

Иммунные показатели пациентов в разные периоды коронавирусной инфекции

А. А. Плоскирева¹

З. Ф. Хараева²

А. Р. Маржохова³

Ж. Б. Понежева⁴

М. Ю. Маржохова⁵

¹ Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, antonina@ploskireva.com, <https://orcid.org/0000-0002-3612-1889>, Scopus: 56848285800

² Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х. М. Бербекова, Нальчик, Россия, irafe@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2302-2491>

³ Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, asya_marzhoh@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4207-5919>

⁴ Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, doktorim@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6539-4878>

⁵ Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х. М. Бербекова, Нальчик, Россия, madina010@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5677-5249>

Резюме

Введение. Коронавирусная инфекция остается актуальной и значимой проблемой, несмотря на завершение пандемии по данным Всемирной организации здравоохранения. COVID-19 — это непредсказуемое по исходам вирусное инфекционное заболевание примерно с 7 млн летальных исходов во всем мире. Актуальность изучения различных механизмов иммунологической защиты в разные периоды коронавирусной инфекции не вызывает сомнений.

Цель работы. Оценка иммунного реагирования в разные периоды коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-19.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 70 пациентов (41 женщина и 29 мужчин) в остром периоде COVID-19 и 54 больных от 18 до 68 лет (34 женщины и 20 мужчин) в периоде реконвалесценции. Больные были обследованы в остром периоде заболевания (при поступлении в стационар), в периодах ранней реконвалесценции (перед выпиской из госпиталя) и реконвалесценции в динамике — через 1 месяц (на 30-35 дни) и через 3 месяца после выписки (на 90-95 дни). У всех пациентов исследовали общий анализ крови с подсчетом количества лейкоцитов, лимфоцитов и нейтрофилов в абсолютных числах и процентах, а также концентрацию аденозинтрифосфата в нейтрофилах и показатели фагоцитарной активности.

Результаты. Обнаружены изменения состава лейкоцитарной формулы в динамике инфекционного вирусного процесса в зависимости от тяжести COVID-19. Длительно сохраняющийся провоспалительный характер патологических изменений в организме на фоне и после COVID-19 приводит к истощению энергетического потенциала клеток врожденного иммунитета, о чем можно судить по концентрации аденозинтрифосфата и достоверно сниженным фагоцитарным показателям в остром и постостром периодах у пациентов независимо от тяжести перенесенной коронавирусной инфекции. В отдаленный период (через 90-95 суток после выписки) в группе пациентов, перенесших тяжелую форму COVID-19, нормализация некоторых фагоцитарных показателей не выявлена, что может быть причиной различной бактериальной и грибковой патологии и что необходимо учитывать при подборе методов профилактики развития осложнений.

Ключевые слова: COVID-19, лейкоцитарная формула, фагоцитарная активность, аденозинтрифосфат.

Для цитирования: Плоскирева А. А., Хараева З. Ф., Маржохова А. Р., Понежева Ж. Б., Маржохова М. Ю. Иммунные показатели пациентов в разные периоды коронавирусной инфекции. Лечащий Врач. 2024; 4 (27): 77-84. <https://doi.org/10.51793/OS.2024.27.4.011>

Конфликт интересов. Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Immune parameters of patients in different periods of coronavirus infection

Antonina A. Ploskireva¹Zaira F. Kharaeva²Asiyat R. Marzhokhova³Zhanna B. Ponezheva⁴Madina Yu. Marzhokhova⁵

¹ Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia, antonina@ploskireva.com, <https://orcid.org/0000-0002-3612-1889>, Scopus: 56848285800

² Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russia, irafe@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2302-2491>

³ Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia, asya_marzhoh@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4207-5919>

⁴ Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia, doktorim@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6539-4878>

⁵ Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russia, madina010@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5677-5249>

Abstract

Background. COVID-19 is a viral infectious disease that has infected more than 40 million people. The relevance of studying various mechanisms of immunological protection in the acute and post-acute periods of this disease is beyond doubt.

Objective. The aim of the work was to assess the state of the indicators of blood cells, phagocytic activity and ATP in white blood cells, depending on the period of coronavirus infection caused by the *SARS-CoV-19* virus.

Materials and methods. There were 70 patients (41 women and 29 men) in the acute period of covid and 54 patients (38 women and 26 men) in the post-acute period aged from 18 to 68 years. The patients were examined in the acute period of the disease (upon admission to the hospital), in the period of early convalescence (before discharge from the hospital), in the post-acute period 30-35 days after discharge from the hospital and 90-95 days after discharge. In all patients, the number of leukocytes, lymphocytes and neutrophils in peripheral blood was calculated in absolute numbers and percentages of *t*, the concentration of ATP and phagocytic parameters were estimated.

Results. Changes in the composition of the leukocyte formula in the dynamics of the infectious viral process were detected depending on the severity of COVID-19. The long-lasting proinflammatory nature of pathological changes in the body against and after COVID-19 leads to depletion of the energy potential of innate immunity cells, what follows from the concentration of ATP and significantly reduced phagocytic parameters in acute and post-acute periods in patients regardless of the severity of the coronavirus infection. In the long-term period (90-95 days after discharge), normalization of some phagocytic parameters was not detected in the group of patients who had a severe form of COVID-19, which may be the cause of various bacterial and fungal pathologies and which should be taken into account in the selection of methods for preventing the development of complications.

Keywords: COVID-19, leukocyte formula, phagocytic activity, ATP.

For citation: Ploskireva A. A., Kharaeva Z. F., Marzhokhova A. R., Ponezheva Zh. B., Marzhokhova M. Yu. Immune parameters of patients in different periods of coronavirus infection. *Lechaschi Vrach.* 2024; 4 (27): 77-84. (In Russ.) <https://doi.org/10.51793/OS.2024.27.4.011>

Conflict of interests. Not declared.

Новая коронавирусная инфекция (НКИ) COVID-19 – это вирусное инфекционное заболевание, которым заразились более 40 миллионов человек. Помимо значительной смертности, НКИ COVID-19, вызываемая вирусом *SARS-CoV-2*, дает высокую и устойчивую заболеваемость, получившую название длительного COVID [1].

Хронические симптомы COVID-19, называемые пост-острыми последствиями инфекции, вызванной вирусом *SARS-CoV-2* (PASC), могут затронуть до 30% всех инфицированных людей. Основной механизм и источник этого отчетливого иммунологического состояния через три месяца или более после первоначальной инфекции остаются неуловимыми [1]. По данным других авторов, постковидный синдром встречается у 10-35% больных, лечившихся амбулаторно, и может достигать 80% у перенесших заболевание в тяжелой форме и нуждавшихся в госпитализации [2]. У 63% пациентов через 6 месяцев после выписки из стационара отмечались повышенная утомляемость и мышечная слабость. Причем, в отличие от обычной усталости, астения не уменьшается после отдыха, что приводит к снижению работоспособности и значительному ухудшению качества жизни [3]. Есть

основания предполагать, что при астеническом синдроме в остром и постковидном периодах COVID-19 имеет место гипоксия, ацидоз с нарушением процессов образования и использования энергии. У таких больных, вероятно, имеются митохондриальные дисфункции, проявляющиеся снижением образования аденозинтрифосфата (АТФ) [4].

Одним из основных показателей энергетического потенциала клеток является концентрация АТФ. Энергия в виде АТФ необходима для функционирования всех систем организма (сердечно-сосудистой, нервной, мышечной, терморегуляции и др.). Процессы гликолиза, глюконеогенеза, первичная клеточная защита, выработка антител, транспорт веществ через клеточные мембраны, поддержание гемоглобина в функционально активном состоянии невозможны без использования АТФ.

Причинами снижения синтеза АТФ является ослабление биоэнергетической функции митохондрий по некоторым причинам, в том числе и прежде всего из-за пониженной концентрации кислорода в крови и тканях. Выходит из строя основная энергетическая система клетки, производство энергии клетками резко снижается, и, как следствие, нарушается

течение многочисленных энергозависимых процессов в организме [5]. На фоне дефицита АТФ при НКИ COVID-19 (на фоне поражения легких и гипоксии) нарушаются различные функции клеток, в том числе функции фагоцитов, что ведет к развитию многочисленных патологических состояний.

Контакт фагоцитирующих клеток (тканевые макрофаги, моноциты, нейтрофилы крови, купферовские клетки печени, остеокласты костной ткани) с корпускулярными частицами или растворимыми стимуляторами приводит к резкому изменению метаболического профиля клетки [6]. К наиболее ярким сдвигам относится резкое повышение расхода глюкозы в реакциях гексозомонофосфатного шунта. Одновременно возрастает потребление клеткой кислорода и образование его активных форм (АФК) — мощных биоксидантов: синглетного кислорода — O_1 , супероксидного радикала — O_2^- , гидроксильного радикала — OH , пероксида водорода — H_2O_2 [7].

Фагоцитоз является одной из важнейших реакций, обеспечивающих естественную резистентность организма. Это многостадийный процесс, включающий в себя хемотаксис, захват объекта с последующим образованием фагосомы, слияние фагосомы и лизосомы с образованием фаголизосомы и протеолитическую деградацию поглощенного объекта. Как профессиональные фагоциты могут быть классифицированы нейтрофилы, макрофаги, моноциты, дендритные клетки, остеокласты и эозинофилы. Первые три играют наибольшую роль в иммунном ответе на большинство инфекций [8].

Нейтрофилы обычно находятся в кровеносном русле и являются наиболее распространенным типом фагоцитов, составляя 50–60% от всех циркулирующих в крови лейкоцитов [7].

Как только поступает соответствующий сигнал, они в течение примерно 30 минут выходят из крови и достигают зоны инфекции. Нейтрофилы способны быстро поглощать чужеродный материал, они не возвращаются в кровь, а превращаются в клетки гноя и погибают [9].

Внутриклеточные гранулы нейтрофилов человека разрушают белки и обладают бактерицидными свойствами. Нейтрофилы способны выделять вещества, которые стимулируют моноциты и макрофаги. Нейтрофильные выделения усиливают фагоцитоз и образование АФК, участвуя таким образом во внутриклеточном уничтожении [10].

Для оценки фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов (НГ) используют различные методы: определение фагоцитарного числа (ФЧ), фагоцитарного индекса (ФИ), эффективности внутриклеточного киллинга. Поглотительную функцию оценивают по ФИ (процент НГ, поглотивших микробы). ФЧ — это среднее число фагоцитированных микробов, приходящееся на 1 активный НГ. Фагоциты уничтожают патогены с помощью АФК, оксида азота и лизосомальных ферментов [11].

В области вирусной инфекции лимфоцитов скапливается гораздо больше, чем остальных клеток иммунной системы. Клетки, инфицированные вирусами, уничтожаются лимфоцитами и выводятся из организма фагоцитами [12].

Тяжесть и патогенетические особенности вирусной инфекции проявляются в изменении количества и функциональной активности отдельных клеточных элементов. Имеются данные о гематологических изменениях, состоянии фагоцитоза при острой стадии заболеваний [13]. В то же время не менее актуальным является исследование этих показателей и после перенесенной инфекции.

Целью данной работы была оценка состояния показателей форменных элементов крови, фагоцитарной активности

и АТФ в лейкоцитах в зависимости от периода НКИ, вызванной вирусом SARS-CoV-2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находились 70 больных (41 женщина и 29 мужчин) в остром периоде ковида и 54 больных (38 женщин и 26 мужчин) в постостром периоде в возрасте от 18 до 68 лет. Все они подписали информированное согласие на забор периферической крови и проведение лабораторных исследований.

Больные были разделены на две группы по степени тяжести патологического процесса: переносящие заболевание в среднетяжелой и тяжелой форме. У всех пациентов диагноз был подтвержден положительным результатом лабораторного исследования на наличие РНК SARS-CoV-2 с применением методов амплификации нуклеиновых кислот. Степень тяжести определялась в соответствии с «Временными методическими рекомендациями (профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19)» соответствующей версии. В качестве контрольной группы было обследовано 25 условно здоровых участников (студенты и доноры крови), сопоставимых по полу и возрасту с группами больных.

В остром периоде все больные проходили лечение в госпитале особо опасных инфекций № 2 г. Нальчика. После выписки из госпиталя наблюдавшиеся больные нуждались в реабилитационных мероприятиях, так как у них сохранялась симптоматика, выраженная в той или иной мере (головные боли, значительная слабость, недомогание, одышка, потливость и т. д.). Все пациенты, перенесшие заболевание в тяжелой форме, и часть перенесших его в среднетяжелой, проходили реабилитацию в реабилитационном отделении ГКБ № 1 г. Нальчика, остальные реконвалесценты получали реабилитационные мероприятия в амбулаторных условиях.

Больные были обследованы в остром периоде заболевания (при поступлении в стационар), на момент ранней реконвалесценции (перед выпиской из госпиталя), в постостром периоде (через 30–35 дней после выписки) и через 90–95 дней после выписки.

У всех больных подсчитывалось количество лейкоцитов, лимфоцитов и нейтрофилов в периферической крови в абсолютных числах и процентах.

Нейтрофилы выделяли на градиенте плотности, подсчитывали и оценивали фагоцитарную активность стандартным методом [14] в отношении бактерий *Staphylococcus aureus* из коллекции музейных штаммов кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Кабардино-Балкарского государственного университета (КБГУ). Для этого смешивали 1 мл суспензии нейтрофилов и 1 мл взвеси бактерий (10^7 кл) в растворе Хенкса (pH — 7,4). Смесь инкубировали при помещении 30 мин при 37 °С. Приготавливали мазки на стекле, фиксировали и окрашивали по Романовскому — Гимзе. В мазках на 100 клеток подсчитывали количество фагоцитирующих клеток. Полученные данные выражали в виде ФИ и ФЧ. Оценку эффективности внутриклеточного киллинга проводили по методу S. L. Nielsen [15] с последующей оценкой процента выживших после фагоцитоза бактерий, который определяли по количеству колоний в секторах через 24 часа.

АТФ в нейтрофилах крови был исследован биолюминесцентным методом с помощью набора для биолюминесцентного анализа соматических клеток на АТФ (ATP bioluminescent somatic cell assay kit, Sigma-Aldrich, USA).

Результаты подвергались статистической обработке путем определения среднего арифметического и среднеквадра-

Таблица 1. **Содержание лейкоцитов, лимфоцитов и нейтрофилов в крови у больных COVID-19 в зависимости от степени тяжести и периода инфекционного процесса [таблица составлена авторами] / The content of leukocytes, lymphocytes and neutrophils in the blood of patients with COVID-19 in the acute and post-acute periods [table compiled by the authors]**

Исследуемый показатель	Группы обследованных	N	Периоды	X ± m	P	P1
Лейкоциты, × 10 ⁹ /л	Здоровые	25	—	6,0 ± 0,2	—	—
	Среднетяжелое течение	35	I	5,32 ± 0,21	< 0,05	—
		35	II	5,24 ± 0,22	< 0,01	—
		26	III	6,1 ± 0,18	> 0,05	—
		25	IV	5,9 ± 0,24	> 0,05	—
		35	I	6,11 ± 0,49	> 0,05	> 0,05
	Тяжелое течение	35	II	7,24 ± 0,4	< 0,01	< 0,001
		27	III	7,41 ± 0,35	< 0,01	< 0,001
		24	IV	6,32 ± 0,41	> 0,05	> 0,05
		Лимфоциты (абс. число), × 10 ⁹ /л	Здоровые	25	—	2,1 ± 0,22
Среднетяжелое течение	35		I	0,85 ± 0,032	< 0,001	—
	35		II	1,49 ± 0,1	< 0,01	—
	26		III	0,91 ± 0,09	> 0,05	—
	25		IV	1,9 ± 0,04	> 0,05	—
	Тяжелое течение		35	I	0,96 ± 0,1	< 0,001
35			II	1,15 ± 0,08	< 0,001	< 0,01
27			III	1,2 ± 0,06	< 0,001	< 0,01
24			IV	1,96 ± 0,19	> 0,05	> 0,05
Лимфоциты, %	Здоровые		25	—	34 ± 0,5	—
	Среднетяжелое течение	35	I	19,9 ± 1,55	< 0,001	—
		35	II	28,4 ± 2,25	< 0,05	—
		26	III	32,6 ± 2,0	> 0,05	—
		25	IV	35,1 ± 1,3	> 0,05	—
		Тяжелое течение	35	I	26,4 ± 2,27	< 0,001
	35		II	24,4 ± 1,64	< 0,001	< 0,05
	27		III	28,3 ± 1,7	< 0,001	> 0,05
	24		IV	32,1 ± 2,1	> 0,05	> 0,05
	Нейтрофилы (абс. число), × 10 ⁹ /л	Здоровые	25	—	3,9 ± 0,26	—
Среднетяжелое течение		35	I	3,38 ± 0,24	> 0,05	—
		35	II	3,91 ± 0,27	> 0,05	—
		26	III	4,1 ± 0,18	> 0,05	—
		25	IV	3,8 ± 0,2	> 0,05	—
		Тяжелое течение	35	I	4,39 ± 0,37	< 0,05
35			II	4,41 ± 0,33	< 0,01	> 0,05
27			III	4,37 ± 0,29	< 0,05	> 0,05
24			IV	3,9 ± 0,31	> 0,05	> 0,05
Нейтрофилы,%		Здоровые	25	—	57,0 ± 0,7	—
	Среднетяжелое течение	35	I	70,2 ± 2,64	< 0,001	—
		35	II	65,5 ± 2,34	< 0,001	—
		26	III	55,0 ± 1,6	> 0,05	—
		25	IV	59,0 ± 1,4	> 0,05	—
		Тяжелое течение	35	I	77,8 ± 1,6	< 0,001
	35		II	67,1 ± 1,8	< 0,001	< 0,05
	27		III	65,3 ± 2,1	< 0,001	< 0,001
	24		IV	58,4 ± 2,2	> 0,05	> 0,05

Примечание. Здесь и в таблице 2 цифры обозначают: I — острый период, II — при выписке из стационара, III — через 30-35 дней после выписки из стационара, IV — через 90-95 дней после выписки; P — достоверность различий по отношению к здоровым; P1 — достоверность различий по отношению к среднетяжелым больным.

тичного отклонений, использовали программу Statistica. Существенность различий средних величин оценивали по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований было обнаружено, что у больных со среднетяжелым течением ковида в остром периоде имелось достоверное снижение количества лейкоцитов относительно показателя у здоровых участников ($p < 0,05$). При выписке из госпиталя количество лейкоцитов оставалось выше показателя у здоровых ($p < 0,01$). Однако уже через 30–35 дней количество лейкоцитов в периферической крови у данной группы больных возвращалось к нормальному уровню, нормальные показатели были выявлены и через 90–95 дней после выписки ($p > 0,05$) (табл. 1).

В группе больных с тяжелым течением заболевания в остром периоде количество лейкоцитов не отличалось от среднего показателя у здоровых ($p > 0,05$). При выписке из госпиталя, при угасании клинических симптомов, количество лейкоцитов увеличивалось и было достоверно выше, чем у здоровых ($p < 0,01$). Такая же тенденция сохранялась у больных, перенесших ковид в тяжелой форме, через 30–35 дней после выписки из госпиталя. При этом в период ранней реконвалесценции при выписке из госпиталя и через 30–35 дней после нее количество лейкоцитов в группе тяжелых больных было достоверно выше, чем в группе перенесших ковид в среднетяжелой форме (табл. 1). Через 90–95 дней после выписки у всех больных этой группы количество лейкоцитов не отличалось от нормы ($p > 0,05$).

Подсчитывали и статистически обрабатывали количество лимфоцитов в периферической крови у больных в зависимости от степени тяжести и периода заболевания. Оказалось, что у всех больных, независимо от степени тяжести, абсолютное количество лимфоцитов было в среднем снижено относительно здоровых ($p < 0,001$) в остром периоде заболевания и при выписке из госпиталя. Это количество в среднем не отличалось от нормы ($p > 0,05$) у больных, перенесших ковид в среднетяжелой форме, через 30–35 дней после выписки, а в группе тяжелых — через 90–95 дней (табл. 1).

Процентное содержание лимфоцитов было снижено у больных относительно здоровых и не зависело от тяжести в остром периоде и при выписке из госпиталя. В группе среднетяжелых больных этот показатель не отличался от нормы уже через 30–35 дней, а в группе тяжелых — через 90–95 дней (табл. 1).

Количество нейтрофилов у больных со среднетяжелым течением ковида не отличалось от показателя у здоровых в остром и постостром периодах. У больных с тяжелым течением заболевания количество нейтрофилов было достоверно выше нормального показателя ($p < 0,05$) и показателя у больных со среднетяжелым течением ($p < 0,05$) в остром периоде, показатель не возвращался к норме при выписке из госпиталя ($p < 0,01$), оставался в среднем достоверно выше нормы ($p < 0,05$) через 30–35 дней после выписки и приходил к нормальному значению к 90–95 дню ($p > 0,05$) (табл. 1).

Процентное содержание нейтрофилов в периферической крови больных со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания было выше нормы в остром периоде и в периоде ранней реконвалесценции при выписке из госпиталя ($p < 0,05$). У больных со среднетяжелым течением этот показатель не отличался от нормы ни через 30–35 дней, ни через 90–95 дней после выписки. А у больных с тяжелым течением ковида нормализация происходила лишь через 90–95 дней (табл. 1).

Фагоцитарную активность (ФЧ, ФИ и эффективность внутриклеточного киллинга) у больных COVID-19 изучали

в зависимости от степени тяжести и периода заболевания. ФЧ было достоверно ($p < 0,05$) ниже показателя у здоровых в остром периоде и при выписке из госпиталя у всех больных независимо от тяжести НКИ. В подостром периоде через 30–35 дней после выписки этот показатель возвращался к норме у перенесших ковид в среднетяжелой форме, но оставался сниженным у перенесших тяжелую форму заболевания. В этой группе пациентов ФЧ возвращался к нормальным показателям лишь через 90–95 дней после выписки (табл. 2).

ФИ был достоверно ниже показателя у здоровых у всех обследованных больных в остром периоде заболевания, при выписке из госпиталя и через 30–35 дней после выписки ($p < 0,01$). Нормализация этого показателя у перенесших ковид в среднетяжелой форме происходила через 90–95 дней, а у больных с тяжелым течением ковида и в этом периоде ФИ было достоверно ($p < 0,001$) ниже нормы. При сравнении средних показателей групп больных по тяжести оказалось, что во всех периодах, кроме острого, у больных с тяжелым течением ФИ был достоверно ниже показателя пациентов со среднетяжелым течением (табл. 2).

Одним из важных этапов фагоцитоза является внутриклеточный киллинг и полная деградация микроорганизмов. У больных со среднетяжелой формой ковида в среднем эффективность внутриклеточного киллинга (ЭВК) не отличалась от таковой у здоровых. У больных с тяжелой формой в остром периоде, при выписке из госпиталя и через 30–35 дней после выписки этот показатель был достоверно ниже, чем у здоровых ($p < 0,05$). При обследовании этой группы больных в постостром периоде через 90–95 дней после выписки ЭВК в среднем не отличалась от нормальных показателей (табл. 2).

В процессе фагоцитоза нейтрофилы потребляют энергию, запасенную в виде АТФ, образованного в результате реакции гликолиза. Количество АТФ в фагоцитирующих клетках частично поддерживается путем фосфорилирования АДФ, причем потребление АТФ существенно возрастает при фагоцитозе [16, 17]. Содержание АТФ в нейтрофилах у больных со среднетяжелым течением ковида в остром периоде в среднем было достоверно ниже, чем у здоровых ($p < 0,05$), но в остальных периодах исследования возвращалось к норме (табл. 2).

У тяжелых больных наблюдалось значительное снижение этого показателя во всех периодах ($p < 0,001$), в том числе через 90–95 дней после выписки из госпиталя. При этом имела достоверная разница с показателем у среднетяжелых больных в остром периоде и в периоде ранней реконвалесценции при выписке. Такое истощение содержания АТФ в нейтрофилах связано, по-видимому, с большими энергетическими затратами при участии этих клеток в противовоспалительных реакциях и фагоцитозе (табл. 2).

Таким образом, в ходе проведенных исследований было обнаружено, что у больных со среднетяжелым течением ковида происходило снижение общего количества лейкоцитов, а при тяжелом — повышение в остром периоде, сохраняющееся при выписке из госпиталя. Повышенные значения лейкоцитов у тяжелых больных определялись и через 30–35 дней после выписки, что, по-видимому, было связано с наличием бактериальных осложнений и сохраняющейся симптоматикой лонг-ковида.

Лимфоциты были снижены в среднем у всех больных независимо от тяжести заболевания в абсолютных числах и процентах в остром периоде и при выписке, а у тяжелых — и через 30–35 дней после нее. Количество нейтрофилов в абсолютных числах не изменялось у больных со среднетяжелым течением ковида, но было повышено в абсолютных

Таблица 2. Фагоцитарная активность и АТФ нейтрофилов у больных коронавирусной инфекцией в зависимости от степени тяжести и в разные периоды COVID-19 [таблица составлена авторами] / Phagocytic activity and ATP of neutrophils in patients with COVID-19 in acute and post-acute periods [table compiled by the authors]

Показатель	Группы обследованных	N	Периоды	X ± m	P	P1
Фагоцитарное число, ед.	Здоровые	25	—	6,0 ± 1,0	—	—
	Среднетяжелое течение	35	I	3,0 ± 1,0	< 0,05	—
		35	II	3,0 ± 1,0	< 0,05	—
		26	III	4,0 ± 1,0	> 0,05	—
		25	IV	5,0 ± 2,0	> 0,05	—
	Тяжелое течение	35	I	2,0 ± 1,0	< 0,01	> 0,05
		35	II	2,0 ± 1,0	< 0,01	> 0,05
		27	III	3,0 ± 1,0	< 0,05	> 0,05
		24	IV	4,0 ± 2,0	> 0,05	> 0,05
Фагоцитарный индекс, %	Здоровые	25	—	65,0 ± 5,0	—	—
	Среднетяжелое течение	35	I	28,0 ± 3,0	< 0,001	—
		35	II	40,0 ± 4,0	< 0,01	—
		26	III	45,0 ± 5,0	< 0,01	—
		25	IV	50,0 ± 6,0	> 0,05	—
	Тяжелое течение	35	I	21,0 ± 2,0	< 0,001	> 0,05
		35	II	25,0 ± 3,0	< 0,001	< 0,01
		27	III	26,0 ± 3,0	< 0,001	< 0,001
		24	IV	27,0 ± 5,0	< 0,001	< 0,01
Эффективность внутриклеточного киллинга, %	Здоровые	25	—	60,0 ± 5,0	—	—
	Среднетяжелое течение	35	I	51,0 ± 3,0	> 0,05	—
		35	II	60,0 ± 3,0	> 0,05	—
		26	III	62,0 ± 3,0	> 0,05	—
		25	IV	61,0 ± 4,0	> 0,05	—
	Тяжелое течение	35	I	44,0 ± 2,0	< 0,01	< 0,001
		35	II	46,0 ± 3,0	< 0,05	< 0,05
		27	III	47,0 ± 3,0	< 0,05	< 0,05
		24	IV	48,0 ± 4,0	> 0,05	< 0,05
АТФ нейтрофилов, мМ/10 ⁹	Здоровые	25	—	2,0 ± 0,3	—	—
	Среднетяжелое течение	35	I	1,2 ± 0,4	< 0,05	—
		35	II	1,3 ± 0,4	> 0,05	—
		26	III	1,4 ± 0,5	> 0,05	—
		25	IV	1,8 ± 0,2	> 0,05	—
	Тяжелое течение	35	I	0,4 ± 0,2	< 0,001	< 0,05
		35	II	0,6 ± 0,2	< 0,001	< 0,05
		27	III	0,7 ± 0,2	< 0,001	> 0,05
		24	IV	0,9 ± 0,2	< 0,001	> 0,05

цифрах и в процентах у тяжелых больных в трех периодах исследования и не отличалось от нормы при исследовании через 90-95 дней. На этом фоне наблюдалось снижение фагоцитарной активности нейтрофилов (фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса, эффективности внутриклеточного киллинга), более выраженное у перенесших тяжелую форму ковида. Изученные показатели не приходили в норму и через 30-35 дней после выписки из госпиталя, несмотря на проводимые реабилитационные мероприятия, что, по-видимому, также характеризовало развитие лонг-ковида.

Некоторые авторы отмечают, что фагоцитарная активность нейтрофилов обычно повышается в начале развития воспалительного процесса. Ее снижение ведет к его хронизации

и поддержанию аутоиммунного процесса, так как при этом нарушается функция разрушения и выведения иммунных комплексов из организма [16, 17].

Однако наблюдавшиеся нами больные, как правило, поступали не в начальном периоде заболевания, а уже в разгар НКИ (в среднем на 4-7 день заболевания) с максимальным проявлением всех клинических симптомов, поэтому повышения фагоцитарной активности не было зафиксировано.

Содержание АТФ в нейтрофилах в среднем снижалось в остром периоде у всех больных независимо от тяжести, что характеризовало истощение энергетического ресурса и обуславливало, по-видимому, снижение фагоцитарной

активности. При тяжелом течении и при исследовании через 90-95 дней этот показатель оставался выше нормы у почти 75% пациентов, у которых сохранялась яркая симптоматика постковида (слабость, снижение трудоспособности, профузные поты, боли в суставах и т. д.).

ВЫВОДЫ

1. Обнаружены изменения состава лейкоцитарной формулы в динамике инфекционного вирусного процесса в зависимости от периода и тяжести COVID-19. Выраженная лимфопения на фоне повышения количества нейтрофилов характерна для пациентов с тяжелой формой НКИ. Подобное соотношение клеток сохраняется в течение 1 месяца и может быть рассмотрено как диагностически и прогностически неблагоприятный лабораторный параметр затяжного течения.

2. Длительно сохраняющийся провоспалительный характер патологических изменений в организме на фоне и после острого периода COVID-19 приводит к истощению энергетического потенциала клеток врожденного иммунитета, о чем можно судить по концентрации АТФ и достоверно сниженным фагоцитарным показателям в остром периоде и в раннем и позднем периодах реконвалесценции у пациентов независимо от тяжести перенесенной коронавирусной инфекции.

3. В отдаленном периоде через 3 месяца после выписки в группе пациентов, перенесших тяжелую форму COVID-19, отсутствует нормализация некоторых фагоцитарных показателей, что указывает на незавершенность патологического процесса и может быть причиной развития различной бактериальной патологии. **ЛВ**

Вклад авторов:

Авторы внесли равный вклад на всех этапах работы и написания статьи.

Contribution of authors:

All authors contributed equally to this work and writing of the article at all stages.

Литература/References

1. John J. L. Jacobs Persistent SARS-2 infections contribute to long COVID-19. *Med Hypotheses*. 2021; 149: 110538. Published online 2021 Feb 16. DOI: 10.1016/j.mehy.2021.110538.
2. Барышникова Г. А., Чорбинская С. А., Зими́на Т. А., Степанова И. И., Кудрявцева Н. А. COVID-19: место корректоров метаболизма в терапии больных с постковидным синдромом. *Лечащий Врач*. 2022; 3 (25): 80-86. DOI: 10.51793/OS.2022.25.3.013.
3. Baryshnikova G. A., Chorbinskaya S. A., Zimina T. A., Stepanova I. I., Kudryavtseva N. A. COVID-19: the place of metabolic correctors in the therapy of patients with postcovid syndrome. *Lechaschi Vrach*. 2022; 3 (25): 80-86. (In Russ.) DOI: 10.51793/OS.2022.25.3.013.
3. Huang C., Huang L., Wang Y., et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet*. 2021. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32656-8.
4. Слепнева Л. В., Хмылова Г. А. Механизм повреждения энергетического обмена при гипоксии и возможные пути его коррекции фумаратсодержащими растворами. *Научно-практический журнал Трансфузиология*. 2013; 2: 21-36.
4. Slepneva L. V., Khmylova G. A. The mechanism of damage to energy metabolism in hypoxia and possible ways of its correction with fumarate-containing solutions. *Nauchno-prakticheskii zhurnal Transfuziologiya*. 2013; 2: 21-36. (In Russ.)

5. Curi R., Levada-Pires A. C., Silva E. B. D., Poma S. O., Zambonato R. F., Domenech P., Almeida M. M., Gritte R. B., Souza-Siqueira T., Gorjão R., Newsholme P., Pithon-Curi T. C. The Critical Role of Cell Metabolism for Essential Neutrophil Functions. *Cell Physiol Biochem*. 2020; 54 (4): 629-647. DOI: 10.33594/000000245.
6. Yin C., Wu C., Du X., Fang Y., Pu J., Wu J., Tang L., Zhao W., Weng Y., Guo X., Chen G., Wang Z. PRL2 Controls Phagocyte Bactericidal Activity by Sensing and Regulating ROS. *Front Immunol*. 2018; 9: 2609. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02609.
7. Soehnlein O., Kenne E., Rotzius P., Eriksson E. E., Lindbom L. Neutrophil secretion products regulate anti-bacterial activity in monocytes and macrophages. *Clinical and experimental immunology*. 2008; 1 (151): 139-145. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03532.
8. Mayadas T., Cullere X., Lowell C. The Multifaceted Functions of Neutrophils. *Annu Rev Pathol*. 2014; 9: 181-218. DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023.
9. Sansonetti P. Phagocytosis of bacterial pathogens: implications in the host response. *Seminars in immunology*. 2001; 6 (13): 381-390. DOI: 10.1006/smim.2001.0335.
10. Zhou Z., Yu X. Phagosome maturation during the removal of apoptotic cells: receptors lead the way. *Trends in cell biology*. 2008; 10 (18): 474-485. DOI: 10.1016/j.tcb.2008.08.002.
11. Zhou F. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020; 395: 1054-1062. DOI: 10.1016/s0140-6736(20)30566-3.
12. Terpos E. et al. Hematological findings and complications of COVID-19. *Am. J. Hematol*. 2020; 95: 834-847. DOI: 10.1002/ajh.25829.
13. Platt N., Fineran P. Measuring the phagocytic activity of cells. *Methods Cell Biol*. 2015; 126: 287-304. DOI: 10.1016/bs.mcb.2014.10.025. Epub 2015 Jan 14. PMID: 25665451.
14. Nielsen S. L., Black F. T., Storgaard M., Obel N. Evaluation of a method for measurement of intracellular killing of *Staphylococcus aureus* in human neutrophil granulocytes. *APMIS*. 1995; 103 (6): 460-468. PMID: 7546649.
15. Нестерова И. В., Колесникова Н. В., Чудилова Г. А., Ломтатидзе Л. В., Ковалева С. В., Евлевский А. А., Нгуен Т. З. Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 2. Инфекция и иммунитет. 2018; 1 (8): 7-18. *Nesterova I. V., Kolesnikova N. V., Chudilova G. A., Lomtadidze L. V., Kovaleva S. V., Evlevsky A. A., Nguyen T. D. L. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 2. Infektsiya i immunitet. Infektsiya i immunitet*. 2018; 1 (8): 7-18. (In Russ.) DOI: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18.
16. Ляпина С. А., Федотова Г. Г. Реактивные изменения нейтрофилов при бронхолегочных заболеваниях. Современные проблемы науки и образования. 2018; 6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28285> (дата обращения: 15.06.2023). *Lyapina S. A., Fedotova G. G. Reactive changes of neutrophils in bronchopulmonary diseases. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2018; 6. (In Russ.) URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28285> (Accessed: 15.06.2023).
17. Савченко А. А., Гвоздев И. И., Борисов А. Г., Черданцев Д. В., Первова О. В., Кудрявцев И. В., Мошев А. В. Особенности фагоцитарной активности и состояния респираторного взрыва нейтрофилов крови у больных распространенным гнойным перитонитом в динамике послеоперационного периода. Инфекция и иммунитет. 2017; 1: 51-60. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-1-51-60. [Savchenko A. A., Gvozdev I. I., Borisov A. G., Cherdantsev D. V., Pervova O. V., Kudryavtsev I. V., Moshev A. V. Features of phagocytic activity and the state of respiratory explosion of blood neutrophils in patients with widespread purulent peritonitis in the dynamics of the postoperative period. Infektsiya i immunitet. 2017; 1: 51-60. (In Russ.) DOI: 10.15789/2220-7619-2017-1-51-60.

Сведения об авторах:

Плоскирева Антонина Александровна, д.м.н., профессор РАН, заместитель директора по клинической работе, Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора»; 111123, Россия, Москва, ул. Новогиреевская, 3а; antonina@ploskireva.com

Хараева Заира Феликсовна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х. М. Бербекова»; 360004, Россия, Нальчик, ул. Чернышевского, 173; irafe@yandex.ru
Маржохова Асият Руслановна, к.м.н., старший научный сотрудник клинического отдела инфекционной патологии, Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора»; 111123, Россия, Москва, ул. Новогиреевская, 3а; asya_marzhoh@mail.ru

Понежева Жанна Бетовна, д.м.н., заведующая клиническим отделом инфекционной патологии, Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора»; 111123, Россия, Москва, ул. Новогиреевская, 3а; doktorim@mail.ru

Маржохова Мадина Юрьевна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней, Федеральное государственное автономное образовательное учреждения высшего образования «Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х. М. Бербекова»; 360004, Россия, Нальчик, ул. Чернышевского, 173; madina010@list.ru

Information about the authors:

Antonina A. Ploskireva, Dr. of Sci. (Med.), Professor of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Clinical Work, Federal Budgetary Institution of Science Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор; 3a Novogireevskaya str., Moscow, 111123, Russia; antonina@ploskireva.com

Zaira F. Kharaeva, Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov; 173 Chernyshevsky St., Nalchik, 360004, Russia; irafe@yandex.ru

Asiyat R. Marzhokhova, Cand. of Sci. (Med.), Senior Researcher of the Clinical Department of Infectious Diseases, Federal Budgetary Institution of Science Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор; 3a Novogireevskaya str., Moscow, 111123, Russia; asya_marzhoh@mail.ru

Zhanna B. Ponezheva, Dr. of Sci. (Med.), Head of the Clinical Department of Infectious Pathology, Federal Budgetary Institution of Science Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор; 3a Novogireevskaya str., Moscow, 111123, Russia; doktorim@mail.ru
Madina Yu. Marzhokhova, Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov; 173 Chernyshevsky St., Nalchik, 360004, Russia; madina010@list.ru

Поступила/Received 20.11.2023

Поступила после рецензирования/Revised 20.12.2023

Принята в печать/Accepted 25.12.2023