

МЕДИЦИНА**MEDICINE**

УДК 616.98-022-097.3:578.834.1SARS-CoV-2:578.52:[616.24+576.353.4](045) Поступило в редакцию 10.06.2021
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-5-592-600> Received 10.06.2021

Член-корреспондент Л. П. Титов, Т. В. Амвросьева, М. О. Трусевич, И. В. Бельская

*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Республика Беларусь*

**БИОМАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ И ЦИТОКИНОВОГО ШТОРМА:
СВЯЗЬ С УРОВНЯМИ ПРОДУКЦИИ ВИРУССПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ
ИЗОТИПА IgG К КОРОНАВИРУСУ SARS-CoV-2 У ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19
И ВАКЦИНИРОВАННЫХ ЛИЦ**

Аннотация. COVID-19 представляет собой серьезную проблему здравоохранения планетарного масштаба. Становится актуальным изучение формирования гуморального противовирусного иммунитета у лиц, перенесших заболевание и привитых от SARS-CoV-2 вируса. В работе определяли сывороточные уровни биомаркеров воспаления и цитокинового шторма (прокальцитонина, sCD14, sLBP, sTREM1, IL-6, IL-8, IL-10, sWnt5a, TNF α и TNF β) методом иммуноферментного анализа. Изучали связь между содержанием биомаркеров в сыворотке крови лиц с низкими и высокими концентрациями противовирусных антител, косвенными показателями которых являются значения коэффициента позитивности (КП). Установлено достоверное увеличение сывороточного содержания sTREM1, IL-6 и прокальцитонина у лиц с высоким уровнем КП, перенесших инфекцию. Выявлено достоверное увеличение IL-6 и прокальцитонина у лиц, привитых вакциной Спутник V, как с низким уровнем КП, так и с высоким. У привитых лиц с низким уровнем КП также наблюдалось достоверное увеличение содержания sTREM1. Показано, что содержание sCD14 (пресепсина) достоверно ниже у вакцинированных лиц как с низким, так и с высоким КП по сравнению с донорами. При изучении корреляционных связей между КП и сывороточным содержанием биомаркеров у вакцинированных лиц выявлена слабая обратная корреляция для sLBP ($r = -0,465$) и IL-6 ($r = -0,437$), а также средняя обратная корреляция для sTREM1 ($r = -0,508$).

Ключевые слова: COVID-19, биомаркеры воспаления, маркеры цитокинового шторма, коэффициент позитивности

Для цитирования. Биомаркеры воспаления и цитокинового шторма: связь с уровнями продукции вирусспецифических антител изотипа IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 у перенесших COVID-19 и вакцинированных лиц / Л. П. Титов [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2021. – Т. 65, № 5. – С. 592–600. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-5-592-600>

Corresponding Member Leonid P. Titov, Tamara V. Amvrosieva, Margarita O. Trusevich, Inna V. Belskaya

Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

**BIOMARKERS OF INFLAMMATION AND CYTOKINE STORM: A RELATIONSHIP
WITH THE PRODUCTION LEVELS OF VIRUS-SPECIFIC IgG ISOTYPE ANTIBODIES
TO SARS-CoV-2 N-PROTEIN IN COVID-19 PRESENT AND VACCINATED PERSONS**

Abstract. COVID-19 has become a planetary emergency which is seriously threatening human health. Comparative studies can shed light on the molecular mechanisms of the formation of humoral antiviral immunity in persons who have undergone the disease and have been vaccinated against the SARS-CoV-2 virus. Serum levels of biomarkers of inflammation and cytokine storm (procalcitonin, sCD14, sLBP, sTREM1, IL-6, IL-8, IL-10, sWnt5a, TNF α and TNF β) were determined by enzyme immunoassay. We studied the relationship between the content of biomarkers in blood serum with low and high concentrations of antiviral antibodies, indirect indicators of which are the values of the positivity coefficient (CP). A significant increase in the serum levels of sTREM1, IL-6, and procalcitonin was found in persons with a high CP level after infection.

A significant increase in IL-6 and PCT was revealed in persons vaccinated with the Sputnik V vaccine, both with a low level of CP and with a high one. In vaccinated individuals with a low CP level, a significant increase in the sTREM1 content was also observed. It has been shown that the content of sCD14 (presepsin) is significantly lower in vaccinated individuals, both with low and high CP, compared with donors. When studying the correlations between CP and serum biomarkers in vaccinated individuals, a weak inverse correlation was found for sLBP ($r = -0.465$) and IL-6 ($r = -0.437$), as well as an average inverse correlation for sTREM1 ($r = -0.508$).

Keywords: COVID-19, inflammation biomarkers, cytokine storm markers, coefficient of positivity

For citation. Titov L. P., Amvrosieva T. V., Trusevich M. O., Belskaya I. V. Biomarkers of inflammation and cytokine storm: a relationship with the production levels of virus-specific IgG isotype antibodies to SARS-CoV-2 N-protein in COVID-19 present and vaccinated persons. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2021, vol. 65, no. 5, pp. 592–600 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-5-592-600>

Введение. COVID-19 в настоящее время представляется наиболее значимой проблемой здравоохранения вследствие высокого уровня заболеваемости и смертности населения планеты. Пандемическое распространение коронавируса SARS-CoV-2 на протяжении последних 1,5 лет привело к поражению инфекцией более 170 млн чел., а число летальных случаев превысило более 3,5 млн чел. Характерными особенностями этой вирусной инфекции является более тяжелое течение преимущественно у лиц старших возрастных групп (55 и более), низкий уровень поражения детского населения и более легкое течение болезни у лиц среднего возраста. Хотя в последнее время увеличивается частота случаев заболевания среди лиц молодого возраста. Взаимодействие вируса с организмом хозяина и исход заболевания в значительной мере объясняется конкурентными молекулярно-клеточными механизмами репродукции возбудителя инфекции и эффективности естественных и адаптивных противовирусных реакций и механизмов иммунной системы [1].

Геномная РНК коронавируса SARS-CoV-2 кодирует 29 белков – 16 неструктурных (функциональных), 4 структурных, образующих вирион, и 9 дополнительных [2]. К наиболее важным структурным белкам относятся S белок – шиповидный, М – мембранный, Е – оболочечный и N – нуклеокапсидный (протеидный). Вирион имеет сферическую форму диаметром 70–97 нм. Для вируса характерна высокая частота мутаций (10–14) и генетических рекомбинаций (до 10 % генома). Белки перикапсиды – S и М формируют выступающие над поверхностью вириона шипы [2; 3]. Самая распространенная мутация в геноме SARS-CoV-2 повышает шанс вируса проникать в клетки организма в 2,5–8,0 раз. Белок S имеет массу 150 кДа и состоит из двух субъединиц S1 и S2. Субъединица S1 имеет домен связывания с рецептором клеток (BRD) – молекулами ангиотензин-конвертирующего фермента-2 (ACE-2), а субъединица S2 представлена трансмембранным и цитоплазматическим доменами и участвует в слиянии мембраны вириона с мембраной клетки, что способствует проникновению инфекционного агента в цитоплазму. Поэтому S-белок рассматривается в качестве основного фактора патогенности. Антигенные детерминанты S-белка нейтрализуются вирусспецифичными антителами и распознаются CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитами. В молекуле S-белка биоинформационными расчетами установлена локализация 22 эпитопов для В-лимфоцитов, а также по 2 В-клеточных эпитопа в молекулах М- и Е-белков [4; 5].

N-белок консервативен, характеризуется стабильностью, обильно синтезируется в процессе инфекции, является сильным антигеном, индуцирует гуморальный и Т-клеточный иммунный ответ. Он является антагонистом интерферонов I и III типов, взаимодействует с RIG-I/MDA-5 сигнальным путем и рассматривается в качестве кандидатного белка для создания вакцин [4–6]. В структуре этого белка выделяют два домена – N-терминальный (NTD) и С-терминальный (CTD). В первичной и третичной структуре молекулы N-белка биоинформационными методами определена локализация 7 потенциальных В-клеточных эпитопов (по 3–4 иммуноэпитопа в домене) [6].

Гуморальный иммунный ответ на инфекционный агент у пациентов с COVID-19 и иммунизированных лиц развивается в результате проникновения вирусных частиц в слизистые дыхательного тракта, либо введения компонентов вакцины, с последующей транслокацией и миграцией иммунокомпетентных клеток в локальные лимфоидные органы (лимфоузлы, лимфоидные образования кишечника, селезенку), в которых и развиваются основные этапы иммунного ответа – распознавание чужеродного агента, активация наивных В-лимфоцитов, индукция генетиче-

ских рекомбинаций и гипермутаций генов иммуноглобулинов, клональная селекция, продукция плазматических клеток, созревание аффинности антител и формирование иммунологической памяти. Нейтрализация инфекционных вирионов антителами является важнейшим механизмом эрадикации вирусов в организме конкретного индивидуума и вирусной инфекции в популяции человека в целом [7; 8]. Вместе с тем специфические мишени для антител в белках вируса нуждаются в углубленном изучении. При SARS-CoV-2 инфекции основной мишенью для нейтрализующих антител является домен S1 белка, связывающийся с рецептором клеток ACE-2, состоящий из 193 аминокислот. В [9–11] показано развитие раннего гуморального ответа у пациентов с COVID-19. Вирусспецифические антитела IgM и IgA классов выявлялись на 5-е сутки после проявления симптомов заболевания (в среднем на 3–6 день) и на 14 день для антител IgG класса (в среднем на 10–18 день). Быстрый ответ В-лимфоцитов продукцией вирусспецифических антител, вероятно, может быть объяснен эффектом развивающегося цитокинового шторма, который регулирует в зародышевых центрах лимфоидных органов процесс транскрипции генов тяжелых цепей – α и μ . Для более эффективной вируснейтрализации и последующей эрадикации вируса важно комбинированное взаимодействие антител разной классоспецифичности с антигенными детерминантами S1 и N белков – IgM-S и IgM-N, а также IgG-S и IgG-N в достаточно высоких титрах. Несмотря на предшествующий достигнутый учеными прогресс в понимании закономерностей развития гуморального противовирусного иммунитета, многие аспекты этого фундаментального механизма адаптивного иммунитета еще недостаточно изучены и оценены.

Целью настоящего исследования являлось изучение продукции вирусспецифических антител IgG класса к шиповидному S-белку у лиц, переболевших COVID-19, и вакцинированных в ассоциации с уровнем биологических маркеров воспаления и цитокинового шторма.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 20 сывороток периферической крови пациентов, перенесших инфекцию, вызванную коронавирусом SARS-CoV-2, и 22 сыворотки крови пациентов, привитых от данного вируса вакциной Спутник-V (табл. 1). Распределение по половому составу (мужчины/женщины) в группе пациентов с постинфекционным иммунитетом было равномерным. Возраст варьировал от 15 до 68 лет, средний показатель составил $37,6 \pm 17,03$. Среднее количество дней от начала клинических проявлений – $124,9 \pm 27,48$.

Т а б л и ц а 1. Характеристика обследованных пациентов

T a b l e 1. Characteristics of the examined patients

Параметр Parameter	Постинфекционные сыворотки ($n = 20$) Post-infectious sera ($n = 20$)		Поствакцинальные сыворотки ($n = 22$) Post-vaccination sera ($n = 22$)	
Средний возраст, $M \pm \sigma$, лет	$37,6 \pm 17,03$		$53,3 \pm 12,8$	
Мужчины/женщины (абс/%)	10/10 (50/50)		8/14 (36,4/63,6)	
Среднее количество дней от начала клинических проявлений	$124,9 \pm 27,48$			
Среднее количество дней от начала первой вакцинации			$38,5 \pm 2,6$	
Средний коэффициент позитивности (КП), $M \pm \sigma$	$5,24 \pm 3,97$		$7,65 \pm 5,42$	
	Низкий КП ($n = 11$)	Высокий КП ($n = 9$)	Низкий КП ($n = 10$)	Высокий КП ($n = 12$)
	$2,40 \pm 1,15$	$8,71 \pm 3,34$	$2,32 \pm 1,33$	$12,10 \pm 2,70$

В группе с поствакцинальным иммунитетом больше половины (63,6 %) составили женщины ($n = 14$), мужчины – 36,4 % ($n = 8$). Возраст варьировал от 22 до 68 лет, средний показатель составил $53,3 \pm 12,8$. Среднее количество дней от начала первой вакцинации составило $38,5 \pm 2,6$. Среднее значение коэффициента позитивности (КП) после 1-й вакцинации составило $1,83 \pm 0,56$ ($n = 5$), после 2-й вакцинации – $9,36 \pm 4,98$ ($n = 17$) ($p < 0,05$).

При изучении постинфекционного антительного ответа использовали набор реагентов SARS-CoV-2-NP-ИФА G («РНПЦ эпидемиологии и микробиологии», Беларусь) для выявления анти-SARS-CoV-2 иммуноглобулинов G методом ИФА. Для детекции поствакцинальных иммуноглобулинов G к S-белку коронавируса SARS-CoV-2 применяли иммуноферментные наборы реа-

гентов SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ («Вектор-Бест», Россия). Полуколичественный анализ напряженности гуморального иммунитета осуществляли с помощью определения коэффициента позитивности (КП), равного отношению значения показателя оптической плотности (ПОП) исследуемого положительного образца к граничному значению ПОП для положительного образца. Как известно, данный показатель косвенно отражает концентрацию противовирусных антител, т. е. напряженность специфического иммунитета к коронавирусу SARS-CoV-2, а его величина коррелирует с выраженностью антительного ответа.

Уровни прокальцитонина (ПКТ), интерлейкинов 6, 8, 10 (IL-6, 8, 10), пресепсина (sCD14), триггерного рецептора миелоидных клеток 1 (sTREM1), sWnt5a, липополисахарид-связывающего белка (LBP), факторов некроза опухолей α и β (TNF α , β) в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческих тест-систем (Human sTREM1 ELISA Kit, Human Presepsin ELISA Kit, Human Lipopolysaccharide-binding protein ELISA Kit, Fine Test, Китай; Human Tumor Necrosis Factor Alpha ELISA Kit, Human Tumor Necrosis Factor Beta ELISA Kit, Human Protein WNT-5A ELISA Kit, Bioassay Technology Laboratory, Китай; Наборы реагентов для иммуноферментного определения концентрации прокальцитонина, интерлейкинов 6, 8, 10, «ВекторБест», Россия). Постановку эксперимента проводили согласно инструкции производителя тест-систем.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica версии 10. Значения показателей представлены в виде Me (25–75), где Me – медиана, а 25 и 75 – интерквартильный размах в виде 25-й и 75-й перцентилей. Для сравнения двух независимых выборок применяли *U*-критерий Манна–Уитни. В качестве критерия достоверности различий показателей принимали уровень значимости $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили с помощью непараметрического метода Спирмена с указанием коэффициента *r*.

Результаты и их обсуждение. Ассоциация концентрации факторов воспаления и цитокинов с низким и высоким КП у перенесших инфекцию лиц на S-белок вируса. В табл. 2 представлены результаты определения растворимых факторов воспаления и цитокинового шторма в пробах сыворотки крови здоровых людей (контроль) и лиц, перенесших COVID-19, в зависимости от показателя наличия вирусспецифических антител (коэффициента позитивности) IgG изотипа к белку S, образующему нуклеокапсид вириона и являющемуся одним из наиболее важнейших структурных компонентов. Как видно из представленных данных, концентрация липополисахарид-связывающего белка (sLBP) и пресепсина (sCD14) – растворимого рецептора для липополи-

Т а б л и ц а 2. Количественное содержание факторов воспаления и цитокинового шторма у лиц, перенесших COVID-19 с разным уровнем коэффициента позитивности

T a b l e 2. Quantitative content of factors of inflammation and cytokine storm in persons who have undergone COVID-19 with different levels of the positivity coefficient

Параметр Parameter	Сыворотка доноров ($n = 30$) Donor sera ($n = 30$)	Сыворотка лиц, перенесших COVID-19 Sera from survivors of COVID-19	
		Низкий КП ($n = 11$) Low CP ($n = 11$)	Высокий КП ($n = 9$) High CP ($n = 9$)
sLBP, нг/мл	114,0 (104,3–127,3)	117,0 (108,0–129,0)	123,0 (118,0–135,0)
sCD14, нг/мл	0,31 (0,15–0,57)	0,20 (0,10–0,28)	0,16 (0,10–0,41)
sTNF α , нг/л	17,00 (14,15–23,53)	19,82 (12,31–38,11)	14,87 (10,57–48,49)
sTNF β , нг/л	11,28 (9,52–14,53)	9,92 (5,8–22,83)	10,38 (4,18–28,19)
sWnt5a, нг/мл	0,22 (0,17–0,27)	0,25 (0,13–0,47)	0,26 (0,12–0,63)
sTREM1, пг/мл	107,6 (80,3–202,6)	131,9 (90,5–348,2)	203,9 (140,1–522,0)*
IL-6, пг/мл	0,10 (0,10–0,63)	1,43 (0,51–4,77)*	2,18 (1,39–3,10)*
IL-8, пг/мл	3,51 (1,21–6,44)	3,33 (1,55–6,32)	4,09 (2,12–6,98)
IL-10, пг/мл	2,20 (0,70–4,09)	2,34 (1,54–3,77)	3,30 (2,10–3,78)
Прокальцитонин, нг/мл	0,05 (0,04–0,08)	0,04 (0,03–0,09)	0,09 (0,07–0,13)*

П р и м е ч а н и е: * – достоверные различия ($p < 0,05$) между донорами и пациентами.

N o t e: * – significant differences ($p < 0.05$) between donors and individuals.

сахаридов, экспрессируемого моноцитами и макрофагами, в группе лиц, перенесших инфекцию с низким и высоким уровнем КП, соответствует значениям контрольной группы ($p > 0,05$). Содержание в сыворотке крови одних из важнейших факторов воспаления продуцируемых активированными мононуклеарными фагоцитами, Т-лимфоцитами и естественными киллерами – TNF α/β – свидетельствует о некотором, но не достоверном, увеличении концентрации TNF α ($p > 0,05$) в группе лиц с относительно более низкими значениями КП. TNF α регулирует транскрипцию провоспалительных цитокинов – IL-1, IL-6 и IL-8. Концентрация молекул sWnt5a также характеризуется некоторым, но недостоверным повышением у лиц, переболевших инфекцией как с более низкими показателями КП, так и с более высокими ($p > 0,05$). В то же время концентрация sTREM1 в сыворотке крови лиц, перенесших инфекцию с высокими значениями КП, достоверно повышена ($p < 0,05$), а в группе лиц с низким КП достоверных различий выявлено не было.

В развитии гуморального иммунного ответа и интенсивности антителообразования на инфекцию важная роль принадлежит провоспалительным и противовоспалительным цитокинам, включая IL-6, IL-8 и IL-10. Представленные в табл. 2 данные свидетельствуют о достоверно повышенной концентрации провоспалительного цитокина – IL-6 у лиц как с низким, так и высоким уровнем КП. Содержание в сыворотке крови противовоспалительных цитокинов IL-8 и IL-10 достоверно не отличалось от контрольной группы. Однако выявлено повышение концентрации IL-10 в группе лиц с высокими значениями антител ($p > 0,05$), что может указывать на включение иммуносупрессивных регуляторных механизмов иммунного ответа. Повышенное содержание прокальцитонина как широко используемого биомаркера сепсиса ассоциируется с наличием повышенных уровней КП в сыворотке крови ($p < 0,05$).

Ассоциация концентрации факторов воспаления и цитокинов с низким и высоким значением КП у вакцинированных лиц. Наличие специфических антител к S-белку вируса исследовали на $38,5 \pm 2,6$ день после первой иммунизации. В сыворотке крови оценивали количественное содержание факторов воспаления и цитокинового шторма у лиц, иммунизированных вакциной Спутник V. На рис. 1 представлена диаграмма количественного содержания sCD14, биомаркера воспаления при сепсисе – прокальцитонина (ПКТ) и sWnt5a. Представленные данные свидетельствуют, что в группе лиц как с низким показателем КП, так и с высоким КП после вакцинации содержание sCD14 достоверно снижено ($p < 0,05$). Данный показатель для группы с низким КП составил 0,06 (0,02–0,10) нг/мл, для группы с высоким КП – 0,05 (0,02–0,11) нг/мл, для контрольной группы – 0,31 (0,15–0,57) нг/мл.

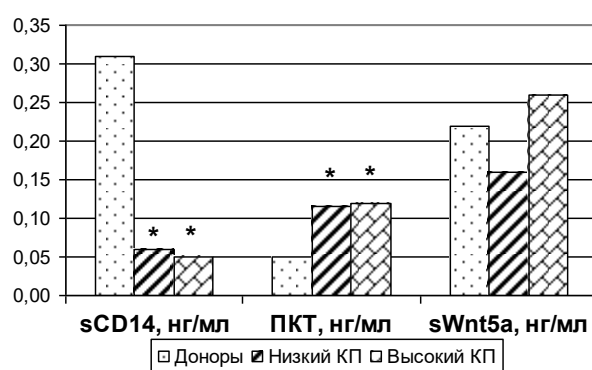


Рис. 1. Содержание sCD14, ПКТ и sWnt5a в сыворотке крови лиц, вакцинированных Спутник V, с низким и высоким уровнем коэффициента позитивности. * – достоверные различия ($p < 0,05$) между донорами и пациентами

Fig. 1. The content of sCD14, PCT and sWnt5a in the blood serum of persons vaccinated with Sputnik V with low and high levels of coefficient of positivity. * – significant differences ($p < 0,05$) between donors and individuals

В то же время содержание ПКТ в обеих группах вакцинированных лиц достоверно выше в сравнении с его концентрацией в сыворотке крови контрольной группы ($p < 0,05$). Для группы с низким КП данный показатель составил 0,12 (0,09–0,17) нг/мл, для группы с высоким КП – 0,12

(0,07–0,18) нг/мл, для контрольной группы – 0,05 (0,04–0,08) нг/мл. Концентрация белка Wnt5a достоверно не отличалась между исследуемыми группами.

Из представленных на рис. 2 результатов видно, что содержание IL-6 у привитых лиц достоверно повышается в результате иммунного ответа. Причем отмечается ассоциация более высоких значений КП (2,44 (1,75–3,00) пг/мл) в группе с более низким уровнем (3,19 (2,14–5,18) пг/мл) ($p < 0,05$). Содержание IL-6 у доноров составило 0,10 (0,10–0,63) пг/мл. При проведении корреляционного анализа было установлено, что уровни IL-6 в сыворотке крови обратно коррелировали с показателем КП (коэффициент Спирмена – 0,437), что свидетельствует о слабой обратной зависимости между показателями. Концентрация в сыворотке крови IL-8 достоверно снижена в группе вакцинированных с высоким КП (2,19 (0,90–3,51) пг/мл), по сравнению с группой с низким уровнем антителообразования (4,19 (2,33–5,84) пг/мл) ($p < 0,05$). В сравнении с контрольной группой (3,51 (1,21–6,44) пг/мл) достоверных различий выявлено не было. В отношении уровня IL-10 в группе вакцинированных лиц не было выявлено достоверных различий по сравнению с донорами ($p > 0,05$).

На рис. 3 представлены результаты анализа связи концентрации белков острой фазы со способностью организма разных индивидуумов отвечать на иммунизацию одной и той же дозой вакцины разной силы продукцией антигенспецифических антител. Как свидетельствуют представленные данные, концентрация sLBP достоверно не отличается от данных контрольной группы, но имеется тенденция к его снижению в группе с высоким КП. При изучении корреляцион-

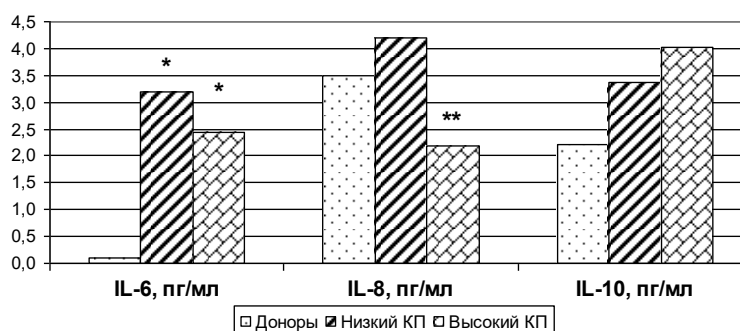


Рис. 2. Содержание IL-6, IL-8 и IL-10 в сыворотке крови лиц, вакцинированных Спутник V, с низким и высоким уровнем коэффициента позитивности: * – достоверные различия ($p < 0,05$) между донорами и пациентами; ** – достоверные различия ($p < 0,05$) между высокими и низкими титрами

Fig. 2. The content of IL-6, IL-8 and IL-10 in the blood serum of persons vaccinated with Sputnik V with low and high levels of coefficient of positivity: * – significant differences ($p < 0.05$) between donors and individuals; ** – significant differences ($p < 0.05$) between high and low levels

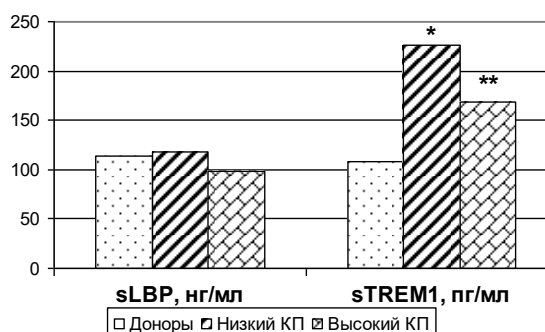


Рис. 3. Содержание sLBP и sTREM-1 в сыворотке крови лиц, вакцинированных Спутник V, с низким и высоким уровнем коэффициента позитивности: * – достоверные различия ($p < 0,05$) между донорами и пациентами; ** – достоверные различия ($p < 0,05$) между высокими и низкими титрами

Fig. 3. The content of sLBP and sTREM-1 in the blood serum of persons vaccinated with Sputnik V with low and high levels of coefficient of positivity: * – significant differences ($p < 0.05$) between donors and individuals; ** – significant differences ($p < 0.05$) between high and low levels

ных связей было выявлено наличие слабой обратной зависимости уровня sLBP с показателем КП, где коэффициент Спирмена составил $-0,465$ ($p < 0,05$).

Содержание в сыворотке крови sTREM1 достоверно повышено у вакцинированных лиц с низким показателем КП (225,7 (147,5–612,8) пг/мл, $p < 0,05$) и недостоверно в группе вакцинированных с высоким уровнем (167,9 (113,6–197,5) пг/мл, $p > 0,05$) в сравнении с контрольной группой (107,6 (80,3–202,6) пг/мл). Также была выявлена обратная средняя корреляционная связь между уровнем sTREM1 и КП (коэффициент Спирмена $-0,508$, $p < 0,05$) (рис. 4).

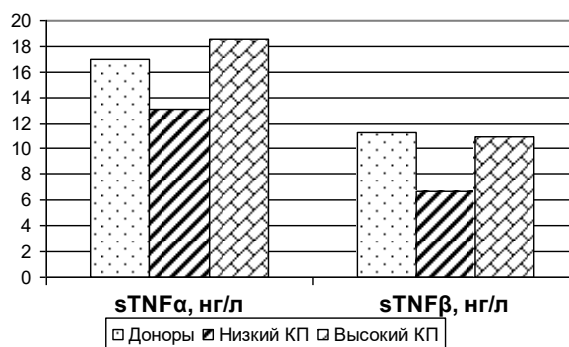


Рис. 4. Содержание sTNFα и sTNFβ в сыворотке крови лиц, вакцинированных Спутник V, с низким и высоким уровнем коэффициента позитивности

Fig. 4. The content of sTNFα and sTNFβ in the blood serum of persons vaccinated with Sputnik V with low and high levels of positivity of coefficient

Динамика содержания в сыворотке крови провоспалительных цитокинов – TNFα и TNFβ характеризуется схожестью: у лиц с более высоким уровнем КП она незначительно выше, а у лиц с более низким уровнем – ниже данных контрольной группы, но различия недостоверны ($p > 0,05$).

Гуморальный иммунный ответ является сложной, многокомпонентной реакцией В-системы иммунитета на взаимодействие со структурными и неструктурными компонентами вирусов, обладающих антигенностью. Молекулярно-клеточной основой процессов антителообразования при инфекциях являются механизмы естественного гуморального и клеточного иммунитета [1; 7]. Механизмы естественного иммунитета, основанные на распознавании молекулярных паттернов инфекционных агентов, ассоциированных с патогеном (PAMPs), и молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением (DAMPs), являются важными элементами в инициации этого сложного иммунобиологического процесса [8]. Белок, связывающий липополисахарид (LBP), является полипептидом с молекулярной массой 50 кДа, синтезируется и секретируется гепатоцитами. На ранних этапах инфекции он связывается с фрагментом А липополисахарида бактерий или с подобными структурами вирусов и индуцирует сигнальные пути комплекса, состоящего из толл-подобного рецептора-4 (TLR-4), миелоидного белка дифференцировки-2 (MD-2) и кластера дифференцировки 14 (CD14) [12]. Как свидетельствуют полученные нами данные, содержание растворимых белков LBP и CD14 в сыворотке крови перенесших инфекцию имеют незначительные колебания от нормы и достоверно не отличаются ($p > 0,05$), что может указывать на их слабую активацию структурами SARS-Cov-2. Wnt5a белок относится к семейству из 19 белков, участвующих во многих биологических жизненно важных процессах, включая дифференцировку иммунокомпетентных клеток, количественное содержание, функциональную активность, воспаление. Полученные данные указывают, что концентрация sWnt5a снижена у вакцинированных лиц с низким уровнем КП. TREM1 – поверхностный триггерный рецептор миелоидных клеток – нейтрофилов, моноцитов, макрофагов и эндотелиоцитов, функционально связан с TLRs сигнальными путями и участвует в регуляции воспалительного ответа. Из полученных данных о содержании sTREM1 в сыворотке крови перенесших инфекцию лиц и вакцинированных видно достоверное его повышение в группе лиц, перенесших инфекцию с высоким КП, и вакцинированных с низким уровнем КП ($p < 0,05$) и недостоверно повышен в других группах обследованных лиц. IL-6 является одним из главных цитокинов, индуцирующих усиление системной вос-

палительной реакции и определяющих механизмы цитокинового шторма. Обнаружено достоверное повышение концентрации IL-6 в сыворотке крови как у переболевших лиц с низким и высоким показателем КП, так и у вакцинированных с низким и высоким КП ($p < 0,05$). При этом концентрация IL-8 практически не отличалась от нормы у лиц, перенесших инфекцию, и у лиц привитых. IL-10 регулирует интенсивность ряда иммунологических процессов, поддерживает и контролирует гомеостаз естественного и приобретенного иммунитета. Результаты выполненного исследования указывают на небольшое повышение содержания IL-10 у лиц, перенесших инфекцию, и вакцинированных, однако в сравнении с контрольной группой данные не достоверны ($p > 0,05$). Содержание ПКТ характеризуется достоверно более высоким уровнем как у лиц, перенесших инфекцию ($p < 0,05$), так и у вакцинированных лиц ($p < 0,05$).

Выводы

1. В сыворотке крови перенесших COVID-19 пациентов и привитых вакциной Спутник V лиц содержание растворимых факторов воспаления и цитокинового шторма – sLBP, IL-8, IL-10, TNF α , TNF β и Wnt5a достоверно не отличалось от контрольных данных ($p > 0,05$).
2. Концентрация sTREM1 – триггерного рецептора миелоидных клеток – достоверно повышена у лиц, перенесших инфекцию с высоким КП, а также и у вакцинированных лиц с низким КП. У вакцинированных лиц выявлена средняя обратная корреляция для sTREM1 ($r = -0,508$).
3. Содержание маркеров воспаления и цитокинового шторма – IL-6 и ПКТ достоверно повышено в сыворотке крови как у лиц, перенесших инфекцию с высоким КП, так и у вакцинированных.
4. Количественное содержание растворимого рецептора для липополисахаридов – sCD14 – характеризовалось достоверным снижением в крови вакцинированных лиц в сравнении с донорами.
5. Маркеры воспаления и цитокинового шторма – IL-6 и прокальцитонин – могут быть рекомендованы в лабораторную практику для оценки тяжести активности инфекционного процесса и интенсивности иммунного ответа на вакцинацию. У вакцинированных лиц выявлена слабая обратная корреляция для IL-6 ($r = -0,437$).
6. Роль факторов цитокинового шторма в регуляции механизмов антителообразования при инфекционном процессе COVID-19 и иммунном ответе на вакцины нуждаются в дальнейшем изучении.

Список использованных источников

1. Титов, Л. П. Вирусология: терминологический словарь / Л. П. Титов. – Минск, 2009. – 448 с.
2. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019 / N. Zhu [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2020. – Vol. 382, N 8. – P. 727–733. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001017>
3. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China / C. Huang [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 395, N 10223. – P. 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
4. Identification of the hyper-variable genomic hotspot for the novel coronavirus SARS-CoV-2 / F. Wen [et al.] // J. Infect. – 2020. – Vol. 80, N 6. – P. 671–693. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.02.027>
5. Харченко, Е. П. Коронавирус SARS-Cov-2: особенности структурных белков, контагиозность и возможные иммунные коллизии / Е. П. Харченко // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 13–30. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30>
6. Sars-CoV-2 Envelope and Membrane Proteins: Structural Differences Linked to Virus Characteristics? / M. Bianchi [et al.] // Biomed. Res. Int. – 2020. – Vol. 2020. – Art. 4389089. <https://doi.org/10.1155/2020/4389089>
7. Титов, Л. П. Генетика и вирулентность вирусов / Л. П. Титов // Проблемы бактериологии и иммунологии: материалы науч. конф. – Минск, 2005. – С. 106–115.
8. Титов Л. П. Противовирусный иммунитет: молекулярно-клеточные механизмы, закономерности развития и иммунопатология / Л. П. Титов, И. А. Карпов // Медицинский журнал. – 2007. – № 1. – С. 4–14.
9. SARS-CoV-2 antibody testing-questions to be asked / M. K. Özçürümez [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2020. – Vol. 146, N 1. – P. 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.05.020>
10. Two linear epitopes on the SARS-CoV-2 spike protein that elicit neutralising antibodies in COVID-19 patients / C. M. Poh [et al.] // Nat. Commun. – 2020. – Vol. 11, N 1. – P. 2806. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16638-2>
11. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study / M. Pollán [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 396, N 10250. – P. 535–544. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31483-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31483-5)
12. High Serum Lipopolysaccharide-Binding Protein Level in Chronic Hepatitis C Viral Infection Is Reduced by Anti-Viral Treatments / H. C. Nien [et al.] // PLoS One. – 2017. – Vol. 12, N 1. – Art. e0170028. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170028>

References

1. Titov L. P. *Virology: Glossary*. Minsk, 2009. 448 p. (in Russian).
2. Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J., Zhao X., Huang B., Shi W., Lu R., Niu P., Zhan F., Ma X., Wang D., Xu W., Wu G., Gao G. F., Tan W. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 2020, vol. 382, no. 8, pp. 727–733. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001017>
3. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X., Cheng Z., Yu T., Xia J., Wei Y., Wu W., Xie X., Yin W., Li H., Liu M., Xiao Y., Gao H., Guo L., Xie J., Wang G., Jiang R., Gao Z., Jin Q., Wang J., Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10223, pp. 497–506. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30183-5)
4. Wen F., Yu H., Guo J., Li Y., Luo K., Huang S. Identification of the hyper-variable genomic hotspot for the novel coronavirus SARS-CoV-2. *Journal of Infection*, 2020, vol. 80, no. 6, pp. 671–693. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.02.027>
5. Kharchenko E. P. The Coronavirus SARS-Cov-2: the Characteristics of Structural Proteins, Contagiousness, and Possible Immune Collisions. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2020, vol. 19, no. 2, pp. 13–30 (in Russian). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30>
6. Bianchi M., Benvenuto D., Giovanetti M., Angeletti S., Ciccozzi M., Pascarella S. Sars-CoV-2 Envelope and Membrane Proteins: Structural Differences Linked to Virus Characteristics? *BioMed Research International*, 2020, vol. 2020, art. 4389089. <https://doi.org/10.1155/2020/4389089>
7. Titov L. P. Genetics and virulence of viruses. *Problemy bakteriologii i immunologii: materialy nauchnoi konferencii* [Problems of bacteriology and immunology: materials scientific conference]. Minsk, 2005, pp. 106–115 (in Russian).
8. Titov L. P., Karpov I. A. Antiviral immunity: molecular and cellular mechanisms, patterns of development and immunopathology. *Medicinskij zhurnal = Medical Journal*, 2007, no. 1, pp. 4–14 (in Russian).
9. Özçürümez M. K., Ambrosch A., Frey O., Haselmann V., Holdenrieder S., Kiehntopf M., Neumaier M., Walter M., Wenzel F., Wölfel R., Renz H. SARS-CoV-2 antibody testing – questions to be asked. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2020, vol. 146, no. 1, pp. 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.05.020>
10. Poh C. M., Carissimo G., Wang B., Amrun S. N., Lee C., Chee R., Fong S.-W., Yeo N., Lee W.-H., Torres-Ruesta A., Leo Y.-S., Chen M., Tan S.-Y., Chai L., Kalimuddin S., Kheng S., Thien S.-Y., Young B. E., Lye D. C., Hanson B. J., Wang C.-I., Renia L., Ng L. F. P. Two linear epitopes on the SARS-CoV-2 spike protein that elicit neutralising antibodies in COVID-19 patients. *Nature Communications*, 2020, vol. 11, no. 1, pp. 2806. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16638-2>
11. Pollán M., Pérez-Gómez B., Pastor-Barriuso R., Oteo J., Hernán M. A., Pérez-Olmeda M., Sanmartín J. L., Fernández-García A., Cruz I., de Larrea N. F., Molina M., Rodríguez-Cabrera F., Martín M., Merino-Amador P., Paniagua J. L., Muñoz-Montalvo J. F., Blanco F., Yotti R. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet*, 2020, vol. 396, no. 10250, pp. 535–544. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31483-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31483-5)
12. Nien H. C., Hsu S.-J., Su T.-H., Yang P.-J., Sheu J.-C., Wang J.-T., Chow L.-P., Chen C.-L., Kao J.-H., Yang W.-S. High Serum Lipopolysaccharide-Binding Protein Level in Chronic Hepatitis C Viral Infection is Reduced by Anti-Viral Treatments. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 1, art. e0170028. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170028>

Информация об авторах

Титов Леонид Петрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: leonidtitov@tut.by.

Амвросьева Тамара Васильевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: amvrosieva@gmail.com.

Трусевич Маргарита Олеговна – науч. сотрудник. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: m.trusevich@tut.by.

Бельская Инна Валерьевна – мл. науч. сотрудник. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: v.inna.belskaya@gmail.com.

Information about the authors

Titov Leonid P. – Corresponding Member, D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Laboratory. Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leonidtitov@tut.by.

Amvrosieva Tamara V. – D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Laboratory. Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: amvrosieva@gmail.com.

Trusevich Margarita O. – Researcher. Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: m.trusevich@tut.by.

Belskaya Inna V. – Junior Researcher. Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: v.inna.belskaya@gmail.com.