

## Состояние цитокиновой системы у больных с тяжелой формой COVID-19

А. А. Гришаева\*

Ж. Б. Понежева\*,<sup>1</sup>, доктор медицинских наук

М. Д. Чанышев\*\*, кандидат биологических наук

А. А. Плоскирева\*, доктор медицинских наук, профессор

И. А. Маннанова\*, кандидат медицинских наук

Н. И. Алешина\*\*\*, кандидат медицинских наук

В. Б. Ченцов\*\*\*, кандидат медицинских наук

С. В. Краснова\*\*\*, кандидат медицинских наук

\* ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, Россия

\*\* ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

\*\*\* ГБУЗ ИКБ № 2 ДЗМ, Москва, Россия

**Резюме.** Инфекция COVID-19 является одной из самых актуальных проблем современного здравоохранения. Несмотря на прогресс, достигнутый в понимании патогенеза данной инфекции, в настоящее время отсутствуют прогностические критерии утяжеления и летального исхода. Рядом авторов предложено рассматривать некоторые интерлейкины (ИЛ) в качестве маркеров прогноза тяжелого течения. Нами была проанализирована клиничко-лабораторная характеристика больных с тяжелым течением COVID-19, включая исследование уровней ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10. Под наблюдением находились 49 пациентов с тяжелой формой COVID-19 в возрасте от 18 до 90 лет, госпитализированных в отделение реанимации и интенсивной терапии инфекционного стационара. У всех пациентов диагноз был подтвержден выявлением РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР в мазках из носоглотки и ротоглотки. У 47 пациентов наблюдался отягощенный преморбидный фон. При поступлении самыми частыми жалобами являлись лихорадка, одышка и сухой кашель. У всех больных была диагностирована двусторонняя полисегментарная пневмония, тяжелая форма (КТ-3/4) наблюдалась у 32,7% больных. Анализ исследуемых цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10) в сыворотке крови больных с тяжелым течением COVID-19 выявил, что ИЛ-6 был повышен у 75%, в то время как повышение уровня ИЛ-10 отмечено менее чем у половины больных (46,9%), а показатель ИЛ-1 выше нормы регистрировали менее чем у трети пациентов (12,2%). Проанализированы клиничко-лабораторные особенности у пациентов с COVID-19 тяжелого течения в зависимости от исхода болезни в группах сравнения: группа 1 — выжившие; умершие — группа 2. В группе 1 повышение концентрации ИЛ-6 регистрировали у 73,9% исследуемых, ИЛ-1 — только у 4,3% случаев, а ИЛ-10 — у 21,7% больных. При этом в группе 2 (с летальным исходом) выявлены повышенные концентрации ИЛ-6 у 96,2% больных, ИЛ-10 и ИЛ-1 — в 69,2% и 21,7% случаев соответственно. Одновременное повышение трех исследуемых цитокинов наблюдалось только у 12,2% пациентов — все они относились к группе 2. Таким образом, исследуемые цитокины могут рассматриваться как потенциальные прогностические маркеры летального исхода у больных с тяжелой формой COVID-19.

**Ключевые слова:** SARS-CoV-2, COVID-19, тяжелое течение, интерлейкин-1, интерлейкин-6, интерлейкин-10, прогноз, летальность.

**Для цитирования:** Гришаева А. А., Понежева Ж. Б., Чанышев М. Д., Плоскирева А. А., Маннанова И. А., Алешина Н. И., Ченцов В. Б., Краснова С. В. Состояние цитокиновой системы у больных с тяжелой формой COVID-19 // *Лечащий Врач*. 2021; 6 (24): 48-51. DOI: 10.51793/OS.2021.24.6.010

## The state of the cytokine system in patients with severe COVID-19

A. A. Grishaeva\*, Zh. B. Ponezheva\*,<sup>1</sup>, M. D. Chanyshv\*\*, A. A. Ploskireva\*, I. A. Mannanova\*, N. I. Aleshina\*\*\*, V. B. Chentsov\*\*\*, S. V. Krasnova\*\*\*

\* The Central Research Institute of Epidemiology, Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being, Moscow, Russia

\*\* N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

\*\*\* Infectious Diseases Clinical Hospital № 2, Moscow, Russia

**Abstract.** COVID-19 infection is one of the most actual problems of modern healthcare. Despite the progress made in understanding of the pathogenesis of this infection, there are currently no prognostic criteria for aggravation and death. A number of authors propose to consider interleukins 1, 6, 10 (IL-1, IL-6, IL-10) as markers of the prognosis of a severe course. We analyzed the clinical and laboratory characteristics of patients with severe COVID-19, including the interleukin 1, 6, 10 levels. We observed 49 patients with a severe form of COVID-19 aged 18 to 90 years, hospitalized in the intensive care unit of the Infectious Hospital. The diagnosis of Covid-19 was confirmed by the detection of SARS-CoV-2 RNA by PCR in nasopharyngeal and oropharyngeal smears. 47 patients had a burdened premorbid background. The most frequent complaints on admission were fever, shortness of breath, and dry cough. Bilateral polysegmental pneumonia was diagnosed at admission in all patients, but severe form (CT-3/4) was observed only in 32,7% of patients. Analysis of the studied cytokines (IL-1, IL-6, IL-10)

<sup>1</sup> Контактная информация: doktorim@mail.ru

in the blood serum of patients with severe Covid-19 revealed that IL-6 was elevated in more than 75% cases, while an increase in the level of IL-10 was noted in less than half of the patients (46,9%), and the IL-1 index above the baseline was recorded in less than a third of patients (12,2%).) We analyzed the clinical and laboratory characteristics of patients with severe COVID-19, depending on the outcome of the disease by the comparison groups: group 1 – survivors and group 2 – lethal. An increase of the concentration of IL-6 in group 1 was observed in 73,9% of the subjects, IL-1 – only in 4,3% of cases, and IL-10 – in 21,7% of patients. Elevated concentrations of IL-6 were detected in group 2 (with a fatal outcome) in 96,2% of patients, IL-10 in 69,2% of cases and IL-1 in 21,7% of patients. A simultaneous increase in the three cytokines studied was observed only in 12,2% of patients – all of them belonged to group 2. Thus, the cytokines studied can be considered as potential lethal markers for patients with severe COVID-19.

**Keywords:** SARS-CoV-2, COVID-19, severe course, interleukin-1, interleukin-6, interleukin-10, prognosis, mortality.

**For citation:** Grishaeva A. A., Ponezheva Zh. B., Chanyshv M. D., Ploskireva A. A., Mannanova I. A., Aleshina N. I., Chentsov V. B., Krasnova S. V. The state of the cytokine system in patients with severe COVID-19 // *Lechaschy Vrach*. 2021; 6 (24): 48-51. DOI: 10.51793/OS.2021.24.6.010

О начале пандемии новой коронавирусной инфекции ВОЗ объявила 11 марта 2020 г. На сегодняшний день в мире насчитывается свыше 430 млн заболевших и произошло почти 2,8 млн летальных исходов.

COVID-19 представляет собой системное инфекционное заболевание, характеризующееся дестабилизацией процессов иммунной системы, выбросом большого числа провоспалительных цитокинов с поражением различных органов и систем. Несколько исследований, анализирующих цитокиновый профиль у пациентов с COVID-19, показали, что цитокинемия напрямую коррелирует с повреждением легких, полиорганной недостаточностью и неблагоприятным прогнозом тяжелого течения COVID-19 [1–6]. Анализ показателей цитокинов в плазме крови у пациентов с COVID-19 выявил повышение уровней интерлейкинов-1, 6, 8, 9, 10 (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-9, ИЛ-10) [7]. Высокий уровень цитокинов также ассоциировался с тяжелым течением COVID-19 [5, 7, 8]. Ряд авторов рассматривают ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10 как возможные маркеры прогноза тяжелого течения COVID-19 [5, 7–9].

- ИЛ-1 способствует созреванию В-лимфоцитов и оказывает провоспалительное и пирогенное действие. Он активно продуцируется тканевыми макрофагами, эндотелиоцитами. Кроме того, В- и Т-лимфоциты, НК-клетки, фибробласты, нейтрофилы обладают способностью секретировать ИЛ-1.

- ИЛ-6 вырабатывается макрофагами, Т- и В-лимфоцитами, эндотелиальными и эпидермальными клетками. Он стимулирует пролиферацию В-лимфоцитов, активирует предшественников цитотоксических лимфоцитов, гранулоцитов и макрофагов. ИЛ-6 также активирует образование белков острой фазы и может приводить к сосудистой утечке, активации каскада свертывания

крови и комплемента, что приводит к характерным симптомам тяжелого течения COVID-19, таким как диффузное внутрисосудистое свертывание (ДВС-синдром) [10, 11]. Вероятно, что именно ИЛ-6 способствует дисфункции миокарда, вызывая кардиомиопатию, часто наблюдаемую у данных пациентов [12]. Эндотелиальная дисфункция может привести к повышению проницаемости капилляров, развитию гипотензии и коагулопатии [13].

- ИЛ-10 способен стимулировать пролиферацию В-лимфоцитов и тучных клеток, активировать НК-клетки и подавлять синтез провоспалительных цитокинов. Он синтезируется Т-регуляторными лимфоцитами (T<sub>reg</sub>), цитотоксическими Т-лимфоцитами, макрофагами и дендритными клетками.

Исследования цитокинового статуса у больных COVID-19 выявили значительное повышение уровней этих цитокинов в сыворотке крови и прямую зависимость с тяжелым течением заболевания, а ИЛ-6 и ИЛ-10 были предложены в качестве предикторов для быстрой диагностики более высокого риска ухудше-

ния состояния пациентов [14]. Учитывая имеющиеся данные, представляется интересным исследование клинических и иммунопатогенетических особенностей тяжелого течения COVID-19 у госпитализированных пациентов.

Целью данной работы было определить клинко-лабораторные особенности у пациентов с тяжелой формой COVID-19.

#### Материалы и методы исследования

Под наблюдением находились 49 пациентов с тяжелой формой COVID-19 в возрасте от 24 до 90 лет, госпитализированных в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) 2-й инфекционной клинической больницы Москвы в период с апреля по август 2020 г. Все пациенты при поступлении в стационар подписывали информированное добровольное согласие на обработку персональных данных и медицинское вмешательство.

Данная работа представляет собой простое описательное исследование, основанное на анализе клинко-лабораторных параметров больных, вклю-

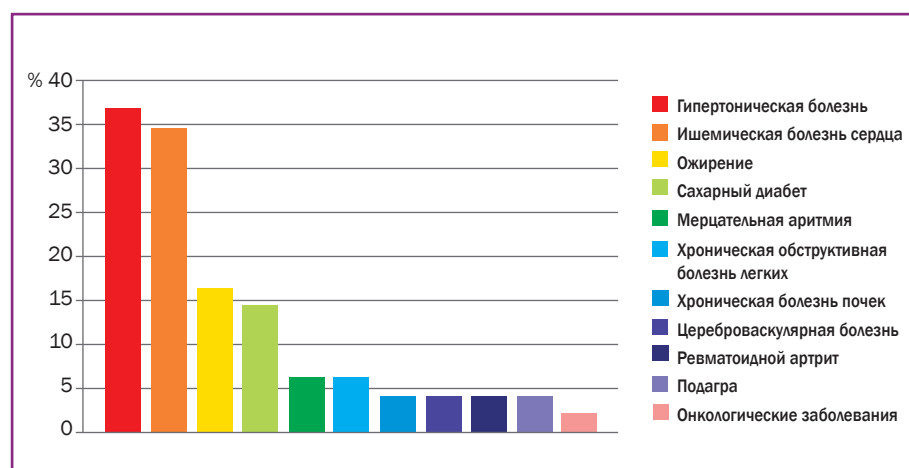


Рис. 1. Структура сопутствующих заболеваний у больных тяжелой формой COVID-19 / The structure of concomitant diseases in patients with severe form COVID-19

чающих данные стандартных лабораторных и инструментальных методов обследования в условиях стационара. Физикальное обследование, оценку жизненных показателей, пульсоксиметрию с измерением  $SpO_2$  и оценку состояния пациента проводили в динамике весь период наблюдения.

Диагноз новой коронавирусной инфекции был установлен на основании выявления РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР в мазках из носоглотки и ротоглотки (100%). Лабораторный анализ включал, кроме стандартных анализов, исследование уровней противовоспалительных цитокинов — ИЛ-1, ИЛ-10, ИЛ-6 в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа, используя наборы Bioscience, с автоматической обработкой микропланшетным ридером Anthos-2020 («Anthos Labtec Instruments GmbH», Австрия) при длине волны 450 нм с коррекцией 620 нм, с построением стандартной кривой оптической плотности и определением концентрации исследуемых цитокинов согласно инструкциям от производителя.

Критерии включения — возраст от 18 до 90 лет, подтвержденный лабораторно COVID-19 у пациента, наличие информированного согласия на обработку персональных данных.

Критерии исключения — возраст младше 18 и старше 90 лет, беременность, отсутствие лабораторно подтвержденного диагноза COVID-19 у пациента и отсутствие информированного добровольного согласия больного на обработку персональных данных и медицинское вмешательство.

Для статистической обработки данных использовались программы Microsoft Office Excel 2016 (Microsoft) и библиотеки Matplotlib и Numpy среды программирования Python.

## Результаты исследования и обсуждение

Под наблюдением было 49 пациентов, соответствующих критериям включения, из числа поступивших на лечение в отделение ОРИТ с диагнозом «COVID-19, тяжелое течение» (31 мужчина и 18 женщин). Возраст пациентов находился в диапазоне от 24 до 90 лет, средний возраст составил  $58,3 \pm 12,6$  года. Все пациенты поступали в среднем на  $8,4 \pm 2,3$  дня болезни (в сроки от 1 до 21 дня). Продолжительность госпитализации в стационаре составила от 1 до 67 дней, в среднем —  $19,1 \pm 10,7$  дня. У 47 пациентов (95,9%) наблюдался отягощенный преморбидный фон. Структура сопут-

ствующих заболеваний представлена на рис. 1.

При поступлении самыми частыми жалобами были лихорадка (81,6%), одышка (77,6%) и сухой кашель (73,5%), диспепсический синдром наблюдался у 2% больных. При исследовании общего анализа крови уровень лейкоцитов находился в диапазоне от  $2,3$  до  $17,6 \times 10^9/\text{л}$  (лейкопения у 6,1% пациентов, лейкоцитоз в 24,5% случаев), средний уровень лейкоцитов составил  $7,71 \pm 3,3 \times 10^9/\text{л}$ , уровень эритроцитов регистрировали от  $3,23$  до  $5,58 \times 10^{12}/\text{л}$ , в среднем —  $4,51 \pm 0,65 \times 10^{12}/\text{л}$ , показатель тромбоцитов был в среднем  $174 \pm 64,7 \times 10^9/\text{л}$ . Уровень С-реактивного белка (СРБ) находился в диапазоне от 3 до 446 мг/л, средний уровень составил  $98,4 \pm 58,3$  мг/л, а показатель ферритина определялся от 126,3 до 4649,7 мкг/л и в среднем —  $580,4 \pm 377,5$  мкг/л, уровень лактатдегидрогеназы составил от 55 до 1500 ЕД/л, его среднее значение —  $617,7 \pm 271,4$  ЕД/л.

В момент поступления у 85,7% ( $n = 42$ ) наблюдался уровень  $SpO_2$  ниже 93%, а 28,6% ( $n = 14$ ) пациентов нуждались в ИВЛ уже в первые сутки от госпитализации, в дальнейшем респираторная поддержка потребовалась еще 32,7% ( $n = 16$ ) пациентам в период с 3-х по 7-е сутки госпитализации.

У всех пациентов ( $n = 49$ ) при поступлении была диагностирована двусторонняя полисегментарная пневмония, однако тяжелая форма по данным компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ-3/4) наблюдалась у 32,7% ( $n = 16$ ) больных в момент госпитализации.

Исследования показателей ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10 в сыворотке крови в группе наблюдения выявили, что уровень ИЛ-6 был повышен у 2/3 больных ( $n = 42$ ), в то время как повышение концентрации ИЛ-10 в сыворотке крови отмечалось менее чем в половине случаев ( $n = 22$ ), а ИЛ-1 — менее чем у трети больных ( $n = 6$ ). Статистически достоверных взаимосвязей клинико-лабораторных параметров с исследуемыми цитокинами выявлено не было.

Были проанализированы лабораторные параметры пациентов с тяжелыми формами COVID-19 в зависимости от исхода болезни. Группа 1 (выжившие) составила 23 человека, из них 14 мужчин и 9 женщин. В группе 2 (летальной) оказались 26 человек (17 мужчин и 9 женщин). Сравнительный анализ в группах не выявил статистически достоверного различия по срокам поступления ( $7,4 \pm 3,3$  дня в группе 1 против  $9,4 \pm 7,9$

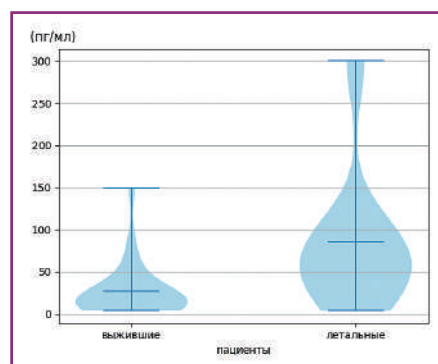


Рис. 2. Уровень ИЛ-6 в исследуемых группах / Level IL-6 in the study groups

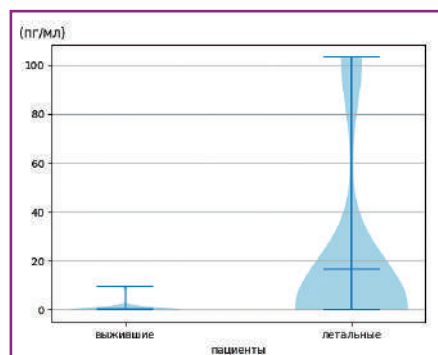


Рис. 3. Распределение ИЛ-1 в группах сравнения / Distribution IL-1 in comparison groups

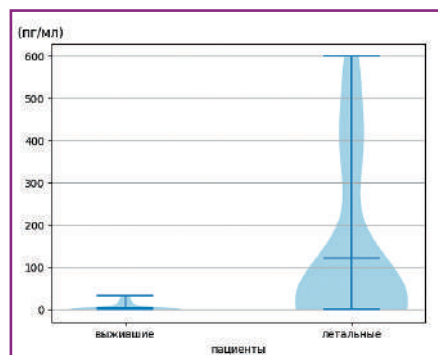


Рис. 4. Уровень ИЛ-10 в группах сравнения / Level IL-10 in comparison groups

в группе 2) и продолжительности госпитализации ( $28,04 \pm 13,9$  дня в группе 1 и  $10,4 \pm 7,3$  дня в группе 2).

Уровень ИЛ-6 ( $N > 7$  пг/мл) был повышен у 85,7% ( $n = 42$ ) исследуемых с размахом показателя от 5,32 до 300 пг/мл. При этом в группе 1 повышение концентрации данного цитокина наблюдалось у 73,9% ( $n = 17$ ) пациентов, а в группе 2 практически у всех больных — у 96,2% ( $n = 25$ ). На рис. 2 представлено распределение



концентраций ИЛ-6 в обеих исследуемых группах. Следует отметить, что уровень ИЛ-6 выше 150 пг/мл наблюдался только в летальной группе. Данный уровень может рассматриваться как критерий летальности при тяжелом течении новой коронавирусной инфекции. Наши результаты частично совпадают с данными других исследований. Так, в проведенных ранее в Китае работах превышение концентрации ИЛ-6 было зарегистрировано у 97% больных с тяжелым течением COVID-19 и как прогностически неблагоприятный расценили уровень ИЛ-6 свыше 32,1 пг/мл [15], а в другом исследовании этот порог был свыше 80 пг/мл [16].

Повышение показателя ИЛ-1 (при норме  $N > 5$  пг/мл) регистрировали у 12,2% ( $n = 6$ ) пациентов с тяжелым течением. Распределение ИЛ-1 в группах сравнения представлено на рис. 3. В группе 1 уровень ИЛ-1 повышен только в 4,3% случаев и не превышал 9,6 пг/мл. В группе 2 концентрация ИЛ-1 достоверно повышена у 19,2% больных, и при этом регистрировался разброс от 10,6 до 103,2 пг/мл. Повышение концентрации ИЛ-1 выше двух норм может рассцениваться как прогностический критерий летального исхода.

У больных с тяжелым течением COVID-19 в 46,9% случаев ( $n = 23$ ) наблюдалось повышение уровня ИЛ-10 (при норме  $n > 91$  пг/мл), его показатели представлены на рис. 4. Отмечается частое увеличение его концентрации в группе 2 – в 69,2% случаев ( $n = 18$ ). При этом в группе 1 концентрация ИЛ-10 не превышала 32,8 пг/мл и регистрировалась только у 21,7% ( $n = 5$ ). В группе 2 разброс уровня ИЛ-10 составил от 14,7 до 600 пг/мл. Установлено, что у 23% больных из группы 2 наблюдалось значимое нарастание его концентрации свыше 400 пг/мл, что позволяет расценивать такой уровень ИЛ-10 как критерий летального исхода от COVID-19.

Следует отметить, что в группе наблюдения из 49 больных с тяжелым течением COVID-19 лишь у 12,2% ( $n = 6$ ) пациентов выявлено одновременное повышение уровня всех трех исследуемых цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10). Все эти пациенты относились к группе 2 – они же составили 23% всех случаев COVID-19 с летальным исходом (группа 2).

## Заключение

Таким образом, тяжелое течение новой коронавирусной инфекции сопровождается агрессивной воспалительной реакцией с выбросом большого коли-

чества провоспалительных цитокинов, которые могут рассматриваться в качестве потенциальных маркеров прогноза течения и исходов болезни. Прогностическим критерием летального исхода является значимое увеличение концентрации ИЛ-6 (свыше 150 пг/мл), ИЛ-1 (более 2 норм) и ИЛ-10 (свыше 400 пг/мл). Установлено, что достоверное превышение показателей этих цитокинов, регистрируемое одновременно, является критерием прогноза летальности при COVID-19. Дальнейшее изучение состояния цитокиновой системы необходимо для лучшего понимания патогенеза новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, и определения тактики лечения COVID-19. ■

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

CONFLICT OF INTERESTS. Not declared.

## Литература/References

1. Huang C., Wang Y., Li X. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China // *Lancet*. 2020; 395: 497-506. 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
2. Ruan Q., Yang K., Wang W. et al. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China // *Intensive Care Med*. 2020; 46: 846-848. 10.1007/s00134-020-06028-z.
3. Chen G., Wu D., Guo W. et al. Clinical and immunologic features in severe and moderate Coronavirus Disease 2019 // *J Clin Invest*. 2020; 130: 2620-2699. 10.1101/2020.02.16.20023903.
4. Gao Y., Li T., Han M. et al. Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19 // *J Med Virol*. 2020; 92: 791-796. 10.1002/jmv.25770.
5. Chen L., Liu H., Liu W. et al. Analysis of clinical features of 29 patients with 2019 novel coronavirus pneumonia // *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2020; 43: 203-208. 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2020.0005.
6. Sun D., Li H., Lu X. et al. Clinical features of severe pediatric patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan: a single center's observational study // *World J Pediatr*. 2020; 19: 1-9. 10.1007/s12519-020-00354-4.
7. Yujun Tang, Jiajia Liu, Dingyi Zhang et al. Cytokine Storm in COVID-19:

The Current Evidence and Treatment Strategies // *Front Immunol*. 2020; 11: 1708. 10.3389/fimmu.2020.01708.

8. Thompson M., Kaminski J., Kurt-Jones E. et al. Pattern recognition receptors and the innate immune response to viral infection // *Viruses*. 2011; 3: 920-940. 10.3390/v3060920.
9. Huan Han, Qingfeng Ma, Cong Li et al. Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors // *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9 (1): 1123-1130. DOI: 10.1080/22221751.2020.1770129.
10. Dina Ragab, Haitham Salah Eldin, Mohamed Taeimah et al. The COVID-19 Cytokine Storm; What We Know So Far // *Front Immunol*. 2020; 11: 1446. 10.3389/fimmu.2020.01446.
11. Zhong-yong C., Wei-bin Y., Qiang W. et al. Clinical significance of serum hs-CRP, IL-6, and PCT in diagnosis and prognosis of patients with COVID-19 // *Drugs Clin*. 2020; 35: 417-420. 10.7501/j.issn.1674-5515.2020.03.005.
12. Guohua L., Ling L., Min H. et al. Value of various inflammatory markers combined with lymphocyte subsets on clinical diagnosis of different clinical types of COVID-19 // *J Chong Med Univ*. 2020. 10.13406/j.cnki.cyx.002465.
13. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm // *Immunotherapy*. 2016; 8 (8): 959-970.
14. Huan Han, Qingfeng Ma, Cong Li et al. Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors // *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9 (1): 1123-1130. DOI: 10.1080/22221751.2020.1770129.
15. Fang Liu, Lin Li, MengDa Xu et al. Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19 // *J Clin Virol*. 2020; 127: 104370. DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104370.
16. Herold T., Jurinovic V., Arnreich C. et al. Elevated levels of IL-6 and CRP predict the need for mechanical ventilation in COVID-19 // *J Allergy Clin Immunol*. 2020; 146 (1): 128-136. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.05.008.