

ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19: ОБЩИЕ ТЕНДЕНЦИИ И ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ

Т. В. Глазанова , Е. Р. Шилова, Ю. С. Ефремова, Ж. В. Чубукина, С. С. Бессмельцев

Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Особенности индивидуальных иммунных реакций после перенесенного COVID-19 недостаточно изучены. Целью работы было охарактеризовать изменения показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета после перенесенного COVID-19 с оценкой общих тенденций и индивидуальных особенностей. У 125 невакцинированных пациентов, перенесших COVID-19 (29 мужчин и 96 женщин, Me возраста — 53 года), через 1–4 месяца после выздоровления методом проточной цитометрии определяли относительное содержание Т-лимфоцитов (CD3⁺), В-лимфоцитов (CD19⁺), клеток с маркерами поздней активации (CD3⁺HLA-DR⁺). Исследовали уровень циркулирующих иммунных комплексов — среднемолекулярных (ЦИКср) и низкомолекулярных (ЦИКн) и содержание антител к SARS-CoV-2 методом ИФА. Достоверные отличия от нормы ($p < 0,001$) выявлены для Т-клеток — повышение ($74,4 \pm 1,2\%$ против $68,6 \pm 1,1\%$) и В-клеток — снижение ($10,2 \pm 0,7\%$ против $13,9 \pm 0,9\%$) в группе с легким течением. В группах со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19 повышен уровень CD3⁺HLA-DR⁺ лимфоцитов ($7,7 \pm 0,4\%$ и $15,7 \pm 2,5\%$ соответственно, против $3,9 \pm 0,8\%$ в контроле; $p < 0,01$). У всех обследованных повышен уровень ЦИКн (в 2,6–2,9 раз) и ЦИКср (в 1,6–1,8 раз). Защитный уровень антител к SARS-CoV-2 выше 150 BAU/мл отмечен примерно у 50% обследованных с легкой формой инфекции, у 75% — со среднетяжелой формой и у 100% — с тяжелой. Связи между иммунными нарушениями и клиническими особенностями течения COVID-19 и постковидного периода не обнаружено, кроме наличия абдоминального синдрома в остром периоде болезни. Описан клинический случай выявления в раннем постковидном периоде патологического клона, характерного для В-клеточного хронического лимфолейкоза с последующим его исчезновением и нормализацией иммунофенотипа при повторном обследовании через 1,5 года. Сохраняющиеся иммунологические сдвиги необходимо учитывать для оценки рисков повторного заражения и развития возможных осложнений.

Ключевые слова: COVID-19, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, иммуноглобулины, циркулирующие иммунные комплексы, индивидуальные особенности

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено Комитетом по этике (ЛЭК) ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России (протокол № 31 от 20.07.2023 г.). Все участники подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Татьяна Валентиновна Глазанова
ул. 2-я Советская, д. 16, г. Санкт-Петербург, 191023, Россия; tatyana-glazanova@yandex.ru

Статья получена: 02.04.2024 **Статья принята к печати:** 08.06.2024 **Опубликована онлайн:** 30.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.028

CHANGES IN SOME IMMUNOLOGICAL PARAMETERS AFTER COVID-19: GENERAL TRENDS AND INDIVIDUAL CHARACTERISTICS

Glazanova TV , Shilova ER, Efremova YS, Chubukina JV, Bessmeltsev SS

Russian Hematology and Transfusiology Research Institute of the Federal Medical Biological Agency, St. Petersburg, Russia

The specifics of individual immune reactions after COVID-19 have not been studied sufficiently. This study aimed to describe the changes in indicators of cellular and humoral levels of immunity after COVID-19, and gage general trends and individual characteristics. We sampled blood of 125 unvaccinated COVID-19 patients (29 men and 96 women, median age 53 years) 1 to 4 months after recovery, and determined the relative content of T-lymphocytes (CD3⁺), B-lymphocytes (CD19⁺), and cells with late activation markers (CD3⁺HLA-DR⁺) in them using flow cytometry. With the help of ELISA, we have registered the level of circulating immune complexes, which can be medium molecular weight (CICmed) and low molecular weight (CIClow), and the content of antibodies to SARS-CoV-2. In the mild course group, significant differences from the normal values ($p < 0.001$) were found for T cells (growth, $74.4 \pm 1.2\%$ vs. $68.6 \pm 1.1\%$) and B cells (decline, $10.2 \pm 0.7\%$ vs. $13.9 \pm 0.9\%$). In the moderately severe course and severe course groups, the level of CD3⁺HLA-DR⁺ lymphocytes was increased ($7.7 \pm 0.4\%$ and $15.7 \pm 2.5\%$, respectively, versus $3.9 \pm 0.8\%$ in the control group; $p < 0.01$). All the examined patients had high levels of CIClow (2.6–2.9-fold increase) and CICmed (1.6–1.8-fold increase). The protective level of antibodies to SARS-CoV-2 above 150 BAU/ml was registered in about 50% of the mild group participants, 75% of the moderately severe group members, and 100% of patients who had the disease in a severe form. We detected no connections between immune disorders and clinical features of the course of the disease and the period thereafter, with the exception of abdominal syndrome peculiar to the acute stage of the disease. The article also describes a clinical case of detection in the early post-COVID-19 period of a pathological clone characteristic of B cell chronic lymphocytic leukemia, and its subsequent disappearance and normalization of the immunophenotype as registered during a follow-up 1.5 years after recovery. The persistent immunological shifts should be taken into account when assessing the risks of reinfection and possible complications.

Keywords: COVID-19, T-lymphocytes, B-lymphocytes, circulating immune complexes, individual characteristics

Compliance with the ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Russian Hematology and Transfusiology Research Institute of the FMBA of Russia (Minutes #31 of July 20, 2023). All participants have voluntarily signed informed consent forms.

✉ **Correspondence should be addressed:** Tatyana Valentinovna Glazanova
2-ya Sovetskaya, 16, St. Petersburg, 191023, Russia; tatyana-glazanova@yandex.ru

Received: 02.04.2024 **Accepted:** 08.06.2024 **Published online:** 30.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.028

С момента появления новой коронавирусной инфекции COVID-19 накоплен значительный материал, касающийся факторов риска тяжелого течения заболевания, особенностей постковидного периода. Достаточно подробно исследованы механизмы повреждения клеток и тканей

под воздействием вируса SARS-CoV-2 и формирования иммунной защиты. В то же время результаты различных исследований свидетельствуют о наличии индивидуальной реакции системы иммунитета на заболевание, не связанной с возрастом или полом. Остаются открытыми

вопросы, касающиеся как роли отдельных факторов иммунитета при инфекции COVID-19, так и особенностей индивидуальных реакций в различных группах пациентов, в том числе в постковидном периоде, особенно в связи с тем, что эффективность защиты от повторного заражения во многом зависит от возможности сохранения иммунной памяти после встречи с вирусом. При этом, если особенностям гуморального ответа посвящено достаточно много публикаций последних лет, то состоянию Т-клеточного иммунитета уделяется значительно меньше внимания, хотя данное звено играет важную роль в формировании адаптивного иммунитета и синтез специфических иммуноглобулинов еще не свидетельствует о наличии протективного иммунного ответа [1–4]. Более того, имеются сообщения, свидетельствующие о том, что титр защитных антител к SARS-CoV-2 не оказывает существенного влияния на риск развития постковидного синдрома [5].

Термин «длительный COVID» или «Long-COVID», который начали широко использовать с 2020 г., подразумевает различные симптомы, сохраняющиеся либо проявляющиеся через несколько недель или месяцев после заражения SARS-CoV-2, а в Международную классификацию болезней МКБ-10 с шифром U09.9 включен самостоятельный диагноз — состояние после COVID-19 (Post-COVID-19 condition). Проявления постковидного синдрома могут сохраняться на протяжении трех и более месяцев после острой стадии COVID-19 [6, 7]. В то же время длительное сохранение иммунного дисбаланса может выявляться и без явных клинических проявлений постковидного синдрома. Наличие маркеров эффективной противoinфекционной защиты в течение 4–6 и более месяцев после вакцинации или ранее перенесенного заболевания не всегда предотвращает повторные заражения, тем более что даже такой значимый показатель, как количество специфических антител, не является единственным фактором, определяющим нейтрализующую активность [8]. Кроме того, нарушение регуляции иммунного ответа может быть предрасполагающим фактором в отношении вторичных бактериальных и грибковых инфекций у перенесших COVID-19 [9].

В публикациях, освещающих данные проблемы, имеются указания на ряд общих тенденций. Отмечалось изменение состава циркулирующих иммунных клеток: повышение числа активированных Т-лимфоцитов, короткоживущих высокодифференцированных CD8⁺-Т-лимфоцитов, провоспалительных Т-хелперов. Это сопровождалось изменением доли противовоспалительных Т-регуляторных клеток и нарушением их функции, наряду с увеличением содержания НК-клеток (CD16⁺/CD56⁺) [10–13]. Характерно длительное повышение уровня плазменного IgA и количества циркулирующих иммунных комплексов [2]. В то же время особенностью иммунного ответа на SARS-CoV-2, отмечаемой многими исследователями, является его значительная вариабельность [2, 12, 13], а попытки выявить четкие закономерности такого ответа и формирования иммунной памяти при новой коронавирусной инфекции до настоящего времени остаются малоуспешными.

Все это диктует необходимость дальнейшего изучения состояния системы иммунитета после контакта с вирусом SARS-CoV-2.

Цель данного исследования — характеристика изменений некоторых показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета после перенесенного COVID-19 с оценкой общих тенденций и индивидуальных особенностей.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Критерии включения в исследование: перенесенная инфекция COVID-19 с выздоровлением в период от 1 до 4 месяцев до начала исследования. Критерии исключения: наличие хронической соматической патологии (в том числе заболеваний дыхательной и сердечно-сосудистой систем, сахарного диабета, подтвержденного иммунодефицита и др.); положительный результат анализа на коронавирусную инфекцию SARS-CoV-2, полученный методом ПЦР. В исследование вошло 125 пациентов, не прошедших вакцинацию и перенесших инфекцию COVID-19 в период 2020–2021 гг. Среди них 29 мужчин и 96 женщин в возрасте 25–83 лет (медиана — 53 года), средний срок после перенесенного COVID-19 — 2,6 месяцев (медиана — 2 месяца). Дополнительно была повторно обследована группа из 14 пациентов в срок 6–8 месяцев после выздоровления, из них 2 мужчин и 12 женщин. По степени тяжести перенесенной COVID-19-инфекции: легкая форма заболевания отмечена у 61 человека, среднетяжелая — у 55 и тяжелая — у 9. Степень тяжести в период заболевания определяли на основании критериев, установленных текущей версией Методических рекомендаций по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции COVID-19, с учетом лихорадки, выраженности одышки, сатурации крови, уровня С-реактивного белка в сыворотке крови и данных КТ-исследований. Данные были получены из представленной обследованными лицами медицинской документации. Перед взятием образца крови на исследование проводили опрос, касающийся таких клинических симптомов, встречающихся в постковидном периоде, как наличие нарушений обоняния и вкуса, абдоминального синдрома, кожного синдрома (сухость и шелушение кожи).

Для определения субпопуляций лимфоцитов при помощи лазерного проточного цитофлуориметра «Navios» (Beckman Coulter; США) использовали следующую панель моноклональных антител (Beckman Coulter; США): CD3-FITC, CD8-PE, CD19-ECD, CD16-Pc5.5, CD56-Pc7, CD4-APC, CD25-A700, HLA-DR-PB, CD45-KO. Выделяли лимфоцитарный регион по параметрам прямого и бокового светорассеяния с гейтированием по CD45. Уровень общих сывороточных иммуноглобулинов классов G, A и M определяли методом турбидиметрии на автоматическом биохимическом анализаторе «Vitalon 400» (набор реагентов «Human»; Германия). Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) низкой (ЦИК_н) и средней (ЦИК_{ср}) молекулярной массы определяли методом измерения оптической плотности после осаждения полиэтиленгликолем в различной концентрации, сравнивая с контрольными образцами, не содержащими исследуемых сывороток. Результаты выражали в условных единицах (усл. ед.) [14]. Содержание антител класса G к SARS-CoV-2 определяли иммуноферментным методом с использованием тест-систем «SARS-CoV-2-IgG количественный ИФА-БЕСТ» («БЕКТОР-БЕСТ»; Россия), выражая результаты в международных единицах BAU (от англ. binding antibody units — единица связывания антител) в 1 мл. Пороговым значением, установленным для полноценной противовирусной защиты от COVID-19, считают уровень антител 150 BAU/мл, при котором все образцы в проведенных лабораторных исследованиях обладали вируснейтрализующим эффектом [15].

Группой контроля, в качестве условно здоровых лиц, послужили 35 доноров крови, без инфекции COVID-19

Таблица 1. Показатели клеточного иммунитета у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в зависимости от степени тяжести заболевания

Показатель Группа	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD16 ⁺ /CD56 ⁺ (%)	CD19 ⁺ (%)
Легкая форма n = 61 (I)	74,4 ± 1,2	45,4 ± 1,2	26,3 ± 1,1	4,2 ± 0,2	12,5 ± 0,8	10,2 ± 0,7
Среднетяжелая форма n = 55 (II)	69,7 ± 1,7	45,7 ± 1,6	23,1 ± 1,4	7,7 ± 0,4	12,9 ± 1,0	13,3 ± 1,2
Тяжелая форма n = 9 (III)	69,5 ± 4,5	43,8 ± 4,0	23,6 ± 3,9	15,7 ± 2,5	13,3 ± 1,6	13,3 ± 2,8
Контроль n = 35 (IV)	68,6 ± 1,1	42,6 ± 1,1	24,0 ± 0,9	3,9 ± 0,8	12,4 ± 1,0	13,9 ± 0,9
p _{I-IV}	< 0,001	–	–	–	–	< 0,001
p _{II-IV}	–	–	–	< 0,01	–	–
p _{III-IV}	–	–	–	< 0,01	–	–

в анамнезе. Для статистической обработки результатов использовали пакет программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc.; США). Группы сравнивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У всех обследованных лиц после перенесенной инфекции COVID-19 отмечались отклонения отдельных показателей клеточного звена иммунитета, уровня иммуноглобулинов класса А и ЦИК от показателей контрольной группы, свидетельствующие о наличии дисбаланса иммунной системы.

При оценке отдельных субпопуляций лимфоцитов у лиц, перенесших COVID-19, оказалось, что в целом достоверные отличия от нормальных значений средних иммунологических показателей в группах, поделенных по степени тяжести, наблюдались для Т-лимфоцитов (CD3⁺) и В-лимфоцитов (CD19⁺) только в группе с легким течением: соответственно повышение и снижение относительного содержания (табл. 1). В группах же со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19 достоверных различий этих показателей от группы контроля не отмечалось, однако наблюдалось повышение относительного содержания Т-лимфоцитов с маркерами поздней активации (CD3⁺HLA-DR⁺).

При наблюдавшемся значительном колебании значений в группе с легкой формой заболевания уровень CD3⁺-лимфоцитов был повышен примерно в 4 раза чаще, чем снижен, тогда как для уровня CD19⁺-лимфоцитов, напротив, снижение наблюдалось в 12 раз чаще, чем повышение (табл. 2). Схожие закономерности наблюдались и у лиц со среднетяжелой формой: повышенный уровень CD3⁺-лимфоцитов отмечен в 1,9 раза чаще, чем сниженный, а уровень CD19⁺-лимфоцитов был в 2,2 раза чаще снижен, чем повышен. При тяжелом течении заболевания, напротив, снижение уровня CD3⁺-лимфоцитов наблюдалось в 2 раза чаще, чем повышение, а повышение уровня CD19⁺ — в 2,2 раза чаще, чем снижение.

Таблица 2. Частота встречаемости отклонений в показателях CD3⁺ и CD19⁺ клеток периферической крови лиц, перенесших COVID-19 (% из числа обследованных)

Показатель Группа	Уровень CD3 ⁺			Уровень CD19 ⁺		
	Повышен	Снижен	В норме	Повышен	Снижен	В норме
Легкая форма	50%	12%	38%	6%	74%	20%
Среднетяжелая форма	38%	20%	42%	22%	49%	29%
Тяжелая форма	22%	44%	34%	56%	22%	22%

Достоверных различий по уровню иммуноглобулинов G и M в обследованных группах не отмечено. Во всех группах наблюдалось снижение концентрации в сыворотке иммуноглобулина А, статистически значимое у перенесших легкую и тяжелую форму COVID-19 относительно нормальных значений: соответственно 2,3 ± 0,1 г/л ($p < 0,01$), и 2,0 ± 0,4 г/л ($p < 0,05$) против 2,8 ± 0,1 г/л в контрольной группе.

Кроме того, обращал на себя внимание повышенный уровень циркулирующих иммунных комплексов во всех обследованных группах пациентов, перенесших COVID-19 (табл. 3).

Особенно значительное повышение уровня ЦИКн (свыше 400 усл. ед.) было отмечено у 39 человек (30,5% от общей группы, 30,3% от числа обследованных лиц женского пола и 31% в группе обследованных мужчин). Среди них преобладали лица, перенесшие инфекцию COVID-19 в среднетяжелой форме (23 человека), что составило 40,4% всех обследованных, перенесших COVID-19 средней степени тяжести. Существенных различий по возрастному составу в подгруппе с наиболее высокими значениями ЦИКн не было: медиана возраста 56 лет (от 29 до 83 лет) против 53 лет в общей группе.

Определение уровня антител класса G к SARS-CoV-2 показало, что их защитный уровень выше порогового значения в 150 БАУ/мл отмечен в группе с легкой формой перенесенной инфекции у 51,5% обследованных, в группе со среднетяжелой формой — у 75,8%, и в группе с тяжелой формой — у 100% обследованных лиц.

В группе из 14 человек, повторно обследованных в более поздние сроки (6–8 месяцев после выздоровления), было отмечено сохранение выраженных отклонений у восьми человек (57%). Наиболее часто определялось сохранение значительно повышенного (>300 усл. ед.) уровня ЦИКн, выявленное у семи человек, причем пять из них перенесли инфекцию в легкой форме и два — средней тяжести. У двоих обследованных оставалось повышенным (>7% против 3,9 ± 0,8% в норме) содержание Т-клеток с маркерами поздней активации (CD3⁺HLA-DR⁺).

Таблица 3. Содержание ЦИК у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в зависимости от степени тяжести заболевания

	ЦИКср (усл. ед.)	ЦИКн (усл. ед.)
Легкая форма $n = 61$ (I)	$53,9 \pm 3,1$	$331,1 \pm 12,7$
Среднетяжелая форма $n = 55$ (II)	$61,8 \pm 3,8$	$362,8 \pm 18,0$
Тяжелая форма $n = 9$ (III)	$63,6 \pm 7,0$	$325,4 \pm 22,5$
Контроль $n = 35$ (IV)	$34,1 \pm 3,6$	$122,5 \pm 11,9$
p_{I-IV}	$p < 0,001$	$p < 0,001$
p_{II-IV}	$p < 0,001$	$p < 0,001$
p_{III-IV}	$p < 0,001$	$p < 0,001$

У 2 обследованных отмечено значительное нарушение соотношения $CD4^+/CD8^+$ с повышением содержания $CD4^+$ -клеток (Т-хелперов). У одной пациентки определялся повышенный до 4 г/л уровень сывороточного IgA при норме $2,8 \pm 0,1$ г/л.

Таким образом, наряду с изменениями, соответствующими характеру нарушений показателей иммунитета у большинства переболевших инфекцией SARS-CoV-2, можно отметить, что у некоторых из обследованных лиц наблюдались отклонения, не характерные для общей группы в целом.

По клиническим данным примерно у половины пациентов во время болезни и в постковидном периоде отмечались такие проявления, как значительные нарушения обоняния и вкуса (46,9%), у четвертой части — абдоминальные симптомы в виде болей в животе и диспептических явлений (26,6%), а также сухость и шелушение кожи у значительной части обследованных (39,8%). У большей части опрошенных лиц перечисленные симптомы встречались в сочетании. Убедительных различий по данным симптомам у перенесших COVID-19 в группе с повышением ЦИКн менее и более 400 усл. ед. не выявлено (табл. 4), за исключением сопровождавшего острый период болезни абдоминального синдрома, который в группе со значительным превышением ЦИК встречался в 2 раза чаще.

Что касается изменений в показателях клеточного звена иммунитета, то четких закономерностей и ассоциаций с клиническими данными отметить не удалось. Тем не менее, обращали на себя внимание некоторые особенности после перенесенного COVID-19 у отдельных больных. Так при сочетании сниженного относительного содержания $CD3^+$ -лимфоцитов с повышенным содержанием $CD19^+$ -лимфоцитов (наблюдалось у четверых больных) трое из них (в возрасте 62–65 лет) предъявляли жалобы на выраженную сухость и шелушение кожи, и у двоих отмечалась выраженная алопеция. Среди лиц более молодого возраста один из обследованных, мужчина 44 лет, у которого значительное (до 49,1%) снижение содержания $CD3^+$ -лимфоцитов сочеталось со значительным повышением уровней ЦИКср и ЦИКн (102 усл. ед. и 520 усл. ед. соответственно), длительное время отмечал наряду с выраженной слабостью и когнитивными нарушениями также онемение пальцев рук и ног, головные боли, что можно расценить как постковидные

неврологические нарушения. У одной из пациенток 40 лет, особенностью которой было лишь снижение уровня $CD3^+$ -лимфоцитов, течение COVID-19 сопровождалось выраженными абдоминальными болями и длительными диспептическими явлениями в постковидном периоде. Однако последнее можно также связать с проведенной терапией антибиотиками и дисбиозом.

Приводим также случай выявления патологического клона в постковидном периоде.

Пациентка А., 64 лет. В анамнезе значимых хронических заболеваний нет. Умеренные проявления дискинезии желчевыводящих путей и начальные проявления артериальной гипертензии. Перенесла COVID-19 средней степени тяжести в августе 2021 г. Обследована впервые через месяц после перенесенной инфекции. Среди особенностей постковидного периода можно отметить длительно сохранявшуюся общую слабость, выраженную алопецию и умеренно выраженные нарушения вкусовых ощущений. Основные показатели гемограммы на момент обследования — в пределах нормы. Число лейкоцитов — $5,5 \times 10^9/\text{л}$, абсолютное число лимфоцитов — у нижней границы нормы ($1,3 \times 10^9/\text{л}$). По данным проточной цитометрии при первичном обследовании отмечен ряд отклонений по сравнению с показателями здоровых лиц. Выявлено нарушение субпопуляционного состава лимфоцитов за счет повышенного относительного содержания В-клеток ($CD19^+$) до 57,3%. При этом иммунофенотип В-клеток патологический и соответствует В-хроническому лимфопролиферативному заболеванию — хроническому лимфолейкозу (ХЛЛ): $CD19^+CD20^{\text{low}}CD22^{\text{low}}CD5^+CD23^+CD43^+CD200^+$ (см. рисунок).

Изменения в показателях гуморального звена иммунитета соответствовали изменениям в общей группе, обращал на себя внимание лишь более высокий (но в пределах нормальных значений), чем у большинства обследованных, уровень IgA.

Наличие патологического клона, характерного для В-ХЛЛ, подтверждено повторно проведенным анализом из свежего образца периферической крови. При этом признаков наличия лимфаденопатии, морфологически измененных лимфоцитов в клинических анализах крови не наблюдалось. Тем не менее, не исключалась случайно выявленная начальная стадия хронического лимфолейкоза (ХЛЛ-стадия 0). Планировалось наблюдение в динамике с дообследованием на клональность.

Таблица 4. Частота встречаемости отдельных клинических проявлений у лиц, перенесших COVID-19, в зависимости от уровня ЦИКн

Группы с показателем ЦИКн	Абдоминальный синдром	Нарушение вкуса и обоняния	Кожные проявления
< 400 усл. ед. ($n = 89$)	20,20%	46,10%	39,30%
> 400 усл. ед. ($n = 39$)	41%	48,70%	41%

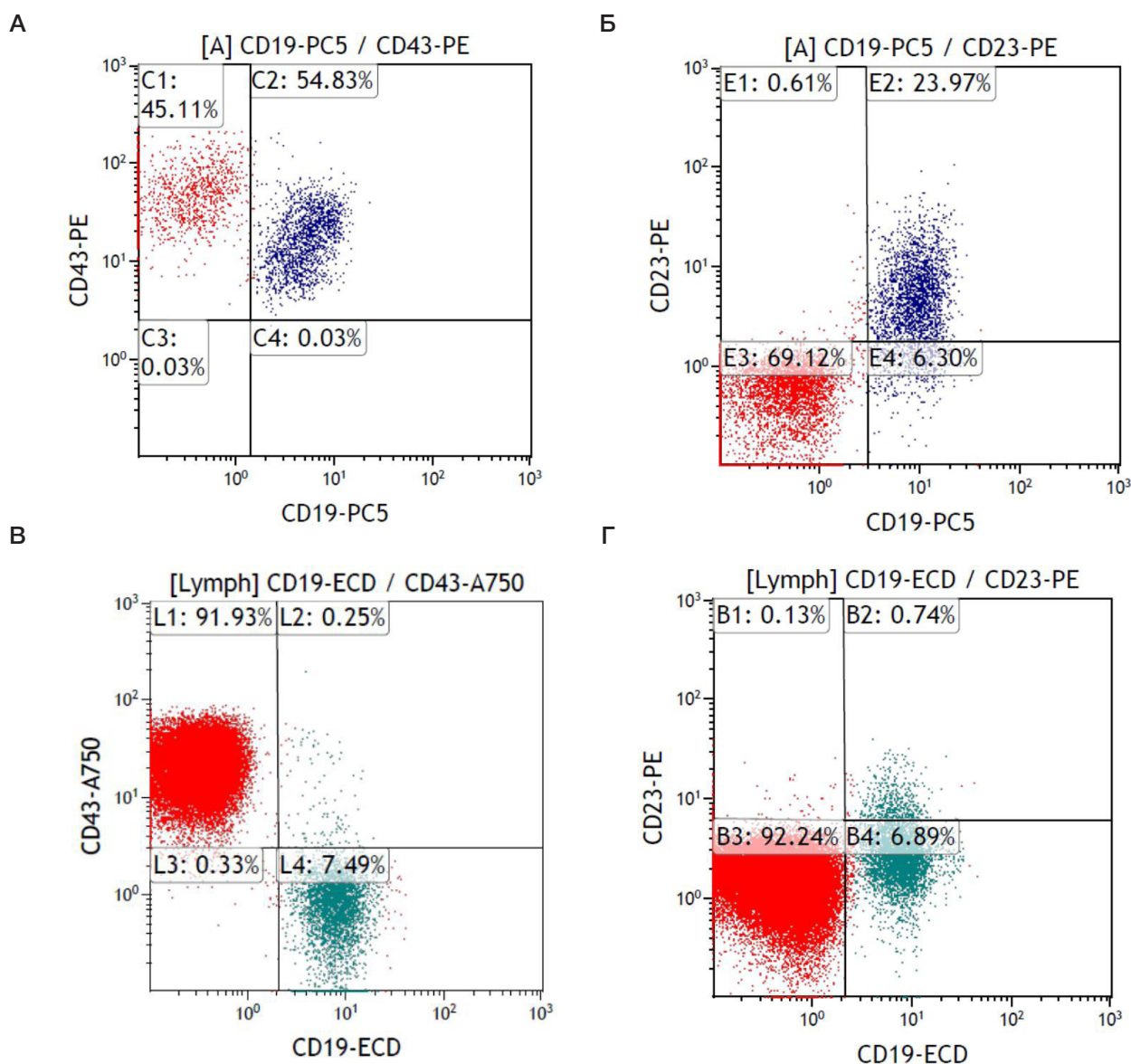


Рис. Результаты иммунофенотипического исследования пациентки **А**. Исследование выполнено на 10-цветном проточном цитофлуориметре «Navios» (Beckman Coulter; США). Лимфоцитарный пул выделяли по параметрам прямого и бокового светорассеяния с гейтированием по CD45. **А, Б**. Результаты исследования в августе 2021 г. Для представленных гистограмм использовали пятицветную панель: 1) CD20-FITC+CD23-PE+CD45-ECD+CD19-PC5+CD5-PC7 и 2) CD22-FITC+CD43-PE+CD19-PC5+CD45-PC7. **В, Г**. Результаты исследования в апреле 2023 г. Для представленных гистограмм использовали 10-цветную панель FMC7-FITC+CD23-PE+CD19-ECD+CD79b-PC5.5+CD200-PC7+CD43-A750+CD38-A700+IgM-PB+CD45-KO. По горизонтальной оси: CD19⁺ (%), по вертикальной: **А и В** — CD43⁺ (%), **Б и Г** — CD23⁺ (%). Правые верхние квадранты всех представленных гистограмм (C2 (**А**), E2 (**Б**), L2 (**В**) и B2 (**Г**)) показывают регион, где должен располагаться клон патологических клеток, характерных для В-ХЛЛ

Общее самочувствие пациентки нормализовалось по истечении года после перенесенной инфекции COVID-19. За медицинской помощью не обращалась, никаких медицинских мероприятий не проводилось, за исключением 1,5-месячного курса поливитаминов. Повторное обследование было проведено в апреле 2023 г. и показало следующее: относительное содержание зрелых Т-лимфоцитов (CD3⁺), NK-клеток (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) — в пределах нормальных значений. Имеется дисбаланс содержания основных субпопуляций эффекторных клеток за счет повышенного содержания Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺). Зрелые В-клетки поликлональны, имеют нормальный фенотип CD19⁺ CD20⁺ CD22⁺ CD79b⁺ IgM⁺ и составляют около 8,0% среди общего пула лимфоцитов (CD45⁺). Патологический клон В-лимфоцитов с фенотипом В-ХЛЛ не выявлен. До настоящего времени (апрель 2024 г.) состояние пациентки остается удовлетворительным, патологических симптомов не отмечается.

Результаты исследования отдельных субпопуляций лимфоцитов представлены на рисунке.

Таким образом, при обследовании пациентки в динамике не получено данных, свидетельствующих о хроническом лимфопролиферативном заболевании. Нарушения субпопуляционного состава лимфоцитов расценены как изменения реактивного характера на фоне активации В-клеточного звена под влиянием инфекции COVID-19.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

За время, прошедшее с появления новой коронавирусной инфекции, накоплен значительный материал, касающийся особенностей формирования иммунного ответа на попадание вируса SARS-CoV-2 в организм человека. И по мере накопления данных было отмечено, что имеются как общие тенденции, так и индивидуальные особенности

иммунной реакции у различных пациентов, а у некоторых возникает дисфункциональный иммунный ответ [12, 13, 16]. Значительные различия в иммунологических показателях у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, могут быть обусловлены большим количеством факторов, от врожденных особенностей реагирования иммунной системы до дисбиоза и коморбидности [17, 18].

Оценить сохраняющиеся иммунные нарушения важно с точки зрения формирования полноценного противовирусного иммунитета, определяющегося согласованным действием клеточного и гуморального звена. Имеются также данные, свидетельствующие о том, что COVID-19, приводя к дисрегуляции иммунной системы, может способствовать развитию аутоиммунных осложнений [16, 19, 20].

Долгое восстановление показателей иммунитета после COVID-19 может быть объяснено так называемой «выжатой» иммунной системой при тяжелом течении заболевания и такой особенностью вируса SARS-CoV-2, как способность подавлять формирование адаптивного иммунного ответа, влиять на количество и функциональную активность эффекторов клеточного иммунитета — лимфоцитов, вызывая нарушение лимфопоэза, апоптоз и «истощение» этих клеток [1].

Как показало приведенное клиническое наблюдение, возможны необычные изменения показателей иммунитета в постковидный период, в том числе появление клеток с характеристиками патологических клонов. Это диктует необходимость продолжительного наблюдения за перенесшими инфекцию SARS-CoV-2 пациентами и свидетельствует о том, что данная инфекция может предрасполагать к развитию нарушений гемопоэза, сопутствующих дисбалансу иммунной системы.

Считается, что если у переболевших COVID-19 титр нейтрализующих антител остается высоким в период 6 и более месяцев, а SARS-CoV-2 Spike и RBD IgG сохраняются длительный период, то предполагается персистенция вируса в организме переболевшего или его микробиоте, что закономерно отразится на состоянии иммунной системы. При этом постоянное присутствие вирусных антигенов, вызывающих иммуноопосредованное повреждение, способствует поликлональной активации иммунокомпетентных клеток, а длительное увеличение количества ЦИК и активированных Т-лимфоцитов, описываемое в литературе и отмеченное в нашем исследовании, считается признаком недостаточно эффективной элиминации возбудителя [20, 21]. Очевидно, при проведении реабилитационных мероприятий следует учитывать такую вероятность.

Таким образом, данные литературы и наши результаты позволяют говорить о некоторых общих тенденциях в изменениях основных показателей клеточного и гуморального иммунитета у лиц, перенесших COVID-19. В то же время имеются отдельные пациенты с необычными отклонениями иммунологических показателей в постковидном периоде. Часть из этих отклонений можно связать с возрастом переболевших и тяжестью перенесенной инфекции, но роль и значение других остается неясной. По-видимому, особого внимания при наблюдении в отдаленные сроки требуют лица, у которых

сохраняются изменения таких показателей, как Т-клетки с маркерами поздней активации, иммуноглобулины класса А и низкомолекулярные ЦИК, поскольку они играют существенную роль в развитии инфекционно-воспалительных и аутоиммунных реакций [20, 22].

Учитывать сохраняющиеся иммунологические сдвиги важно как для оценки рисков повторного заражения, так и при индивидуальном подходе к обсуждению вопроса о ревакцинации. Есть необходимость в дальнейшем наблюдении и проведении исследований для лучшего понимания особенностей изменений иммунного профиля вследствие перенесенной COVID-инфекции. Кроме того, требуются дальнейшие исследования состояния регуляторных механизмов иммунитета у пациентов, перенесших COVID-19, и разработка информативных прогностических критериев для оценки постковидного состояния. В настоящее время без проведения масштабного многофакторного анализа в однородных по исходным данным, возрасту, штамму возбудителя и тяжести заболевания группах лиц, оценить в полной мере индивидуальные риски не представляется возможным. Новые данные позволят индивидуализировать графики ревакцинации от новой коронавирусной инфекции и создать программы рациональной иммунокоррекции, которые будут способствовать повышению резистентности к повторным заражениям.

ВЫВОДЫ

У всех перенесших COVID-19, независимо от степени тяжести, при обследовании через 1–4 месяца после выздоровления наблюдается дисбаланс показателей иммунной системы, у большинства сохраняющийся и в более поздние сроки. Для перенесших легкую форму заболевания характерно повышение относительного содержания Т-клеток CD3⁺ и снижение В-клеток (CD19⁺), а также уровня IgA в сыворотке. Почти у половины лиц этой группы выявлен сниженный уровень защитных антител к SARS-CoV-2 (<150 BAU/мл). При тяжелой форме заболевания в постковидном периоде чаще, чем в остальных группах, наблюдался повышенный уровень CD19⁺-клеток, отмечалось наиболее выраженное снижение уровня IgA по сравнению с другими группами и защитный уровень антител выявлен у всех обследованных. В группе со среднетяжелой формой некоторые отклонения (повышение содержания CD3⁺-клеток, снижение CD19⁺-клеток) были схожими с таковыми в группе с легкой формой, но менее выраженными, реже наблюдалось снижение уровня защитных антител и недостоверным было повышение IgA. Наряду с общими тенденциями, у отдельных лиц с нехарактерными отклонениями показателей иммунитета, в том числе у одной наблюдаемой пациентки, зафиксировано появление патологического клона, характерного для В-ХЛЛ, через месяц после перенесенного заболевания и его спонтанное исчезновение в поздние сроки. Генез таких нарушений на сегодняшний день не вполне ясен и пациенты, перенесшие COVID-19, очевидно, нуждаются в длительном наблюдении и динамическом обследовании не только с точки зрения постковидного синдрома, как такового, но и для дальнейшего изучения и всесторонней оценки возникающего у них иммунного дисбаланса.

Литература

1. Иванова И. А., Омельченко Н. Д., Филиппенко А. В., Труфанова А. А., Носков А. К. Роль клеточного звена иммунитета в формировании иммунного ответа при коронавирусных инфекциях. *Медицинская иммунология*. 2021; 23 (6): 1229–38. DOI: 10.15789/1563-0625-ROT-2302.
2. Семенова Е. В., Павлюк В. В., Уварова М. А., Иванов А. В. Особенности гуморального иммунитета после перенесенного COVID-19. *Медицинская иммунология*. 2022. 24 (2): 337–50. DOI: 10.15789/1563-0625-FOH-2452.
3. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*. 2021; 184 (4): 861–80. DOI: 10.1016/j.cell.2021.01.007.
4. Mohn KG, Bredholt G, Zhou F, et al. Durable T-cellular and humoral responses in SARS-CoV-2 hospitalized and community patients. *PLoS ONE*. 2022; 17 (2): e0261979. DOI: 10.1371/journal.pone.0261979.
5. Асфандиярова Н. С., Филиппов Е. В., Дашкевич О. В., Якубовская А. Г., Мосейчук К. А., Журавлева Н. С. и др. Факторы риска развития постковидного синдрома. *Клиницист*. 2022; 16 (4): 19–26. DOI: 10.17650/1818-8338-2022-16-4-K671.
6. Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, Madhavan MV, McGroder C, Stevens JS, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med*. 2021; 27 (4): 601–15. DOI: 10.1038/s41591-021-01283-z.
7. Su S, Zhao Y, Zeng N, Liu X, Zheng Y, Sun J, et al. Epidemiology, clinical presentation, pathophysiology, and management of long COVID: an update. *Molecular Psychiatry*. 2023; 28 (10): 4056–69. DOI: 10.1038/s41380-023-02171-3.
8. Генералова Л. В., Григорьев И. В., Васина Д. В., Ткачук А. П., Кружкова И. С., Колобухина Л. В. и др. Свойства антител к RBD у переболевших COVID-19 и вакцинированных препаратом «СПУТНИК V». *Вестник РГМУ*. 2022; 1: 15–22. DOI: 10.24075/vrgmu.2022.005.
9. Тараскина А. Е., Фролова Е. В., Шадринова О. В., Секретарева О. В., Васильева Н. В. Роль иммунного гомеостаза у пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) в развитии инвазивного аспергиллеза легких. *Журнал инфектологии*. 2023; 15 (2): 14–23. DOI: 10.22625/2072-6732-2023-15-2-14-23.
10. Wu J, Tang L, Ma Y, Li Y, Zhang D, Li Q, et al. Immunological Profiling of COVID-19 Patients with Pulmonary Sequelae. *mBio*. 2021; 12 (5): e0159921. DOI: 10.1128/mBio.01599-21.
11. Orolagos-Stavrou N, Politou M, Rousakis P, Kostopoulos IV, Ntanasis-Stathopoulos I, Jahaj E, et al. Peripheral blood immune profiling of convalescent plasma donors reveals alterations in specific immune subpopulations even at 2 months post sars-cov-2 infection. *Viruses*. 2021; 13 (1): 26. DOI: 10.3390/v13010026.
12. Асфандиярова Н. С., Рубцова М. А. Может ли дисфункция клеточного иммунитета рассматриваться как признак постковидного синдрома? *Российский иммунологический журнал*. 2023; 26 (2): 173–80. DOI: 10.46235/1028-7221-2067-MBD.
13. Сизякина Л. П., Скрипкина Н. А., Антонова Е. А., Сизякин Д. В. Динамика клинико-иммунологических показателей у пациентов, перенесших COVID-19 среднетяжелого течения и получавших терапию с включением ингибитора янус-киназ. *Иммунология*. 2023; 44 (2): 191–201. DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-2-191-201.
14. Кетлинский С. А., Калинина Н. М. *Иммунология для врача*. СПб.: Гиппократ, 1998; 156 с.
15. Казаков С. П., Решетняк Д. В., Давыдова Н. В., Ефимушкина О. А., Пугков С. Б. Анализ и сравнительная оценка эффективности гуморального иммунного ответа после вакцинации «Спутник V» с использованием различных наборов реагентов. *Инфекция и иммунитет*. 2023; 13 (3): 469–80. DOI: 10.15789/2220-7619-VRK-197.
16. Mather MW, Jardine L, Talks B, Gardner L, Haniffa M. Complexity of immune responses in COVID-19. *Seminars in Immunology*. 2021; 55: 101545. DOI: 10.1016/j.smim.2021.101545.
17. Han JH, Womack KN, Tenforde MW, et al. Associations between persistent symptoms after mild COVID-19 and long-term health status, quality of life, and psychological distress. *Influenza Other Respir Viruses*. 2022; 16 (4): 680–9. DOI: 10.1111/irv.12980.
18. Battaglini D, Robba C, Fedele A, et al. The Role of Dysbiosis in Critically Ill Patients With COVID-19 and Acute Respiratory Distress Syndrome. *Front Med*. 2021; 8: 671714. DOI: 10.3389/fmed.2021.671714.
19. Gracia-Ramos A, Martin-Nares E, Hernandez-Molina G. New onset of autoimmune diseases following COVID-19 diagnosis. *Cells*. 2021; 10: 3592. DOI: 10.3390/cells10123592.
20. Woodruff M, Ramonell R, Haddad N, Anam F, Rudolph M, Walker T et al. Dysregulated naïve B cells and de novo autoreactivity in severe COVID-19. *Nature*. 2022; 611 (7934): 139–47. DOI: 10.1038/s41586-022-05273-0.
21. Ковтун О. П., Оленькова О. М., Бейкин Я. Б. Иммунный ответ при новой коронавирусной инфекции Covid-19 у детей и взрослых. *Уральский медицинский журнал*. 2021; 20 (4): 12–17. DOI: 10.52420/2071-5943-2021-20-4-12-17.
22. Zheng HY, Zhang M, Yang CX, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*. 2020; 17(5): 541–43. DOI: 10.1038/s41423-020-0401-3

References

1. Ivanova IA, Omelchenko ND, Filippenko AV, Trufanova AA, Noskov AK. Rol' kletocnogo zvena immuniteta v formirovanii immunnogo otveta pri koronavirusnyh infekcijah. *Medicinskaja immunologija*. 2021; 23 (6): 1229–38. DOI: 10.15789/1563-0625-ROT-2302. Russian.
2. Semenova EV, Pavljuk VV, Uvarova MA, Ivanov AV. Osobennosti gumoral'nogo immuniteta posle perenesennogo COVID-19. *Medicinskaja immunologija*. 2022. 24 (2): 337–50. DOI: 10.15789/1563-0625-FOH-2452. Russian.
3. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*. 2021; 184 (4): 861–80. DOI: 10.1016/j.cell.2021.01.007.
4. Mohn KG, Bredholt G, Zhou F, et al. Durable T-cellular and humoral responses in SARS-CoV-2 hospitalized and community patients. *PLoS ONE*. 2022; 17 (2): e0261979. DOI: 10.1371/journal.pone.0261979.
5. Asfandiarova NS, Filippov EV, Dashkevich OV, Jakubovskaja AG, Mosejchuk KA, Zhuravleva NS, i dr. Faktory riska razvitiya postkovidnogo sindroma. *Klinicist*. 2022; 16 (4): 19–26. DOI: 10.17650/1818-8338-2022-16-4-K671. Russian.
6. Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, Madhavan MV, McGroder C, Stevens JS, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med*. 2021; 27 (4): 601–15. DOI: 10.1038/s41591-021-01283-z.
7. Su S, Zhao Y, Zeng N, Liu X, Zheng Y, Sun J, et al. Epidemiology, clinical presentation, pathophysiology, and management of long COVID: an update. *Molecular Psychiatry*. 2023; 28 (10): 4056–69. DOI: 10.1038/s41380-023-02171-3.
8. Generalova LV, Grigoriev IV, Vasina DV, Tkachuk AP, Kruzhkova IS, Kolobukhina LV et al. Properties of RBD specific IgG from COVID-19 patients and Sputnik V vaccinated individuals. *Bulletin of RSMU*. 2022; 1: 14–22. DOI: 10.24075/brsmu.2022.005.
9. Taraskina AE, Frolova EV, Shadrivova OV, Sekretareva OV, Vasileva NV. Rol' immunnogo gomeostaza u pacientov s novoj koronavirusnoj infekciej (COVID-19) v razvitii invazivnogo aspergilleza legkih. *Zhurnal infekologii*. 2023; 15 (2): 14–23. DOI: 10.22625/2072-6732-2023-15-2-14-23.
10. Wu J, Tang L, Ma Y, Li Y, Zhang D, Li Q, et al. Immunological Profiling of COVID-19 Patients with Pulmonary Sequelae. *mBio*. 2021; 12 (5): e0159921. DOI: 10.1128/mBio.01599-21.
11. Orolagos-Stavrou N, Politou M, Rousakis P, Kostopoulos IV, Ntanasis-Stathopoulos I, Jahaj E, et al. Peripheral blood immune profiling of convalescent plasma donors reveals alterations in specific immune subpopulations even at 2 months post sars-cov-2 infection. *Viruses*. 2021; 13 (1): 26. DOI: 10.3390/v13010026.
12. Asfandiarova NS, Rubcova MA. Mozhet li disfunkcija kletocnogo immuniteta rassmatrivat'sja kak priznak postkovidnogo sindroma? *Rossiiskij immunologicheskij zhurnal*. 2023; 26 (2): 173–80. DOI:

- 10.46235/1028-7221-2067-MBD. Russian.
13. Sizjakina LP, Skripkina NA, Antonova EA, Sizjakin DV. Dinamika kliniko-immunologicheskikh pokazatelej u pacientov, perenesshih COVID-19 srednetjazhelogo techenija i poluchavshih terapiju s vključenijem inhibitora janus-kinaz. *Immunologija*. 2023; 44 (2): 191–201. DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-2-191-201. Russian.
14. Ketlinskij SA., Kalinina NM. *Immunologija dlja vracha*. SPb.: Gippokrat, 1998; 156 s. Russian.
15. Kazakov SP, Reshetnjak DV, Davydova NV, Efimushkina OA, Putkov SB. Analiz i sravnitel'naja ocenka jeffektivnosti gumoral'nogo immunnogo otveta posle vakcinacii «Sputnik V» s ispol'zovaniem razlichnyh naborov reagentov. *Infekcija i immunitet*. 2023; 13 (3): 469–80. DOI: 10.15789/2220-7619-VRK-197. Russian.
16. Mather MW, Jardine L, Talks B, Gardner L, Haniffa M. Complexity of immune responses in COVID-19. *Seminars in Immunology*. 2021; 55: 101545. DOI: 10.1016/j.smim.2021.101545.
17. Han JH, Womack KN, Tenforde MW, et al. Associations between persistent symptoms after mild COVID-19 and long-term health status, quality of life, and psychological distress. *Influenza Other Respir Viruses*. 2022; 16 (4): 680–9. DOI:10.1111/irv.12980.
18. Battaglini D, Robba C, Fedele A, et al. The Role of Dysbiosis in Critically Ill Patients With COVID-19 and Acute Respiratory Distress Syndrome. *Front Med*. 2021; 8: 671714. DOI: 10.3389/fmed.2021.671714.
19. Gracia-Ramos A, Martin-Nares E, Hernandez-Molina G. New onset of autoimmune diseases following COVID-19 diagnosis. *Cells*. 2021; 10: 3592. DOI: 10.3390/cells10123592.
20. Woodruff M, Ramonell R, Haddad N, Anam F, Rudolph M, Walker T et al. Dysregulated naïve B cells and de novo autoreactivity in severe COVID-19. *Nature*. 2022; 611 (7934): 139–47. DOI: 10.1038/s41586-022-05273-0.
21. Kovtun OP, Olenkova OM, Bejkin JaB. Immunnyj otvet pri novoj koronavirusnoj infekcii Covid-19 u detej i vzroslyh. *Ural'skij medicinskij zhurnal*. 2021; 20 (4): 12–17. DOI: 10.52420/2071-5943-2021-20-4-12-17. Russian.
22. Zheng HY, Zhang M, Yang CX, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*. 2020; 17(5): 541–43. DOI:10.1038/s41423-020-0401-3