



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ ВРОЖДЕННОГО И АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 СТАРШЕЙ ВОЗРАСТНОЙ ГРУППЫ

О.Н. Щегловитова¹, Л.В. Колобухина^{1,2}, А.А. Бабаянц¹, И.С. Фролова¹, Е.И. Исаева¹,
И.С. Кружкова^{1,2}, А.А. Самков², Н.А. Антипат², И.Н. Тюрин², А.Н. Наровлянский¹,
Ф.И. Ершов¹

¹Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

²Инфекционная клиническая больница № 1, Москва, Россия

Features of the functioning of the innate and adaptive immunity system in patients with COVID-19 of the older age group

O.N. Scheglovitova¹, L.V. Kolobukhina^{1,2}, A.A. Babayants¹, I.S. Frolova¹, E.I. Isaeva¹, I.S. Kruzhkova^{1,2}, A.A. Samkov²,
N.A. Antipyat², I.N. Tyurin², A.N. Narovliansky¹, F.I. Ershov¹

¹ National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia

² Infectious Diseases Clinical Hospital № 1 of the Department of Health of the City of Moscow, Moscow, Russia

Резюме

Цель: характеристика активности врожденного, клеточного и адаптивного иммунитета у пациентов старшей возрастной группы с COVID-19.

Материалы и методы: лейкоциты крови пациентов индуцировали вирусом болезни Ньюкаста (α -интерферон), фитогемагглютинином (γ -интерферон), антигенами SARS CoV 2: RBD и S-белком; оценивали активность интерферона в культуре фибробластов человека и методом иммуноферментного анализа. В сыворотке крови определяли: IgG антитела к SARS-CoV-2 и аутоантитела к интерферону и к эндотелию кровеносных сосудов, используя монослой клеток пупочной вены человека. Статистическую обработку выполняли в программе Excel 2016.

Результаты: у пациентов старшей возрастной группы с тяжелой и среднетяжелой формами COVID-19 с осложненным течением выявлено снижение продукции α -интерферона и γ -интерферон в течение первых недель заболевания: 1-я неделя – $74,2 \pm 15,1$; 3-я неделя – $144,0 \pm 35,7$ ($p=0,01$); контроль – $266,6 \pm 82$ (относительно 3 недели $p=0,004$) и ИФН γ : 1-я неделя – $6,8 \pm 2$; 3-я неделя – $14,4 \pm 3,5$ ($p=0,03$); контроль – $28,87,15$ (относительно 3-й недели ($p=0,007$)). Выявлена сниженная продукция γ -интерферона лейкоцитами пациентов при индукции антигенами SARS-CoV-2 RBD и S-тримером по сравнению с вакцинированными пациентами. Антитела к SARS-CoV-2 в сыворотке крови обнаруживались, начиная со 2-й недели заболевания, отмечен большой разброс показателей. Обнаружены аутоантитела к $\alpha 2$ -интерферону и к поверхностным антигенам эндотелия кровеносных сосудов человека.

Заключение: состояние врожденного иммунитета у пациентов старшей возрастной группы с тяжелой и среднетяжелой формой COVID-19 характеризовалось снижением активности системы интерферона. Отме-

Abstract

Goal. Characteristics of innate, cellular and adaptive immunity in patients of the older age group with COVID-19.

Materials and methods. Blood leukocytes were induced by Newcastle disease virus (α -interferon), phytohemagglutinin (γ -interferon), SARS CoV 2: RBD antigens and S-protein; interferon activity in human fibroblast culture and enzyme immunoassay were evaluated. In serum, IgG antibodies to SARS CoV2 and autoantibodies to interferon and to the endothelium of blood vessels were determined using a monolayer of human umbilical vein cells. Statistical processing was performed in Excel 2016.

Results. A decrease in the production of α -interferon and γ -interferon was revealed: 1 week -74.2 ± 15.1 ; 3 week -144.0 ± 35.7 ($p=0.01$); control – 266.6 ± 82 (relative to 3 weeks $p=0.004$) and IFN γ : 1 week -6.8 ± 2 ; 3 week -14.4 ± 3.5 ($p=0.03$); control – $28.87.15$ (relative to 3 weeks ($p=0.007$)). Decreased production of γ -interferon by leukocytes of patients with induction by SARS CoV2 RBD and S-trimer antigens was revealed. Antibodies to SARS CoV2 were detected starting from the 2nd week of the disease, a large spread of indicators was noted. Autoantibodies to $\alpha 2$ -interferon and to vascular surface antigens were detected.

Conclusion. The state of innate immunity in patients of the older age group with severe and moderate COVID-19 was characterized by a decrease in the activity of the interferon system. Decreased activity of cellular immunity to SARS CoV2 antigens was noted. Adaptive immunity was characterized by the development of an imbalance in the form of the appearance of autoantibodies to α -interferon and vascular endothelium.

чена сниженная активность клеточного иммунитета к антигенам SARS-CoV-2. Адаптивный иммунитет характеризовался разбросом в показателях продукции IgG антител к SARS-CoV-2 и развитием дисбаланса в виде появления аутоантител к α -интерферону и к эндотелию сосудов.

Ключевые слова: COVID-19, врожденный иммунитет, интерферон, аутоантитела к интерферону, аутоантитела к эндотелию сосудов.

Введение

Коронавирусная болезнь-2019 (COVID-19) — это высококонтагиозное заболевание, вызываемое коронавирусом SARS-CoV-2 с тяжелым острым респираторным синдромом. Большинство пациентов с легкой формой COVID-19 не нуждаются в госпитализации, однако в тяжелых случаях заболевания запускается системный воспалительный ответ, который сопровождается полиорганной дисфункцией, приводящей к полиорганной недостаточности и высокой смертности [1]. Вирусемия и развитие полиорганной недостаточности являются результатом дисбаланса работы системы врожденного иммунитета, что проявляется, в частности, развитием цитокинового шторма, с одной стороны, с другой стороны — подавлением коронавирусом адекватного функционирования системы врожденного иммунитета и, в частности, системы интерферона (ИФН), работа которого включает механизмы антивирусного действия [2] [3].

Иммунопатологический процесс при COVID-19 сопровождается нарушением функционирования адаптивного иммунитета, что приводит к продукции аутоантител к широкому спектру антигенов хозяина и появлению клинических симптомов, характерных для аутоиммунных состояний [4]. Существуют множественные механизмы для объяснения запускаемого вирусами аутоиммунитета, суть которых заключается в образовании антител к собственным антигенам. Это «молекулярная мимикрия», связанная с тем, что вирусы содержат эпитопы, схожие с эпитопами клеток организма; «bystander activation» — высвобождение эпитопов вследствие разрушительного действия на клетки суперпродукции провоспалительных цитокинов; «epitope spreading», связанное с тем, что при персистентной вирусной инфекции происходит длительное повреждение тканей и высвобождение эпитопов клеток [5]. Во всех этих случаях происходят презентация эпитопов антигенпрезентирующими клетками, активация аутореактивных Т-клеток и запускается процесс образования антител к собственным антигенам организма. Были высказаны предположения как о связи образования аутоантител при соматических аутоиммунных заболеваниях с вирусными инфекциями, так и о за-

Key words: COVID-19, innate immunity, interferon, autoantibodies to interferon, autoantibodies to vascular endothelium.

щитной роли вирусов, которая проявляется регуляцией иммунных процессов и подавлением развития аутоантител [6]. Аутоантитела против иммуномодуляторных белков (включая ИФН, цитокины, хемокины, компоненты комплемента, белки клеточной поверхности) изменяют нормальное функционирование иммунитета и повреждают вирусологический контроль в организме [7]. Специфические аутоантитела к ИФН- α исключают этот цитокин из системы противодействия организма коронавирусной инфекции.

Увеличивается число данных, подтверждающих ключевую патофизиологическую роль при COVID-19 изменения гомеостаза кровеносных сосудов [8]. Сосудистый эндотелий при физиологических условиях поддерживает гомеостаз организма путем регуляции иммунного надзора, воспалительного баланса, барьерной функции, гемодинамической стабильности и оптимального баланса тромботического и фибринолитического путей [9]. При COVID-19 клинические данные в совокупности с биомаркерами подтверждают нарушения в реализации этих функций [10] (Hasan K. Siddiqi). Морфологические и функциональные нарушения эндотелия сосудов при COVID-19 могут происходить как при инфицировании клеток эндотелия сосудов SARS-CoV-2, что было отмечено обнаружением вируса в эндотелии сосудов в аутоптатах умерших от COVID-19 людей, так и при контакте инфицированных вирусом клеток с клетками эндотелия, что было показано в экспериментах *in vitro* при кокультивировании инфицированных эпителиоцитов с клетками сосудистого эндотелия [11, 12]. С другой стороны, нельзя исключить, что эндотелий сосудов, взаимодействуя с SARS-CoV-2, вносит вклад в развитие цитокинового шторма в организме инфицированных людей, как это было показано в экспериментах на мышах при моделировании гриппозной инфекции [13]. Обнаружение маркеров активации в циркуляции (фактора вон Виллебранда (vWF), ингибитора активатора пламиногена (PAI1), молекул клеточной адгезии (ICAM-1, VCAM-1, Р-селектин)) подтверждает включение эндотелия сосудов в системный воспалительный ответ [14]. Аутоантитела к эндотелию сосудов (АЭС) были обнаружены при соматичес-

ких заболеваниях, сопровождающихся васкулитами: системной красной волчанке, ревматоидном артрите, при болезни Кавасаки, болезни Бехчета, при этом отмечена корреляция между уровнями АЭС и активностью заболеваний [15]. В 2005 г. АЭС были обнаружены и в крови людей, инфицированных коронавирусом SARS-CoV-2 [16].

Цель исследования — характеристика врожденного и адаптивного иммунитета у пациентов с COVID-19 тяжелой и среднетяжелой формами заболевания старшей возрастной группы.

Задачи исследования

1. Оценка состояния врожденного иммунитета по уровню активности системы интерферона.
2. Оценка состояния специфических клеточного и адаптивного иммунитета.
3. Оценка дисбаланса адаптивного иммунитета по уровню продукции антител к интерферону и эндотелию сосудов.

Материалы и методы исследования

Пациенты

В исследование были включены 39 человек, из них 20 поступили в Инфекционную клиническую больницу №1, с верифицированным диагнозом COVID-19 тяжелой и среднетяжелой формами заболевания. Кроме того, использованы образцы крови 19 человек, из них 7 имели в анамнезе за 3 месяца до исследования тяжелую и среднетяжелую формы COVID-19, а также 6 лиц, не болели коронавирусной инфекцией, и 6 лиц были вакцинированы вакциной «Спутник V» («Гам-КОВИД-Вак»). Пациенты с COVID-19 были в возрасте старше 65 лет и имели коморбидную патологию (табл.).

Тестирование активности интерферона

Во взвесь лейкоцитов крови (1×10^6 мл) в среде RPMI с 10% сыворотки эмбрионов коров вносили стандартные индукторы: вирус болезни Ньюкаста (ВБН, 25 инфекционных ед/клетку) для индукции ИФН- α , фитогемагглютинин (ФГА, 10 мкг/мл, «Панэко») для индукции ИФН- γ , антигенов SARS-CoV-2 RBD (2 мкг/мл) и S-тример, (2 мкг/мл). RBD был любезно предоставлен д.б.н. Д.В. Щебляковым из лаборатории иммунобиотехнологии Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи (НИЦЭМ), S-белок — рекомбинантный SARS-CoV-2 S-trimer (AtaGenix Laboratories). В качестве контроля использовали взвесь лейкоцитов без внесения индуктора (спонтанная продукция). В динамике культивирования при 37°C и 5% CO₂ отбирали образцы культуральной среды, которые хранили при -20° до тестирования.

Таблица

Сопутствующие заболевания у наблюдаемых пациентов

Нозология	Количество человек
Гипертоническая болезнь	14
Сахарный диабет 2 типа	6
Атеросклеротический кардиосклероз	4
Ожирение 2—3 степени	3
Пароксизмальная форма фибрилляции предсердий	2
Варикозная болезнь вен нижних конечностей	2
Хронический пиелонефрит. Кисты почек	2
Атеросклероз сосудов головного мозга	2
Ревматоидный артрит	1
Фибрилляция предсердий, постоянная форма	1
Постинфарктный кардиосклероз	1
Злокачественное образование предстательной железы	1
ХОБЛ	1
Хроническая ишемия головного мозга	1
Вторичный паркинсонизм неуточненный. Гипокинетический вариант	1
Перенесенный в прошлом инфаркт миокарда	1
Бронхиальная астма	1
Анемия	1

Тестировали активность ИФН в образцах по антивирусному действию в культуре диплоидных фибробластов человека по отношению к индикаторному вирусу энцефаломиокардита мышей. В лунки 96 луночных плат с монослоем клеток вносили двукратные разведения образцов, после 24 ч культивирования при 37°C и 5% CO₂ в лунки вносили 100 рабочих доз вируса и после следующего 24-часового культивирования учитывали активность ИФН. Активность выражали в единицах, обратных последнему разведению образцов, тормозящему на 50% развитие цитопатического действия 100 доз вируса.

Активность ИФН- γ тестировали в образцах культуральной среды, используя тест-системы фирмы «ВекторБест» в соответствии с инструкцией производителя.

Уровни IgG к SARS CoV2 тестировали в образцах сыворотки, используя тест-системы фирмы «ВекторБест» в соответствии с инструкцией производителя.

Выделение эндотелиальных клеток сосудов человека

Эндотелиальные клетки (ЭКПВЧ) выделяли из вен пупочных канатиков, полученных от здоровых женщин после нормальных родов по методу Е.А. Jaffe в собственной модификации [17,18]. Культивиро-

вали ЭКПВЧ в среде 199 (Gibco) с добавлением 10% фетальной сыворотки (HyClone), эндотелиального фактора роста, гепарина (100 мкг/мл) и гентамицина (50 мкг/мл) в пластиковых флаконах при 37°C и 5% CO₂. После образования монослоя клетки ресуспендировали раствором трипсина с EDTA (Gibco) и засевали в лунки 96 луночных плат (2x10⁴ в лунку) в среде роста. Для работы использовали культуры только первого пассажа после образования монослоя.

Уровень антител к эндотелиальным клеткам сосудов человека определяли по методу [16]. Коротко, ЭКПВЧ (2x10⁴/лунку) после культивирования при 37°C и 5% CO₂ в течение 24 ч фиксировали 0,2% глutarовым альдегидом в фосфатном буферном растворе (ФБР) в течение 10 мин при комнатной температуре и инкубировали с блокирующим буфером (1% БСА/0.1 М Трис в ddH₂O) в течение 60 мин при 37°C для предотвращения неспецифического связывания. После промывки монослоя ФБР/Твин 20 образцы сыворотки, разведенные в блокирующем буфере, начиная с 1:100 и далее двукратно, были внесены в лунки 96 луночных плат с монослоем эндотелиальных клеток и инкубированы в течение 2 ч при 37°C. После промывки лунок ФБР 100 мкл кроличьего античеловеческого IgG, меченного пероксидазой, были добавлены в каждую лунку и после экспозиции в течение 2 ч при 37°C и последующей промывки в лунки был добавлен раствор ТМВ на 15 мин и затем для остановки реакции добавлен 1М раствор соляной кислоты. Результаты учитывали в мультискане Antos 2020 при OD 450 нм. Активность выражали в единицах, обратных последнему разведению образцов.

Статистическая обработка результатов была выполнена в программе Excel 2016. Достоверность результатов оценивали в программе Excel 2016, $p < 0,05$ — *, $p < 0,01$ — **.

Результаты исследования

Госпитальные пациенты в подавляющем большинстве переносили COVID-19 с осложнениями, самым частым из которых являлась пневмония (85%).

Функциональную активность системы ИФН у пациентов охарактеризовали путем определения *in vitro* способности лейкоцитов крови пациентов продуцировать ИФН под воздействием стандартных индукторов ИФН-α и ИФН-γ (рис. 1, 2).

Продукция ИФН-α была снижена, начиная с 1-й недели от начала заболевания, достоверное увеличение отмечено к 3–4-й неделе и 3 месяцам. Показатели у контрольных пациентов достоверно отличались от показателей пациентов 3–4 недель. Однако только через 3 месяца от начала заболевания происходило восстановление продукции ИФН-α, так как не было достоверной разницы между показателями на сроке 3 месяца и контрольными. Ана-

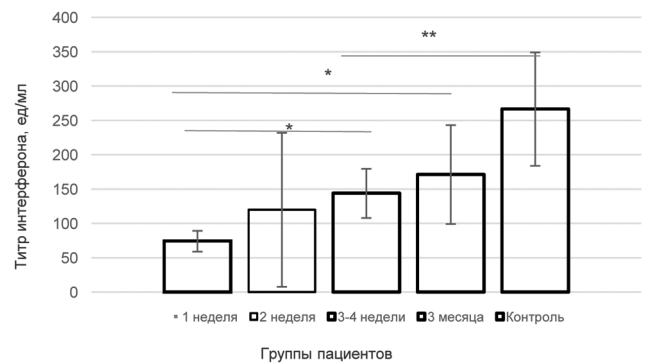


Рис. 1. Активность ИФН-α, продуцируемого лейкоцитами крови пациентов с COVID-19

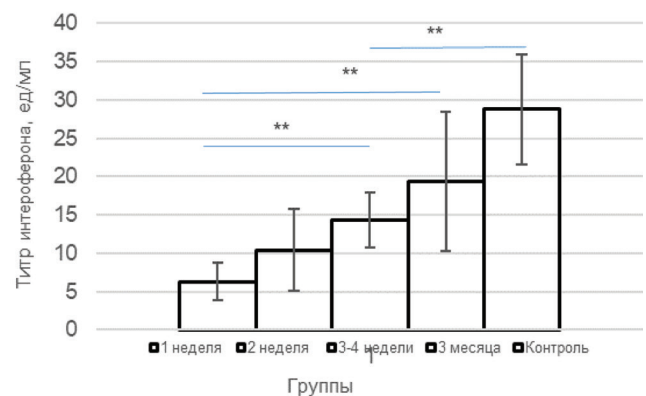


Рис. 2. Активность ИФН-γ, продуцируемого лейкоцитами пациентов с COVID-19

логичная закономерность отмечена в продукции ИФН-γ лейкоцитами крови пациентов: восстановление показателей до уровня контрольных происходило только к 3 месяцам от начала заболевания. Иммуноферментный анализ подтвердил более низкое содержание ИФН-γ в образцах, полученных от больных пациентов по сравнению с контрольными (данные не указаны). Полученные данные указывают на подавление функциональной активности системы ИФН у больных средней и тяжелой формой коронавирусной инфекции в ранние сроки после инфицирования. Далее исследовали способность лейкоцитов крови пациентов продуцировать ИФН-γ на активацию специфическим для SARS-CoV-2 антигеном RBD (рис. 3). Этот тест позволяет выявить активность антигенспецифического по отношению к SARS-CoV-2 клеточного иммунитета.

Уровень продукции ИФН-γ лейкоцитами крови, индуцированными RBD, был наименьшим в течение первых 3–4 недель от начала заболевания, затем его количество увеличивалось к 3 месяцам, однако было меньше, чем у вакцинированных пациентов. Похожие результаты были получены при исследовании продукции ИФН-γ на активацию лейкоцитов S-белком (данные не представлены).

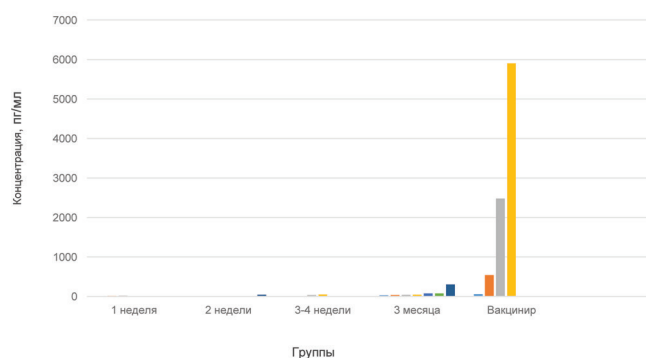


Рис. 3. Продукция ИФН-γ лейкоцитами крови пациентов с COVID-19 при индукции RBD

Уровни адаптивного специфического иммунитета к SARS-CoV-2 указывали на образование IgG, начиная со 2-й недели от начала заболевания, их количество увеличивалось, достигая более высоких значений к 3 месяцам (рис. 4).

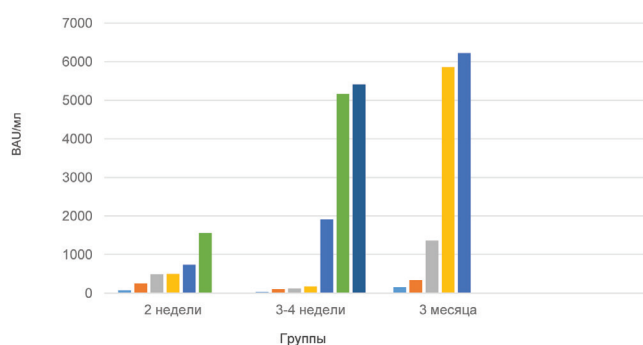


Рис. 4. Уровни специфических IgG антител в крови пациентов с COVID-19

Необходимо отметить, что и через 3 месяца после начала заболевания отмечался разброс в уровнях специфических антител в крови у пациентов и продукция низких показателей, по-видимому, связана с возрастными особенностями.

Далее исследовали присутствие и уровень аутоантител к ИФН-α2 и клеткам эндотелия сосудов в крови пациентов с COVID-19 (рис. 5, 6).

Значимый уровень антител к ИФН-α2 — 52 нг/л и 66 нг/мл был отмечен в крови 2 пациентов к 3-й неделе от начала заболевания (см. рис. 5). Это были пациенты 70 и 85 лет, женщина и мужчина. Эти результаты соответствуют данным, представленным в других исследованиях [7].

Антиэндотелиальные антитела (АЭА) были обнаружены в сыворотках крови людей через 1 неделю, 3–4 недели и 3 месяца после начала заболевания (см. рис. 6). Наиболее высокие показатели аутоантител отмечены через 3 недели, однако и через 3 месяца в сыворотке крови обнаруживались аутоантитела, хотя их показатели были ниже.

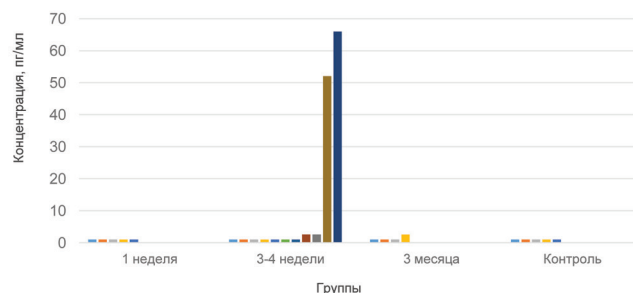


Рис. 5. Уровни продукции аутоантител к ИФН-α2 у пациентов с COVID-19

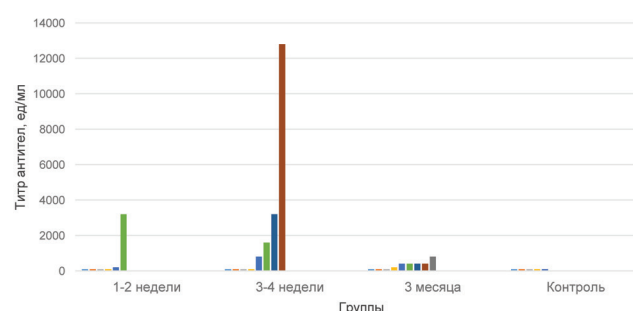


Рис. 6. Уровни продукции аутоантител к эндотелию сосудов у пациентов с COVID-19

В крови контрольных лиц АЭА обнаружены не были.

Обсуждение

В данное исследование были включены пациенты старшей возрастной группы — средний возраст составлял 65 лет. Тяжесть течения COVID-19 обусловлена острой дыхательной недостаточностью вследствие развития острого повреждения легких и наличием сопутствующих заболеваний. Тяжелое течение COVID-19 у таких пациентов объясняется также возрастным снижением функциональной активности разных систем организма, хроническим воспалением, дисбалансом продукции и действия цитокинов, нарушением аутофагии, резистентностью к инсулину, эпигенетической дисфункцией, сосудистыми нарушениями и в большой степени нарушениями в функционировании системы иммунитета [19]. Ряд авторов предположили, что тяжелое течение COVID-19 может зависеть в том числе от снижения синтеза клетками лиц старшей возрастной группы естественных микроРНК, которые комплементарны к ssvRNA генома SARS CoV2 и запускают его инактивацию и нейтрализацию [20]. При вирусной инфекции первая реакция организма включает в себя активацию неспецифического врожденного иммунитета. Система ИФН как часть врожденного иммунитета проявляет защитное действие, препятствуя распространению вируса по организму [21]. При COVID-19 вирус уклоняется от действия ИФН, подавляя как его выработку клетками организма,

так и его действие [22]. В данной работе у больных старшей возрастной группы была показана дисфункция системы ИФН, которая сопровождалась снижением способности лейкоцитов крови больных COVID-19 продуцировать ИФН на ранних стадиях заболевания. Биотест, используемый в исследовании, является интегральным показателем функциональной активности системы ИФН, так как он оценивает суммарное действие широкого спектра продуцируемых ИФНов. При этом биотест, характеризующий антивирусную активность, оказался более информативным, чем метод иммуноферментного анализа, который определяет количественное содержание только одного типа ИФН и не характеризует его функциональную активность.

Специфическая реакция организма на патоген определяется как клеточным иммунитетом, так и уровнем продукции специфических антител [23]. У пациентов с COVID-19 снижены показатели клеточного иммунитета на антигены SARS-CoV-2, уровни гуморального (адаптивного) иммунитета указывают на значительный разброс показателей. По-видимому, эта ситуация отражает дисбаланс в работе системы иммунитета у пациентов старшей возрастной группы с тяжелой и среднетяжелой формами заболевания COVID-19.

Дисбаланс системы иммунитета прослеживается и при оценке развития аутоиммунитета. По данным литературы, антитела к ИФН-α2 обнаруживались у больных, лечившихся большими дозами ИФН-α2 или ИФН-β, при некоторых аутоиммунных заболеваниях, при этом в одних случаях они не оказывали существенного влияния на течение заболевания, тогда как другие случаи сопровождались тяжелыми вирусными пневмониями [24]. Предположительно выработка аутоантител к ИФН-α2 обусловлена врожденными генетическими ошибками [25]. В данной работе у пациентов с COVID-19 старше 70 лет были обнаружены антитела к ИФН-α2, но не у контрольных пациентов. Обнаружение образования аутоантител к эндотелию сосудов в крови больных в данной работе является одним из объяснений и подтверждением дисфункции сосудов при COVID-19, что отмечено в работах [26]. Мишенями для аутоантител могут быть антигены и рецепторы клеточной мембраны эндотелия сосудов. Клетки эндотелия сосудов человека так же, как эпителиальные клетки легких, — основные мишени SARS-CoV-2, экспрессируют ACE2-рецептор [27]. Было показано на аутоптатах легких, что антитела больных COVID-19 окрашивали эндотелий сосудов, при этом в крови больных COVID-19 были обнаружены антитела к ACE2 и в большем проценте случаев у больных тяжелыми формами. [28]. Мишенями для АЭС могут быть и молекулы клеточной адгезии, экспрессируемые клетками эндотелия сосудов.

VE-кадгерин — трансмембранный белок, поддерживающий интеграцию эндотелиальных клеток артерий, вен, лимфатических сосудов. Антитела к экстраклеточному домену VE-кадгерина могут вызывать нарушение межклеточной интеграции, что приводит к увеличению проницаемости сосудов, характерных для воспалительных заболеваний, сепсиса [29]. Аутоантитела к VE-кадгерину эндотелия сосудов обнаружены у больных аутоиммунными заболеваниями с выраженными васкулитами: ревматоидном артрите, системной красной волчанке, системном склерозе, при этом при разных аутоиммунных заболеваниях антитела обладали специфичностью к разным фрагментам молекулы VE-кадгерина [30].

Заключение

Результаты исследования позволили выявить взаимосвязь между возрастом пациентов с COVID-19 и особенностями функционирования врожденного и адаптивного иммунитета. Тяжелое и среднетяжелое течение COVID-19 у пациентов старшей возрастной группы сопровождалось снижением активности системы интерферона — одного из важнейших составляющих врожденного иммунитета и снижением активности клеточного иммунитета. Адаптивный иммунитет характеризовался разбросом в показателях уровня продукции IgG и развитием дисбаланса в виде появления аутоантител к ИФН-α2 и к эндотелию кровеносных сосудов.

Соблюдение этических стандартов

Исследование одобрено этическим комитетом Инфекционной клинической больницы № 1 г. Москвы (протокол № 1 от 11 января 2021 г.). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (тема № 056-00119-21-00).

Литература

1. Iwasaki M. Inflammation Triggered by SARS-CoV-2 and ACE2 Augment Drives Multiple Organ Failure of Severe COVID-19: Molecular Mechanisms and Implications / M. Iwasaki, J. Saito, H. Zhao, A. Sakamoto, K. Hirota, D. Ma // *Inflammation*. — 2021. — Vol. 44, № 1. — P. 13-34.
2. Jose R.J. COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation / R.J. Jose, A. Manuel // *Lancet Respir Med*. — 2020. — Published Online April 27, [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30216-2](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30216-2):E46 — E47.
3. Наровлянский, А.Н. Система интерферона при COVID-19 // А.Н. Наровлянский [и др.] // *Иммунология*. — 2022. — Т. 43. С. 245 — 254.
4. Yazdanpanah N. Autoimmune complications of COVID-19 / N. Yazdanpanah, N. Rezaei // *J Med Virol*. — 2022. — V. 94. — P. 54 — 62.

5. Smatti M. K. Viruses and Autoimmunity: A Review on the Potential Interaction and Molecular Mechanisms / M. K. Smatti, F. S. Cyprian, G. K. Nasrallah, A. A. Al Thani, R. O. Almishal, H. M. Yassine, // *Viruses*. — 2019. — V.11. — P. 762 doi:10.3390/v11080762.
6. Eric Y. W. Diverse functional autoantibodies in patients with COVID-19 / E. Y. Wang, T. Mao, J. Klein, Y. Dai, et al. // *Nature*. — 2021. — V. 595. — P. 283–288.
7. Zhou W. Auto-antibodies against type I IFNs are associated with severe COVID-19 pneumonia / W. Zhou, W. Wang // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. — 2021. — V.6, № 1. — P. 96.
8. Sardu C. Hypertension, Thrombosis, Kidney Failure, and Diabetes: Is COVID-19 an Endothelial Disease? A Comprehensive Evaluation of Clinical and Basic Evidence / C. Sardu, J. Gambardella, M. B. Morelli, X. Wang, R. Marfella, G. Santulli // *J. Clin. Med.* — 2020. — 9. — 1417.
9. Каде, А.Х. Физиологические функции сосудистого эндотелия/ А.Х. Каде [и др.] // *Фундаментальные исследования*. — 2011. — № 11 (часть 3) — С. 611–617.
10. Siddiqi H. K. COVID-19 – A vascular disease / H. K. Siddiqi, P. Libby, P. M. Ridker // *Trends in Cardiovascular Medicine*. — 2021. — V.31. — P. 1–5.
11. Varga S. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 / S. Varga, A. J. Flammer, P. Steiger, M. Haberecker, et al. // *www.thelancet.com*. — 2020. — V. 39. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30917-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30917-X)
12. Wang P. A cross-talk between epithelium and endothelium mediates human alveolar – capillary injury during SARS-CoV-2 infection/ P. Wang, R. Luo, M. Zhang, Y. Wang, et al // *Cell Death and Disease*. — 2020. — V.11. — P. 1042-1059.
13. Teijaro J. R. Endothelial Cells Are Central Orchestrators of Cytokine Amplification during Influenza Virus Infection / J. R. Teijaro, K. B. Walsh, S. Cahalan, D. M. Fremgen, E. Roberts, F. Scott, E. Martinborough, R. Peach, M. B.A. Oldstone, H. Rosen // *Cell*. — 2011. — V. 146. — P. 980–991.
14. Escher R. Severe COVID-19 infection associated with endothelial activation / N. Breakey, B. Lammle // *Thromb. Res.* — 2020. — V.190. — P. 62.
15. Belizna C. Specificity, pathogenecity, and clinical value of antiendothelial cell antibodies/ C. Belizna, J. Willem, C. Tervaert // *Semin Arthritis Rheum*. — 1997. — V. 27, № 2. — P. 98-109.
16. Y-H. Yang. Autoantibodies Against Human Epithelial Cells and Endothelial Cells After Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)-Associated Coronavirus Infection / Y-H. Yang, Y-H. Huang, Y-H. Chuang, C-M. Peng, L-C. Wang, Y-T. Lin, B-L. Chiang // *Journal of Medical Virology*. — 2005. — V.77. — P. 1–7.
17. Jaffe E.A. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria / E.A. Jaffe, R.L. Nachman, C.G. Becker, C.R. Minick // *J. Clin. Invest.* — 1973. — V.52. — P. 2745–2756.
18. Scheglovitova O.N. Differences in functional activity of cultured human vascular endothelial cells derived from various donors / O.N. Scheglovitova, N.N. Skliankina, N.V. Boldyreva // *Cell and Tissue biology*. — 2011. — V.5, N4. — P. 353-357.
19. Dou, Y. A Geroscience Approach to Preventing Pathologic Consequences of COVID-19/ Y. Dou, S. Fatemi, M. Darvas, M. Gale, W. Ladiges // *J. of Interf. and Cytok. Res.* — 2020. — V. 40, № 9. — P. 433-437.
20. Hill, J. M. microRNA, the Innate-Immune System and SARS-CoV-2 / J. M. Hill, W. J. Lukiw // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* — 2022. — V. 12. — Article 887800.
21. Ершов, Ф.И. Система интерферона в норме и при патологии / Ф.И. Ершов. — М.: Медицина, 1996. — С. 1–240.
22. Zhang, J. Virus Caused Imbalance of Type 1 IFN response and inflammation in COVID-19 / C. Zhao, W. Zhao // *Front. Immunol.* — 2021. — V.12. — Article 663769.
23. Logunov D. Y. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia / D. Y. Logunov, I. V. Dolzhikova, D. V. Shcheblyakov, A. I. Tukhvatulin et al. // *Lancet*. — 2020. — V. 397. — P. 671–81
24. Walter J. E. Broad-spectrum antibodies against self-antigens and cytokines in RAG deficiency / J. E. Walter, B. R. Lindsey, K. Csomos, J. M. Rosenberg et al // *Clin. Invest.* — 2015. — V. 125, № 11. — P. 4135–4148.
25. Zhang Q. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19 / Q. Zhang, P. Bastard, Z. Liu, J. Le Pen, M. Moncada-Velez et al. // *Science*. — 2020. — V. 370. — P. 422.
26. M. P. Nagele M. P., Endothelial dysfunction in COVID-19: Current findings and therapeutic implications / M. P. Nagele, B. Haubner, F. C. Tanner, F. Ruschitzka, A. J. Flammer // *Atherosclerosis*. — 2020. — V. 314. — P. 58-62.
27. Li M.-Y.. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues / M.-Y. Li, L. Li, Y. Zhang, X.-S. Wang // *Infectious Diseases of Poverty*. — 2020. — V. 9. — P.45.
28. Casciola-Rosen L. IgM autoantibodies recognizing ACE2 are associated with severe COVID-19 / L. Casciola-Rosen, D. R. Thiemann, F. Andrade, M. I. Trejo Zambrano, J. E. Hooper et al. Preprint. 2020 Oct 15. doi: 10.1101/2020.10.13.20211664.
29. Gulino D. Alteration of endothelial cell monolayer integrity triggers resynthesis of vascular endothelium cadherin / D. Gulino, E. Delachanal, E. Concord et al. // *J Biol Chem*. — 1998. — V. 273, № 29. — P. 786–29,793.
30. Blaise S. Soluble vascular endothelial-cadherin and auto-antibodies to human vascular endothelial cadherin in human diseases: Two new biomarkers of endothelial dysfunction / S. Blaise, H. Polena, I. Vilgrain // *Vascular Medicine*. — 2015. — V. 20, № 6. — P. 557-565.

References

1. Masae Iwasaki, Junichi Saito, Hailin Zhao, Atsuhiko Sakamoto, Kazuyoshi Hirota, and Daqing Ma 1, "Inflammation Triggered by SARS-CoV-2 and ACE2 Augment Drives Multiple Organ Failure of Severe COVID-19: Molecular Mechanisms and Implications" *Inflammation*. 2020 DOI: 10.1007/s10753-020-01337-3.
2. Jose RJ, Manuel A. "COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation". *Lancet*, 2020. *Respir Med* 8:E46–E47
3. Narovlyanskij A.N., Ershov F.I., Sanin A.V., Pronin A.V. Sistema interferona pri COVID-19. *Immunologiya*. 2022; 43 (3): 245-254. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2022-43-3-245-254>
4. N. Yazdanpanah, N. Rezaei «Autoimmune complications of COVID 19», *J Med Virol*. 2022; 94:54–62
5. Maria K. Smatti, Farhan S. Cyprian, Gheyath K. Nasrallah, Asmaa A. Al Thani, Ruba O. Almishal and Hadi M. Yassine, «Viruses and Autoimmunity: A Review on the Potential Interaction and Molecular Mechanisms», *Viruses* 2019, 11, 762; doi:10.3390/v11080762 www.mdpi.com/journal/viruses
6. Eric Y Wang, Tianyang Mao, Jon Klein, Yile Dai, et al. «Diverse functional autoantibodies in patients with COVID-19» *Nature*. 2021 Jul; 595(7866):283-288. doi: 10.1038/s41586-021-03631-y.
7. Weilin Zhou, Wei Wang "Auto-antibodies against type I IFNs are associated with severe COVID-19 pneumonia" *Signal*

Transduction and Targeted Therapy (2021) 6:96 ; <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00514-6>

8. Celestino Sardu 1,2,y, Jessica Gambardella 3,4,y, Marco Bruno Morelli 4,5,y, Xujun Wang 4, Ra_aele Marfella 1 and Gaetano Santulli 3,4,5 «Hypertension, Thrombosis, Kidney Failure, and Diabetes: Is COVID-19 an Endothelial Disease? A Comprehensive Evaluation of Clinical and Basic Evidence» J. Clin. Med. 2020, 9, 1417-39;

9. Kade A.H. Zanin S.A. Gubareva E.A. Turovaya A.YU Bogdanova YU.A Apsalyamova S.O Merzlyakova S.N «Fiziologicheskie funktsii sosudistogo endoteliya». Fundamental'nye issledovaniya. — 2011. — № 11 (chast' 3) — S. 611-617

10. Hasan K. Siddiqi, Peter Libby, Paul M Ridker «COVID-19 — A vascular disease» Trends in Cardiovascular Medicine 31 (2021) 1 — 5

11. Susanna Varga, Andreas J Flammer, Peter Steiger, Martina Haberecker, et al. «Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19». www.thelancet.com Vol 395 May 2, 2020. Published Online April 15, 2020 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30917-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30917-X)

12. P. Wang, Ronghua Luo, Min Zhang, Yaqing Wang, et al «A cross-talk between epithelium and endothelium mediates human alveolar—capillary injury during SARS-CoV-2 infection» Cell Death and Disease (2020) 11:1042

13. John R. Teijaro,1,5 Kevin B. Walsh,1,5 Stuart Cahalan,2 Daniel M. Fremgen,1 Edward Roberts,3 Fiona Scott,4 Esther Martinborough,4 Robert Peach,4 Michael B.A. Oldstone,1, * and Hugh Rosen2, «Endothelial Cells Are Central Orchestrators of Cytokine Amplification during Influenza Virus Infection», Cell 2011, 146, 980 — 991

14. R. Escher, N. Breakey, B. Lammle, Severe COVID-19 infection associated with endothelial activation. Thromb. Res. 190, 62 (2020).

15. Cristina Belizna, Jan Willem Cohen Tervaert, «Specificity, pathogenicity, and clinical value of antiendothelial cell antibodies» Semin Arthritis Rheum. 1997 Oct;27(2):98-109. doi: 10.1016/s0049-0172(97)80010-8.

16. Yao-Hsu Yang, Yu-Hui Huang, Ya-Hui Chuang, Chung-Min Peng, Li-Chieh Wang, Yu-Tsan Lin, and Bor-Luen Chiang. «Autoantibodies Against Human Epithelial Cells and Endothelial Cells After Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)-Associated Coronavirus Infection» Journal of Medical Virology 77:1 — 7 (2005)

17. E.A. Jaffe, R.L. Nachman, C.G. Becker, C.R. Minick, Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria, J. Clin. Invest. 52 (1973) 2745 — 2756. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI10747023>

18. Scheglovitova O.N. Skliankina NN, Boldyreva NV «Differences in functional activity of cultured human vascular

endothelial cells derived from various donors» Cell and Tissue biology 2011, V5, N4, 353-357

19. Yan Dou,1 Soroosh Fatemi,1 Martin Darvas,2 Michael Gale, Jr.,3 and Warren Ladiges1 «A Geroscience Approach to Preventing Pathologic Consequences of COVID-19» J. of Interf. And cytok. Res. Volume 40, Number 9, 2020 DOI: 10.1089/jir.2020.29018.dou

20. James M. Hill, Walter J. Lukiw. microRNA, the Innate-Immune System and SARS-CoV-2 Front. Cell. Infect. Microbiol., 2022, 12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.887800>

21. F.I. Ershov «Sistema interferona v norme i pri patologii», Medicina, 1996, 240 s.

22. Jintao Zhang, Chunyuan Zhao, Wei Zhao. «Virus Caused Imbalance of Type 1 IFN response and inflammation in COVID-19». Front. Immunol., 2021, 12 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.633769>.

23. Denis Y Logunov*, Inna V Dolzhikova*, Dmitry V Shcheblyakov, Amir I Tukhvatulin « Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia» www.thelancet.com Published online February 2, 2021 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00234-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8)

24. J. E. Walter et al., Broad-spectrum antibodies against self-antigens and cytokines in RAG deficiency. J. Clin. Invest. 125, 4135 — 4148 (2015). doi: 10.1172/JCI80477; pmid: 26457731

25. Q. Zhang et al., «Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19». Science 370, eabd4570 (2020). doi: 10.1126/science. abd4570

26. Matthias P. Nagele, Bernhard Haubner, Felix C. Tanner, Frank Ruschitzka, Andreas J. Flammer «Endothelial dysfunction in COVID-19: Current findings and therapeutic implications» Atherosclerosis, Volume 314, December 2020, Pages 58-62

27. Meng-Yuan Li, Lin Li, Yue Zhang, Xiao-Sheng Wang, «Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues» Infectious Diseases of Poverty (2020) 9:45 <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00662-x>

28. Casciola-Rosen L. IgM autoantibodies recognizing ACE2 are associated with severe COVID-19 / L. Casciola-Rosen, D. R. Thiemann, F. Andrade, M. I. Trejo Zambrano, J. E. Hooper et al. Preprint. 2020 Oct 15. doi: 10.1101/2020.10.13.20211664.

29. Gulino D, Delachanal E, Concord E, et al. «Alteration of endothelial cell monolayer integrity triggers resynthesis of vascular endothelium cadherin.» J Biol Chem 1998; 273: 29,786 — 793.

30. Sophie Blaise, Helena Polena and Isabelle Vilgrain «Soluble vascular endothelial-cadherin and auto-antibodies to human vascular endothelial cadherin in human diseases: Two new biomarkers of endothelial dysfunction», Vascular Medicine · June 2015, 1 — 9. DOI: 10.1177/1358863X15591201.

Авторский коллектив:

Щегловитова Ольга Николаевна — руководитель лаборатории противовирусного иммунитета Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи, д.м.н., профессор; тел.: 8(495)193-61-43, e-mail: scheglovitova@yandex.ru

Колобухина Людмила Васильевна — руководитель лаборатории респираторных вирусных инфекций с апробацией лекарственных средств Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи; врач-инфекционист Инфекционной клинической больницы № 1, д.м.н., профессор; тел.: 8(495)490-14-15, e-mail: lkolobuchina@yandex.ru

Бабаянц Алла Артемовна — старший научный сотрудник лаборатории противовирусного иммунитета Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи, к.м.н.; тел.: 8(495)193-61-43

Фролова Ирина Сергеевна — научный сотрудник лаборатории противовирусного иммунитета Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи; тел.: 8(495)193-61-43

Исаева Елена Ивановна — ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи, к.м.н.

Кружкова Ирина Сергеевна — научный сотрудник лаборатории респираторных вирусных инфекций с апробацией лекарственных средств Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи; врач-инфекционист Инфекционной клинической больницы № 1; тел.: 8(495)490-14-15, e-mail: irina-kru@yandex.ru

Самков Алексей Александрович — заместитель главного врача по медицинской части Инфекционной клинической больницы № 1; тел.: 8(495)490-14-40, e-mail: a.a.samkov@yandex.ru

Антипят Наталья Александровна — заместитель главного врача по медицинской части Инфекционной клинической больницы № 1; тел.: 8(495)490-14-40, e-mail: natadoc70@bk.ru

Тюрин Игорь Николаевич — главный врач Инфекционной клинической больницы № 1, тел.: 8(495)942-46-20, e-mail: tyurin.dti@yandex.ru

Наровлянский Александр Наумович — руководитель отдела интерферонов Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи, д.м.н., профессор; тел.: 8(499)193-43-06, e-mail: narovl@yandex.ru

Ершов Феликс Иванович — главный научный сотрудник Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи, д.м.н., профессор, академик РАН; тел.: 8(499)193-61-91, e-mail: felixershov@gmail.com