmed.2020.0994.
89. F.Chiappelli CoViD-19 Immunopathology and Immunotherapy / Chiappelli F., Khakshooy A., Greenberg G. // Bioinformation 2020; Vol. 16(3). P. 219–22. – DOI: 10.6026/97320630016219.
90. C. Chakraborty COVID-19: Consider IL-6 receptor antagonist for the therapy of cytokine storm syndrome in SARS-CoV-2 infected patients /C. Chakraborty, A.R. Sharma, M. Bhattacharya, [et al.] // J Med Virol. –2020. – Vol. 92, N.11. – P.2260–2262. - DOI: 10.1002/jmv.26078.
91. L, Cifaldi Inhibition of natural killer cell cytotoxicity by interleukin-6: implications for the pathogenesis of macrophage activation syndrome / Cifaldi L, Prencipe G, Caiello I [et al.] // Arthritis Rheumatol Hoboken NJ. - 2015/ - Vol. 67. – P.3037–3046. - DOI: 10.1002/art.39295.
92. Clark D. Clinical evidence does not support corticosteroid treatment for 2019-nCoV lung injury / Clark D Russell , Jonathan E Millar , J Kenneth Baillie // Lancet. – 2020 Feb 15. – T. 395, No. 10223. – P. 473-475. – DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30317-2.
93. Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected / World Health Organization. – [Электронный ресурс]. – URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/clinical-management -of-novel-cov.pdf?sfvrsn=bc7da517_10 &download=true
94. Ke, Yani Clinical Utility of Circulating Pentraxin 3 as a Prognostic Biomarker in Coronavirus Disease 2019: A Systematic Review and Meta-

analysis / Yani Ke, Kaihan Wu, Chenglu Shen [et al.] // Infect Dis Ther. - 2023. – T. 12(1). P. 67-80. - DOI: 10.1007/s40121-022-00730-9.

95. S, Croci The polymorphism L412F in TLR3 inhibits autophagy and is a marker of severe COVID-19 in males / Croci S, Venneri MA, Mantovani S [et al.] // Autophagy. – 2022. – T. 18(7). – P. 1662-1672. - DOI: 10.1080/15548627.2021.1995152.
96. Mullol, Joaquim The Loss of Smell and Taste in the COVID-19 Outbreak: a Tale of Many Countries / Joaquim Mullol, Isam Alobid, Franklin Mariño-Sánchez [et al.] // Curr Allergy Asthma Rep. – 2020. – T. 20(10):61. - DOI: 10.1007/s11882-020-00961-1.
97. DM, Del Valle An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival / Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH // Nat Med. – 2020. – T. 26(10). P. 1636-1643. – DOI: 10.1038/s41591-020-1051-9.
98. P, Delgado-Wicke Genetic variants regulating the immune response improve the prediction of COVID-19 severity provided by clinical variables / Delgado-Wicke P, Fernández de Córdoba-Oñate S, Roy-Vallejo E // Sci Rep. – 2024. – T. 14(1):20728. - DOI: 10.1038/s41598-024-71476-2.
99. A.A.N. Dhabaan Polymorphisms of IFN-γ T/A+ 874 gene and relationship with COVID 19 in Iraqi population // Dhabaan A.A.N., Alwan M.H. // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. - 2021. - Vol. 790. - N 1. - DOI: 10.1038/s41598-024-71476-2.
100. McKenna, Ellen Neutrophils in COVID-19: Not Innocent Bystanders / Ellen McKenna, Richard Wubben, Johana M. Isaza-Correa // Front. Immunol. – Vol. 13 – 2022. – DOI: 10.3389/fimmu.2022.864387.
101. SM, El-Hefnawy COVID-19 susceptibility, severity, clinical outcome and Toll-like receptor (7) mRNA expression driven by TLR7 gene polymorphism (rs3853839) in middle-aged individuals without previous comorbidities / El-Hefnawy SM, Eid HA, Mostafa RG [et al.] // Gene Rep. - 2022. – Vol. 27:101612. – DOI: 10.1016/j.genrep.2022.101612.

102. Ifeanyi, Obeagu Emmanuel Thromboinflammation in COVID-19 Unraveling the interplay of coagulation and inflammation / Emmanuel Ifeanyi Obeagu 1 , Getrude Uzoma Obeagu // Medicine (Baltimore). – 2024. – P.103(28):e38922. – DOI: 10.1097/MD.0000000000038922.

103. O, Evlice Association of Serum Krebs von den Lungen-6 (KL-6) Levels and Disease Severity in Patients Hospitalized with COVID-19 / Evlice O, Bektaş M, Kar F // Infect Dis Clin Microbiol. – 2023. – V. 5(4). P. 292-299. - DOI: 10.36519/idcm.2023.260.

104. Fallerini C., Association of toll-like receptor 7 variants with life-threatening COVID-19 disease in males: findings from a nested case-control study / Fallerini C., Daga S., Mantovani S [et al.] // Elife. - 2021. V. 10: e67569. - DOI: 10.7554/eLife.67569.

105. Ferrara J.L. Cytokine dysregulation as a mechanism of graft versus host disease // Curr. Opin. Immunol. - 1993. - V. 5(5). - P. 794. DOI: 10.1016/0952-7915(93)90139-j.

106. J, Flores-González Variants rs3804099 and rs3804100 in the TLR2 Gene Induce Different Profiles of TLR-2 Expression and Cytokines in Response to Spike of SARS-CoV-2 / Flores-González J, Monroy-Rodríguez Z, Falfán-Valencia R. [et al.] // Int J. – 2024. – V. 15;25(20):11063. - DOI: 10.3390/ijms252011063.

107. Furuta Y. Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase / Y. Furuta, T. Komeno, T. Nakamura // Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. – 2017. – Vol. 93, N 7. – P. 449–463. - DOI: 10.2183/pjab.93.027.

108. Gao J. Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. /J. Gao, Z. Tian, X.Yang // BioScience Trends. – 2020. – Vol. 14, N 1. – P. 72–73. - DOI: 10.5582/bst.2020.01047.

109. Galindo I. TNFRSF1B and TNF variants are associated with differences in soluble TNF receptors' levels in patients with severe

COVID-19 / I. Galindo, I. Fricke Buendía Roldán, A. Ruiz [et al.]. // J Infect Dis. – 2022 Sep. 13. – T.226, No.5. – P. 778-787. – DOI: 10.1093/infdis/jiac101.

110. C., Gabay IL-1 pathways in inflammation and human diseases / Gabay C., Lamacchia C., Palmer G // Nat Rev Rheumatol. - 2010. - V. 6. – P. 232–41. - DOI: 10.1038/nrrheum.2010.4.

111. M Bwire, George Coronavirus: Why Men are More Vulnerable to Covid-19 Than Women? / George M Bwire // SN Compr Clin Med. – 2020. – V.2(7). – P. 874-876. - DOI: 10.1007/s42399-020-00341-w.

112. F. G., Gillina Bezemer TLR9 and COVID-19: A Multidisciplinary Theory of a Multifaceted Therapeutic Target / Gillina F. G. Bezemer, Johan Garssen // Front. Pharmacol. – 2021. – Vol.11. - DOI: 10.3389/fphar.2020.601685.

113. J, Gómez The interferon-induced transmembrane protein 3 gene (IFITM3) rs12252 C variant is associated with COVID-19 / Gómez J, Albaiceta GM, Cuesta-Llavona E [et al.] - Cytokine. – 2021. – Vol. 137:155354. - DOI: 10.1016/j.cyto.2020.155354.

114. Gupta, K Systematic review and meta-analysis of human genetic variants contributing to COVID-19 susceptibility and severity / K Gupta, Kaur G, Pathak T [et al.] // Meta-Analysis. – 2022. – T. 844. – P. 146790. – DOI: 10.1016/j.gene.2022.146790

115. Chen, Guang Clinical and immunological features of severe and moderat. onavirus disease 2019 / Guang Chen, Di Wu, Wei Guo [et al.] // J Clin Invest. – 2020. Vol. 130(5). – P.2620–2629. - DOI: 10.1172/JCI137244.

116. SX, Gu Thrombocytopathy and endotheliopathy: crucial contributors to COVID-19 thromboinflammation / Sean X Gu, Tarun Tyagi, Kanika Jain // Nat Rev Cardiol. – 2021. Vol. 18(3). P.194-209. - doi: 10.1038/s41569-020-00469-1.

117. Chen, Guang Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019 / Guang Chen, Di Wu, Wei Guo // J Clin Invest. – 2020. Vol. 130(5). – P. 2620-2629. - DOI: 10.1172/JCI137244.

118. L., Han SARS-CoV-2 ORF9b antagonizes type I and III interferons by targeting multiple components of the RIG-I/MDA-5–MAVS, TLR3–TRIF, and cGAS–STING signaling pathways / Han L., Zhuang M.W., Deng J. [et al.] // J Med Virol. – 2021. – Vol. 93(9). P. 5376–89. – DOI: 10.1002/jmv.27050.

119. Karadeniz, Hazan The Prognostic Value of Lung Injury and Fibrosis Markers, KL-6, TGF-β1, FGF-2 in COVID-19 Patients / Hazan Karadeniz, Aslıhan Avanoğlu Güler, Hasan Selçuk Özger [et al.] // Biomark Insights. - 2022. - 7:17:11772719221135443. - DOI: 10.1177/11772719221135443.

120. N., Hasheminia ACE2 gene polymorphisms and medical implications in COVID-19: a comparative study between intensive care unit (ICU) and outpatient settings / Hasheminia, N., Hassani, S., Ebrahimi, F. [et al.] // Discov Med. - 2025. – V. 49(5). – P. 325-332. – DOI:10.1007/s44337-025-00324-7.

121. Huang, D. Efficacy and safety of umifenovir for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis / D. Huang, H. Yu, T. Wang [et al.] // J Med Virol. – 2021. – Vol. 93, N 1. – P. 481–490. - DOI: 10.1002/jmv.26256.

122. Liu, Yali Combination of Chest Computed Tomography Value and Clinical Laboratory Data for the Prognostic Risk Evaluation of Patients with COVID-19 / Yali Liu, Zhihong Qi, Meirong Bai [et al.] // Int J Gen Med. - 2023. – Vol. 16. – P. 3829-3842. - DOI: 10.2147/IJGM.S425567.

123. G Hajagos, Janos Clinical Characterization and Prediction of Clinical Severity of SARS-CoV-2 Infection Among US Adults Using Data From the US National COVID Cohort Collaborative / Janos G Hajagos, Tellen D Bennett 1 , Richard A Moffitt [et al.] // JAMA Netw Open. – 2021. – Vol. 4(7):e2116901. - DOI: 10.1001/jamanetworkopen.

124. Qi Yip, Jia The role of inflammatory gene polymorphisms in severe COVID-19: a review / Jia Qi Yip, Adrian Oo, Yan Ling Ng [et al.] //. Virol J. – Vol. 21(1). – P. 327. – DOI: 10.1186/s12985-024-02597-3.

125. Helms, Julie High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study / Julie Helms, Charles Tacquard, François Severac [et al.] // Intensive Care Med. – 2020. – Vol. 46(6). – P.1089–1098. - DOI: 10.1007/s00134-020-06062-x.

126. Kawai, T The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on Toll-like receptors / Nat Immunol. – 2010. Vol. 11(5). – P. 373-84. – DOI: 10.1038/ni.1863.

127. F., Kerget Frequency of Interleukin-6 rs1800795 (-174G/C) and rs1800797 (-597G/A) Polymorphisms in COVID-19 Patients in Turkey Who Develop Macrophage Activation Syndrome / Kerget F., Kerget B. // Japanese Journal of Infectious Diseases. - 2021. - Vol. 74. - No. 6. - P. 543—548. – DOI: 10.7883/yoken.JJID.2021.046.

128. S., Khanmohammadi Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19 / Khanmohammadi, S.; Rezaei, N. // J. Med. Virol. – 2021. – Vol. 93. – P. 2735–2739. - DOI: 10.1002/jmv.26826.

129. Kochi A.N. Cardiac and arrhythmic complications in patients with COVID-19 / A.N. Kochi, Tagliari A.P., Forleo G.B. [et al.] // J Cardiovasc Electrophysiol. - 2020. – T. 31 No.5. – P. 1003-1008. - DOI:10.1111/jce.14479

130. Dhama Kuldeep Coronavirus Disease 2019-COVID-19 / Kuldeep Dhama, Sharun Khan, Ruchi Tiwari [et al.] // Clin Microbiol Rev. – 2020. – Vol. 33(4):e00028-20. - DOI: 10.1128/CMR.00028-20.

131. Lai C. C. Se vere acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges / C. C. Lai, T. P. Shih, W. C. Ko [et al] // Int J Antimicrob Agents. – 2020. – Vol. 55, N 3. – P. 105924. – DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105924.

132. L., Lansbury Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis / Lansbury L., Lim B., Baskaran V. [et al.] // J Infect. – 2020. – Vol. 81(2). – P. 266-75. - DOI: 10.1016/j. jinf.2020.05.046.

133. Chrostek, Lech Acute-phase proteins as indicators of disease severity and mortality in COVID-19 patients / Lech Chrostek, Kacper Gan, Marcin Kazberuk [et al.] // Sci Rep. – 2024. – Vol. 14(1):20360. - DOI: 10.1038/s41598-024-71325-2.

134. G., Lippi Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: a meta-analysis / Giuseppe Lippi, Mario Plebani, Brandon Michael Henry [et al.] // Clin Chim Acta – 2020. – Vol. 506. – P. 145-148. - DOI: 10.1016/j.cca.2020.03.022.

135. N-N, Liu COVID-19 pandemic: experiences in China and implications for its prevention and treatment worldwide / Liu N-N, Tan J-C, Li J. [et al.] // Curr Cancer Drug Targets. – 2020. – Vol. 20(6). – P. 410-416. - DOI: 10.2174/1568009620666200414151419.

136. Y,Liu Elevated plasma levels of selective cytokines in COVID-19 patients reflect viral load and lung injury / Liu Y, Zhang C, Huang F [et al.] // Natl Sci Rev. – 2020. – Vol. 7(6). – P.1003-1011. - DOI: 10.1093/nsr/nwaa037.

137. Lin S. Crystal structure of SARS-CoV-2 nsp10 bound to nsp14-ExoN domain reveals an exoribonuclease with both structural and functional integrity. / Lin S., Chen H., Chen Z. [et al.] // Nucleic Acids Res. – 2021. – Vol. 49. – № 9. – P. 5382−5392. - DOI: 10.1016/j.it.2020.10.012

138. de Guadiana Romualdo, Luis García Circulating levels of GDF-15 and calprotectin for prediction of in-hospital mortality in COVID-19 patients: A case series / Luis García de Guadiana Romualdo, Mulero MDR, Olivo MH [et al.] // J Infect.- 2021. Vol. 82(2). – P. e40-e42. - DOI: 10.1016/j.jinf.2020.08.010.

139. Martínez-Gómez, L.E. Implication of myddosome complex genetic variants in outcome severity of COVID-19 patients / L.E. Martínez-Gómez,

C. Martinez-Armenta, G. Medina-Luna, M.L. Ordoñez-ánchez [et al.] / Journal of Microbiology, Immunology and Infection. – 2023. – Vol. 56, N.5. – 939–950. - DOI: 10.1016/j.jmii.2023.06.002.

140. Cascella, Marco Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19) / Marco Cascella, Michael Rajnik, Abdul [et al.] // Aleem In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025.

141. S., Maruyama Peak value of serum KL-6 may be useful for predicting poor prognosis of severe COVID-19 patients / Maruyama S, Nakamori Y, Nakano H. [et al.] // Eur J Med Res. – 2022. – Vol. 27(1). – P. 69. - DOI: 10.1186/s40001-022-00690-3.

142. Mantovani S. TLRs: Innate Immune Sentries against SARS-CoV-2 / Mantovani S, Oliviero B, Varchetta S. // Infection. Int J Mol Sci. – 2023. – Vol. 24(9). – P. 8065. – DOI: 10.3390/ijms24098065.

143. Marwa Rushdy [1],Marwa S Elsayed [2],Rasha Ahmed [3],Amr G Gaber [4],Riham El-Asady [2] IL-17A) rs2275913; G197A) gene polymorphism as predictor for disease severity and its correlation with IL-17 serum levels in COVID-19 patients. Egypt J Immunol. 2022 Jul;29(3):90-98]

144. Mandal RK, George GP, Mittal RD. Association of Toll-like receptor (TLR) 2, 3 and 9 genes polymorphism with prostate cancer risk in North Indian population. Mol Biol Rep. 2012;39:7263–9

145. Mancini, G. Immunochemical Quantitation of Antigens by Single Radial Immunodiffusion / G. Mancini, A. Carbonaro, J. Heremans // Immunochemistry. – 1965. – Vol. 2, № 3. – P. 234-254

146. Mahmoud M Alseoudy Prognostic impact of toll-like receptors gene polymorphism on outcome of COVID-19 pneumonia: A case-control study // Mahmoud M Alseoudy [a,*], Mohamed Elgamal [b], Dalia A Abdelghany [b], Asmaa M Borg [c], Ahmed El-Mesery [d], Dina Elzeiny [e], Maha O Hammad Clin Immunol . 2022 Jan 19;235:108929. doi: 10.1016/j.clim.2022.108929

147. Marcos Jesse Abrahao Silva Analysis of associations between the TLR3 SNPs rs3775291 and rs3775290 and COVID-19 in a cohort of professionals of Belém-PA, Brazil // Marcos Jesse, Abrahao Silva, Silva Vieira [and other]. - Front. Cell. Infect. Microbiol., 19 December 2023. - Volume 13 - 2023 | https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1320701

148. Manik, M. Role of toll-like receptors in modulation of cytokine storm signaling in SARS-CoV-2-induced COVID-19 / M. Manik, R.K. Singh // J Med. Virol. – 2022. – Vol. 94. – 3. – 869–877

149. McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, et al. The Role of Cytokines including Interleukin-6 in COVID-19 induced Pneumonia and Macrophage Activation Syndrome-Like Disease. Autoimmun Rev. 2020;19:102537. doi: https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102537

150. Miodrag Vučić, Jelena Milenkovic, Boris Djindjic et al. Indicators of stress hematopoiesis in the blood predict COVID-19 progression in patients over 65 years old. Hematology. 2024 Dec;29(1):2311006

151. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ; HLH Across Speciality Collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. Lancet. 2020 Mar 28;395(10229):1033-1034

152. Menezes MCS, Veiga ADM, Martins de Lima T, Kunimi Kubo Ariga S, Vieira Barbeiro H, de Lucena Moreira C, Pinto AAS, Brandao RA, Marchini JF, Alencar JC, Marino LO, Gomez LM, Olsen Saraiva Camara N, Souza HP. Lower peripheral blood Toll-like receptor 3 expression is associated with an unfavorable outcome in severe COVID-19 patients. Sci Rep. 2021 Jul 27;11(1):15223

153. Mogensen TH. Pathogen Recognition and Inflammatory Signaling in Innate Immune Defenses. Clin Microbiol Rev. 2009;22:240–273. doi: https://doi.org/10.1128/CMR.00046-08

154. Moein S, Hashemian MR, Mansourafshar B, et al. Smell dysfunction: a biomarker for COVID-19. Int Forum llergy Rhinol. 2020. doi: 10.1002/alr.22587

155. Nayla C. COVID-19 and diabetes: knowledge in progress. Akhtar H, Bishwajit B, Diabetes Research and Clinical Practice. 2020; 162: 108142. doi: 10.1016/ j.diabres.2020.108142

156. Netea MG, Balkwill F, Chonchol M, et al. A guiding map for inflammation. Nat Immunol. 2017;18:826–831. doi: https://doi.org/10.1038/ni.3790

157. Ng JW, Chong ETJ, Lee PC. An Updated Review on the Role of Single Nucleotide Polymorphisms in COVID-19 Disease Severity: A Global Aspect. Curr Pharm Biotechnol. 2022;23(13):1596-1611

158. Noval RivasMBurtonOTOettgenHCChatilaT. IL-4 Production by Group 2 Innate Lymphoid Cells Promotes Food Allergy by Blocking Regulatory T-Cell Function. J Allergy Clin Immunol (2016) 138(3):801–11.e9. doi: 10.1016/j.jaci.2016.02.030

159. O'Shea JJ, Paul WE. Mechanisms underlying lineage commitment and plasticity of helper CD4+ T cells. Science. 2010 Feb 26;327(5969):1098-102. doi: 10.1126/science

160. Parthasarathi, Ashwaghosha The Role of Neutrophil-to-ymphocyte Ratio in Risk Stratification and Prognostication of COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. / Ashwaghosha Parthasarathi, Sunag Padukudru, Sumalata Arunachal [et al.] // Vaccines. – 2022. – T. 10 – P. 1233. – DOI:10.3390/vaccines10081233/

161. Paudel SS. Systematic Review. A meta-analysis of 2019 novel coronavirus patient clinical characteristics and comorbidities. Systematic Review. Research Square. 2020.].].

162. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome / Z. Xu , L Shi , Y. Wang [et al] // Lancet Respir. Med. – 2020. – Vol. 8, N 4. – P. 420–422

163. Póvoa H.C.C. COVID-19: An Alert to Ventilator-Associated Bacterial Pneumonia / H. C. C. Póvoa, G. C. Chianca, N. L. P. Povoa // Infect Dis Ther. – 2020. Vol. 9, N 3. – P. 417–420

164. Qiurong Ruan, Kun Yang, Wenxia Wang, Lingyu Jiang, Jianxin Song. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China.Intensive Care Med. 2020 May;46(5):846-848)

165. Rahimi, P. The association between interferon lambda 3 and 4 gene single-nucleotide polymorphisms and the recovery of COVID-19 patients / P. Rahimi, R. Tarharoud, A. Rahimpour et al. // Virology Journal. – 2021. – Vol.18. – P. 221.

166. Rezaee, H. Drug-drug interactions with candidate medications used for COVID-19 treatment: an overview / H. Rezaee, F. Pourkarim, S. Pourtaghi-Anvarian, [et al.] // Pharmacol Res Perspect. – 2021. – N.1. – P. e00705. ,

167. Rizzi M, Costanzo M, Tonello S, Matino E, et al, Prognostic Markers in Hospitalized COVID-19 Patients: The Role of IP-10 and C-Reactive Protein. Dis Markers. 2022 Feb 28;2022:3528312

168. Rosa Morello[a] · Francesco Mariani[a] · Luca Mastrantoni[b] · Cristina De Rose[a] · Giuseppe Zampino[a] · Daniel Munblit[c,f,] et al. Risk factors for post-COVID-19 condition (Long Covid) in children: a prospective cohort study. eClinicalMedicine, Volume 59, 101961

169. Rojas, J.M. IL-10: a multifunctional cytokine in viral infections. / J.M. Rojas, M. Avia, V. Martín, et al. // J Immunol Res. – 2017. – P. 6104054

170. Ruan, Qiurong Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China / Qiurong Ruan, Kun Yang, Wenxia Wang [et al.] // Intensive Care Med - 2020 May. – T.46, No. 5. – P. 846-848. doi: 10.1007/s00134-020-05991-x

171. Ryan C N D'Arcy, Jagdeep K Sandhu, Shawn Marshall, Markus Besemann. Mitigating Long-Term COVID-19 Consequences on Brain Health. Front Neurol. 2021 Sep 27;12:630986.)

172. Saleh A., Sultan A., Elashry M.A., Farag A., Mortada M.I., Ghannam M.A. et al. Association of TNF-α G-308 a promoter polymorphism with the course and outcome of COVID-19 patients // Immunol. Invest. 2022. Vol. 51, N 3. P. 546– 557. DOI: https://doi.org/10.1080/08820139.2020.1851709

173. Scarpati, G., Baldassarre, D., Boffardi, M. et al. Krebs von den Lungen 6 (KL-6) levels in COVID-19 ICU patients are associated with mortality. J Anesth Analg Crit Care 2, 37 (2022).).

174. O, Schnappauf The Pyrin Inflammasome in Health and Disease / Schnappauf O, Chae JJ, Kastner DL [et al.] // Front Immunol. – 2019. – P. 1745. - DOI: 10.3389/fimmu.2019.01745.

175. Sharun, Khan Coronavirus Disease 2019-COVID-19 / Sharun Khan, Kuldeep Dhama, , Ruchi Tiwari [et al.] // Clin Microbiol Rev. - 2020. – T. 33, No. 4. – P. 00028-20. - DOI: 10.1128/CMR.00028-20.

176. H, Shokri-Afra Serum calprotectin can indicate current and future severity of COVID-19 / Shokri-Afra H, Moradi M, Musavi H J // Clin Lab Anal. – 2023. – Vol. 37(1). – P. 24809. – DOI: 10.1002/jcla.24809.

177. Mulla, Shafia Association of interferon gamma inducible protein-10, monocyte chemoattractant protein-1, macrophage inflammatory protein-1 alpha, interleukin-6, and rs12252 single nucleotide polymorphism of interferon-induced transmembrane protein-3 gene with the severity of COVID-19 infection / Shafia Mulla, Md Maruf Ahmed Molla, S M Ali Ahmed [et al.] // Egypt J Intern Med. – 2022. – Vol. 34(1). – P. 53. - DOI: 10.1186/s43162-022-00141-9.

178. Shinkai, M. Efficacy and Safety of Favipiravir in Moderate COVID-19 Pneumonia Patients without Oxygen Therapy: A Randomized, Phase III Clinical Trial / M. Shinkai, K.Tsushima, S. Tanaka, E. Hagiwara, [et al.] // Infect Dis Ther. –2021. – Vol.10, N4. – P.2489–2509. - DOI: 10.1007/s40121-021-00517-4.

179. Singh, Tanya The top 50 most-cited articles about COVID-19 and the complications of COVID-19: A bibliometric analysis / Singh

Tanya, Jagadish Rao Padubidri, Pavanchand H Shetty [et al.] // 2024 May 3:13:105. - DOI: 10.12688/f1000research.145713.3.

180. M, Sironi A common polymorphism in TLR3 confers natural resistance to HIV-1 infection / Sironi M, Biasin M, Cagliani R [et al.] // J Immunol. – 2012. – P.188(2):818-23. – DOI: 10.4049/JIMMUNOL.1102179.

181. MJA, Silva Analysis of associations between the TLR3 SNPs rs3775291 and rs3775290 and COVID-19 in a cohort of professionals of Belém-PA, Brazi / Silva MJA, Vieira MCDS, Souza AB [et al.] // Front Cell Infect Microbiol. – 2023. –Vol. 13. – P. 1320701. – DOI: 10.3389/fcimb.2023.1320701.

182. MJA, Silva The Relationship between TLR3 rs3775291 Polymorphism and Infectious Diseases: A Meta-Analysis of Case-Control Studies / Silva MJA, Silva CS, da Silva Vieira MC [et al.] // Genes (Basel). – 2023. – V. 14(7). – P. 1311. – DOI: 10.3390/genes14071311.

183. Stavropoulou, E. The Role of Cytochromes P450 in Infection / E. Stavropoulou, G.G. Pircalabioru, E. Bezirtzoglou // Front Immunol. – 2018. – Vol.9. – P. 89. - DOI: 10.3389/fimmu.2018.00089.

184. R, Strippoli, Reaching the Threshold: A Multilayer Pathogenesis of Macrophage Activation Syndrome / J Rheumatol. Caiello I, De Benedetti F. 2013;40:761–767. DOI: 10.3899/jrheum.121233.

185. Subrata, D. Potential Effects of COVID-19 on Cytochrome P450-Mediated Drug Metabolism and Disposition in Infected Patients / D. Subrata, S. Arrighi // Eur J Drug Metab Pharmacokinet. – 2021. – Vol.46, N.2. – P.185–203. - DOI: 10.1007/s13318-020-00668-8.

186. Singh, Tanya The top 50 most-cited articles about COVID-19 and the complications of COVID-19: A bibliometric analysis / Tanya Singh, Jagadish Rao Padubidri, Pavanchand H Shetty [et al.] // Originally published. – 2024. – Vol. 13. – P.105. – DOI: 10.12688/f1000research.145713.3.

187. J.-L. Tang, Liu, J.L. Misleading funnel plot for detection of bias in meta-analysis / J.-L. Tang, Liu, J.L. // J. Clin. Epidemiol. – 2023. – Vol. 53. – P. 477–484. - DOI: 10.1016/s0895-4356(99)00204-8.

188. Tellen D Bennett, Clinical Characterization and Prediction of Clinical Severity of SARS-CoV-2 Infection Among US Adults Using Data From the US National COVID Cohort Collaborative – JAMA Netw Open. – 2021. – T. 4, No. 7. – P. 2116901. – DOI:.org/10.1007/s42399-020-00341-w.

189. Thompson, BT Acute respiratory distress syndrome / BT Thompson, Chambers RC, Liu KD // N Engl J Med. - 2017. – T. 377, No.6. – P. 562-572. - DOI:10.1056/NEJMra1608077.

190. Thorn, C. F. Pharm GKB summary: very important pharmacogene information for CYP1A2 / C.F. Thorn, E. Aklillu, T. E. Klein, [et al.] // Pharmacogenetics and genomics. – 2012. – Vol. 22, N.1. – P. 73–77. - DOI: 10.1097/FPC.0b013e32834c6efd.

191. O Jensen, Tomas Early trajectories of virological and immunological biomarkers and clinical outcomes in patients admitted to hospital for COVID-19: an international, prospective cohort study / Tomas O Jensen, Thomas A Murray [et al.] // Lancet Microbe. – 2024. – P. 559-e569. - DOI: 10.1016/S2666-5247(24)00015-6.

192. Vučić, Miodrag Indicators of stress hematopoiesis in the blood predict COVID-19 progression in patients over 65 years old / Miodrag Vučić, Jelena Milenkovic, Boris Djindjic [et al] // Hematology. - 2024 Dec – T. 29, No.1. – P. 2311006. - DOI: 10.1080/16078454.2024.2311006.

193. World Health Organization. Statement on the second meeting of the International Health Regulations (2005). Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV). – Published January 30, 2020. – URL: https://www.who.int/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-internationalhealthregulations-(2005)-emergency-committee-regardingtheoutbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov) (date of viewing: 02.02.2020).

194. Waleed, Burhamah Prognostic Factors and Predictors of In-Hospital Mortality Among COVID-19 Patients Admitted to the Intensive Care Unit: An Aid for Triage, Counseling, and Resource Allocation / Burhamah Waleed, Iman Qahi, Melinda Oroszlányová [et al] // Ann Lab Med. – 2022. - Jul 1;42(4). – P. 406-414. – DOI: 10.7759/cureus.16577.

195. Wang S., et al. Roles of TNF-α gene polymorphisms in the occurrence and progress of SARS-Cov infection: a case-control study. BMC Infect Dis. 2008; 8 (1): 1–10. DOI: 10.1186/1471-2334-8-27.

196. Wang, B.-G. TLR3 gene polymorphisms in cancer: A systematic review and meta-analysis / B.-G. Wang, D.-H. Yi, Y.-F. Liu [et al.] // Chin J Cancer. – 201. – Vol. 34. - DOI: 10.1186/s40880-015-0020-z.

197. Wan, S. Clinical features and treatment of COVID-19 patients in northeast Chongqing / S. Wan, Y. Xiang, W. Fang [et al.] // Journal of medical virology. – 2020. – Vol. 92(7). – P. 797-806. - DOI: 10.1002/jmv.25783.

198. Wei Y.Y. Differential characteristics of patients for hospitalized severe COVID-19 infected by the Omicron variants and wild type of SARS-CoV-2 in China / Y.Y. Wei, R.R. Wan, D.W. Zhang [et al.] // J Inflamm Res. – 2023. – Vol. 16. – P. 3063–3078. – DOI: 10.2147/JIR.S420721.

199. Wu Z. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention / Z. Wu, J. M. McGoogan // JAMA. – 2020. – Vol. 323, N 13. – P. 1239–1242. – DOI: 10.1001/jama.2020.2648.

200. Wu J. H. Pathological changes of fatal coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the lungs: report of 10 cases by postmortem needle autopsy / J. H. Wu, X. Li, B. Huang [et al] // Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. – 2020. – Vol. 49, N 6. – P. 568–575. – DOI: 10.3760/cma.j.cn112151-20200405-00291.

201. Xiao-Shan, Ji Human genetic basis of severe or critical illness in COVID-19 / Ji Xiao-Shan, Chen Bin, Ze Bi [et al.] // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2022. – Vol. 12. – DOI: 10.3389/fcimb.2022.963239.

202. Yang X. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study / X. Yang, Y. Yu, J. Xu [et al] // Lancet Respir Med. – 2020. – Vol. 8, N 5. – P. 475–481. - DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5.

203. Yadav, D Association of iron-related biomarkers with severity and mortality in COVID-19 patients / D. Yadav, KK. Pvsn, S. Tomo [et al.] // J Trace Elem Med Biol. – 2022. - P. 127075. - DOI: 10.1016/j.jtemb.2022.127075.

204. Ye Z. W. Zoonotic origins of human coronaviruses / Z. W. Ye, S. Yuan, K. S. Yuen [et al.] // Int J Biol Sci. – 2020. – Vol. 16, N 10. – P. 1686–1697. - DOI: 10.7150/ijbs.45472.

205. Ye, L. Prognostic value of liver biochemical parameters for COVID-19 mortality / L. Ye, B. Chen, Y.Wang [et al.] // Ann Hepatol. – 2020. – Vol. 21. –P.100279. – DOI: 10.1016/j.aohep.2020.10.00.

206. Yichun, Cheng Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19 / Cheng Yichun, Luo Ran, Wang Kun [et al.] // Kidney Int. – 2020. – Vol. 97(5). – P. 829-838. - DOI: 10.1016/j.kint.2020.03.005.

207. Youssef, M. COVID-19 and liver dysfunction: a systematic review and meta-analysis of retrospective studies / Youssef M., Hussein M.H., Attia A.S. [et al.] // Med Virol. – 2020. – Vol. 92(10). – P.1825–1833. – DOI: 10.1002/jmv.26055. 33.

208. Yuki, Takemoto Multi-phasic gene profiling using candidate gene approach predict the capacity of specific antibody production and maintenance following COVID-19 vaccination in Japanese population / Front

Naoki Tanimine1, Hisaaki Yoshinaka. // Immunol. - 2023. – Vol. 14. – DOI: 10.3389/fimmu.2023.1217206.

209. Zaim S. COVID-19 and multi-organ response / S. Zaim, J.H. Chong, V. Sankaranarayanan [et al.] // Curr Probl Cardiol. – 2020. – T. 45, No. 8. – P. 100618. – DOI:10.1016/j.cpcardiol.2020.100618.

210. Zahra, Bagheri-Hosseinabadi mRNA expression of toll-like receptors 3, 7, 8, and 9 in the nasopharyngeal epithelial cells of coronavirus disease 2019 patients / Bagheri-Hosseinabadi Zahra, Rezazadeh Zarandi, Mohammad Mirabzadeh Ebrahim Ali Amiri [et al.] // BMC Infectious Diseases. – 2022. – Vol. 22. – P.448. - DOI: 10.1186/s12879-022-07437-9.

211. Zainab, H D Effect of Toll-Like Receptor 7 Gene Polymorphism and ABO Blood Groups on the Severity of COVID-19 Patients / Zainab H D Al-Tamimi, Abdulsamie H Alta'ee, Ahmed H Jasim // Acta Inform Medb. – 2022. - Vol. 30(3). – P.191-195. - DOI: 10.5455/aim.2022.30.

212. Zhang J. J. Clinical character istics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wu han, China / J. J. Zhang, X. Dong, Y. Y. Cao [et al] //Allergy. 2020. – Vol. 75, N 7. – P.1730–1741. – DOI: 10.1111/all.14238.

213. Zhu, N A novel coronavirus from patients with pneumonia in China 2019 / N Zhu, Zhang D, Wang W [et al.] // J Med. – 2020. – T. 382, No.8. – P.727-33. DOI:10.1056/NEJMoa2001017.

214. Zhang, H. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and po tential therapeutic target / H. Zhang, J. M. Penninger, Y. Li [et al.] // Intens Care Med. – 2020. – Vol. 46, N 4. – P. 586–590. – DOI: 10.1007/s00134-020-05985-9.

215. Zhonghua, Liu The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China / Liu Zhonghua, Bing Xing, Za Zhi Xue // Medicine (Baltimore). – 2020. – Vol. 41(2). P.145-151. - DOI: 10.1097.

216. Zhang, Q. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19 / Q. Zhang, P. Bastard, Z. Liu [et al.] // Science. – 2020. – Vol. 370(6515). – P.4088-4096. – DOI: 10.1126/science.abd4570.

217. Liu, Zhi-Mei Toll-like receptor (TLRs) agonists and antagonists for COVID-19 treatments / Zhi-Mei Liu, Ming-Hui Yang, Kun Yu [et al.] // Respiratory Pharmacology. – Vol.13. – 2022. – DOI: 10.3389/fphar.2022.989664.

218. Zheng, M, TLR2 senses the SARS-CoV-2 envelope protein to produce inflammatory cytokines / M Zheng // Nat Immunol. – 2021. - Vol. 22(7). – P. 829-838. – DOI: 10.1038/s41590-021-00937-x.

219. Zhang, C. Liver injury in COVID-19: management and challenges / C. Zhang, L. Shi, F.S. Wang [et al.] // Lancet Gastroenterol Hepatol. - 2020. - Vol. 5(5). – P.428–430. – DOI: 10.1016/s2468-1253(20) 30057-1.

220. ZIYUN, HE Lactate dehydrogenase and aspartate minotransferase levels associated with the severity of COVID-19: A systematic review and meta-analysis / HE ZIYUN, YAN RENGQIN, LIU JINSONG [et al.] // Exp Ther Med. - 2023. – Vol. 25(5). – P. 221. - DOI: 10.3892/etm.2023.11920.

221. Zuo, Y. Plasma tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in hospitalized COVID-19 patients / Y Zuo, M Warnock, A Harbaugh [et al.] // Scientific reports/ - 2021/ - Vol. 11(1). - P.1580. - DOI: 10.1101/2020.08.29.20184358.

222. Zur, Stadt U Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 (FHL-5) is caused by mutations in Munc18-2 and impaired binding to syntaxin / Stadt U Zur, J. Rohr, W. Seifert [et al.] // American Journal of Human Genetics. – 2009. - 85(4):482-92. - DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.09.005.