ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-
БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»

На правах рукописи

ЕФРЕМОВА ЮЛИЯ СЕРГЕЕВНА

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СИСТЕМЫ КРОВИ, ПЕРЕНЕСШИХ НОВУЮ КОРОНАВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ

3.1.28. Гематология и переливание крови

3.2.7. Иммунология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук, доцент
Романенко Николай Александрович
доктор медицинских наук
Глазанова Татьяна Валентиновна

Санкт-Петербург
2026

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 16
1.1 Аспекты эпидемиологии коронавирусной инфекции 16
1.2. Влияние коронавирусной инфекции на иммунную систему 18
1.3 Взаимосвязь течения новой коронавирусной инфекции, типа злокачественного новообразования и вида терапии 20
1.4 Вакцинопрофилактика коронавирусной инфекции у пациентов с гемобластозами 24
1.5 Постковидный синдром 26
1.6 Тирозинкиназа Брутона и её роль в созревании и функционировании В-лимфоцитов 32
1.7 Ингибиторы тирозинкиназы Брутона 33
1.8 Частота и типы инфекционных осложнений, связанных с терапией ингибиторами тирозинкиназы Брутона 37
1.9 Иммуномодулирующие эффекты ибрутиниба и акалабрутиниба 39
1.10 Использование ингибиторов тирозинкиназы Брутона у больных COVID-19 41
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 43
2.1 Характеристика обследованной группы 43
2.1.1 Пациенты с онкогематологическими заболеваниями 43
2.1.2 Группа пациентов с В-клеточными лимфопролиферативными заболеваниями, у которых выполнен анализ медицинских карт 45
2.1.3 Пациенты без онкогематологических заболеваний 46
2.1.4. Группа для иммуногенетического исследования 48
2.2 Иммунологические методы исследования 49
2.2.1 Проточная цитометрия 49

2.2.2 Определение субпопуляционного состава лимфоцитов 53
2.2.3 Определение концентрации цитокинов в сыворотке крови 59
2.2.4 Определение концентрации циркулирующих иммунных комплексов 61
2.2.5. Определение антител класса G к SARS-CoV-2 62
2.2.6 Иммуногенетическое исследование 63
2.2.7 Статистические методы 64
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ 65
3.1 Частота и особенности инфекционных осложнений у пациентов с В-клеточными лимфопролиферативными новообразованиями 65
3.2 Определение антител к SARS-CoV-2 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями 68
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ БЕЗ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ 73
4.1 Оценка показателей клеточного и гуморального иммунитета у лиц без гематологических заболеваний, перенесших инфекцию COVID-19 73
4.2 Особенности выработки антител к SARS-CoV-2 89
4.3 Анализ иммуногенетических показателей (HLA системы) у пациентов, перенесших COVID-19 95
ГЛАВА 5. СРАВНЕНИЕ АНТИТЕЛООБРАЗОВАНИЯ К SARS-CoV-2 У ПАЦИЕНТОВ С ГЕМОБЛАСТОЗАМИ И ЛИЦ БЕЗ ЗАБОЛЕВАНИЙ СИСТЕМЫ КРОВИ 101
5.1 Динамика уровня антител к SARS-CoV-2 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями и лиц без заболеваний системы крови 105
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 111

ВЫВОДЫ 125
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 127
ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ 129
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ 130
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 132

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

До пандемии COVID-19 одной из основных глобальных проблем здравоохранения всех стран являлись заболевания сердечно-сосудистой системы. Однако 2020 год изменил сложившиеся десятилетиями представления и на первое место вышла угроза инфекционного генеза – вирус SARS-CoV-2. Хотя COVID-19 на сегодняшний день и утратил статус пандемии, сохраняется значительный исследовательский интерес к этой теме, поскольку инфекция нанесла огромный ущерб мировой экономике и сфере здравоохранения, а также стала причиной смерти для миллионов людей по всему миру и, без преувеличения, коснулась каждого человека.

По официальным данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) к 2026 г. пандемия привела к более чем 764,9 миллионам подтвержденных случаев заболевания COVID-19 в 232 странах и регионах, при этом число летальных исходов превысило 7,1 млн, из которых 6,93 млн. пришлось на период до мая 2023 г. В Российской Федерации, согласно сведениям оперативного мониторинга, на июнь 2026 года зафиксировано 24 927 450 случаев инфицирования коронавирусом COVID-19, общее число смертей от новой коронавирусной инфекции составило 404 500 человека. В 2025–2026 гг. заболеваемость существенно снизилась. Так, в конце января 2025 г. фиксировалось 35 000 – 40 000 случаев в неделю, а с 5 по 12 апреля 2026 г. – всего 3181.

Уровень летальности новой коронавирусной инфекции в 2021 г. достигал 1,85% в популяции против 0,1% при сезонном гриппе в период до пандемии [65]. У больных гемобластозами летальность была выше, составляя 2,32% при лейкозах и 1,69% при неходжкинских лимфомах, что обусловлено глубоким дефектом иммунитета, ввиду поражения костного мозга и лимфатической системы при этих заболеваниях [55].

Новая коронавирусная инфекция приводит к более тяжелому течению инфекции у лиц с ослабленным иммунитетом, в особенности у больных гематологическими злокачественными новообразованиями, реципиентов солидных органов и пациентов с аутоиммунными заболеваниями [69]. Кроме того, у лиц, перенесших COVID-19, часто развивается так называемый «постковидный синдром» – состояние, при котором симптомы у пациента сохраняются более трех недель после выздоровления. Этот синдром является самостоятельным диагнозом, включенным в Международную классификацию болезней МКБ-10. Его частота составляет порядка 10-35%, в то время как среди госпитализированных пациентов она достигает порядка 85% [1]. Если клинические проявления постковидного синдрома являются предметом активного изучения в последние годы, то отдаленные последствия воздействия вируса SARS-CoV-2 на иммунную систему еще недостаточно хорошо изучены и, несомненно, представляют научный интерес.

Течение коронавирусной инфекции сопряжено со значительной вариабельностью иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2, что связано с индивидуальными особенностями организма (возраст, пол, сопутствующие заболевания). Однако существуют и общие тенденции: повышение числа активированных Т-лимфоцитов, короткоживущих высокодифференцированных CD8+ Т-лимфоцитов, провоспалительных Т-хелперов при изменении доли противовоспалительных Т-регуляторных клеток и нарушении их функции, увеличение содержания NK-клеток (CD16+CD56+), а также повышение уровня плазменных иммуноглобулинов класса А и количества циркулирующих иммунных комплексов [3; 54]. Однако на сегодняшний день остается нерешенным вопрос об особенностях индивидуальных реакций иммунитета в различных группах пациентов, перенесших COVID-19, в том числе у больных с гемобластозами.

За последние несколько лет произошли значительные изменения в лечении В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний, связанные с идентификацией тирозинкиназы Брутона (Bruton tyrosine kinase – BTK). BTK является важной молекулой, изменяющей сигнальную активность антигенных рецепторов В-клеток

и цитокиновых рецепторов, что приводит к антипролиферативному эффекту на злокачественно измененные В-лимфоциты. Помимо противоопухолевого действия ингибиторы BTK влияют и на другие клетки иммунной системы (Т-лимфоциты, NK-клетки, гранулоциты, моноциты, макрофаги, а также клетки микроокружения опухоли), поскольку BTK задействована в активации многих популяций иммунных клеток и ее блокирование, например, ибрутинибом оказывает комплексное иммуномодулирующее действие на клетки иммунной системы [18]. С учетом того, что ингибиторы BTK помимо противоопухолевого эффекта обладают иммуномодулирующими свойствами, эти препараты могут оказывать протективное действие на иммунную систему, снижая тяжесть течения заболевания.

Таким образом, изучение роли как отдельных звеньев иммунитета при инфекции COVID-19, так и особенностей индивидуальных реакций имеет большое значение для понимания иммунопатогенеза у онкогематологических больных, поэтому оценка иммунного статуса в постковидном и поствакцинальном периодах, расшифровка значимости отдельных звеньев клеточного и гуморального ответа, а также определение терапевтической эффективности ингибиторов BTK критически важны для понимания механизмов иммунной защиты и разработки новых подходов к формированию восстановительного лечения.

Степень разработанности темы исследования

С момента появления новой коронавирусной инфекции накоплен значительный материал, касающийся патогенеза, клинико-лабораторных проявлений, факторов риска тяжелого течения заболевания и особенностей постковидного периода [7; 16], однако остаются открытыми вопросы, касающиеся как роли отдельных звеньев иммунитета при инфекции COVID-19, так и особенностей индивидуальных реакций в различных группах пациентов, особенно у лиц с онкогематологическими заболеваниями, которые, как известно, являются

уязвимой группой, по причине не только иммуносупрессии, вызванной основным заболеванием, но и вследствие токсического эффекта противоопухолевой терапии.

Необходимость иммунизации против SARS-CoV-2 подтверждена отечественными и зарубежными исследованиями и обусловлена тем, что у большинства пациентов после завершенного курса иммунизации формируется адекватный гуморальный и клеточный иммунный ответ, а частота развития тяжелых форм снижается [14]. Кроме того, по некоторым данным, нейтрализующие антитела быстрее и в большем титре образуются у вакцинированных, чем у переболевших, не вакцинированных [109].

Известно, что у пациентов с гемобластозами наблюдается более слабый иммунный ответ, чем у пациентов с солидными опухолями и соматически здоровых лиц, однако литературных данных об оценке поствакцинального иммунитета у онкогематологических пациентов в динамике на данный момент нет [145].

Отдельным перспективным направлением в мировой практике стало изучение терапевтического и иммуномодулирующего потенциала ингибиторов ВТК. В работах зарубежных исследователей обосновывается применение данного класса препаратов не только в качестве противоопухолевой терапии, но и для купирования острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) при коронавирусной инфекции, поскольку ингибиторы ВТК блокируют избыточную продукцию провоспалительных цитокинов, что предотвращает развитие фатального повреждения легочной ткани и снижает общую тяжесть течения инфекционного процесса [131; 144]. В то же время ряд зарубежных авторов указывал на статистически значимый рост частоты инфекционных осложнений у пациентов с гемобластозами, получающих терапию ибрутинибом [31; 122]. Интересно, что проблема безопасности данного класса препаратов, обусловленная неселективной блокадой ряда киназ, сохраняет свою значимость и для современных ингибиторов ВТК последующих поколений [110]. Таким образом, данные в отношении действия ингибиторов ВТК при COVID-19 являются противоречивыми и требуют дальнейшей систематизации и анализа.

Несмотря на большой объем накопленных данных, до настоящего времени остаются недостаточно изученными особенности долгосрочного изменения иммунного статуса в постковидном и поствакцинальном периодах, в особенности у онкогематологических больных, а также закономерности формирования гуморального ответа при повторных случаях инфицирования SARS-CoV-2. Более того, существует очевидная необходимость в поиске и верификации иммунологических маркеров неблагоприятного течения заболевания для пациентов с гемобластозами. На основании вышеупомянутого и были определены цель и задачи настоящего исследования.

Цель исследования

Определить характер и выраженность иммунных нарушений, обусловленных новой коронавирусной инфекцией, и иммунологические маркеры неблагоприятного течения COVID-19 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями

Задачи исследования

Оценить характер и выраженность иммунных нарушений у онкогематологических пациентов и лиц без заболеваний системы крови, перенесших COVID-19.

2. Сравнить эффективность вакцинации против COVID-19 у онкогематологических пациентов и лиц без заболеваний системы крови.
3. Изучить влияние отдельных режимов терапии, включая ингибиторы BTK, на течение COVID-19 у пациентов с хроническими В-клеточными лимфопролиферативными новообразованиями.

Определить прогностически значимые иммунологические и иммуногенетические маркеры, ассоциированные с риском тяжелого течения COVID-19.

Научная новизна

Впервые на основании комплексного анализа характера, выраженности и динамики нарушений клеточного и гуморального иммунитета у лиц, перенесших COVID-19, в том числе у пациентов онкогематологического профиля, установлены особенности иммунного реагирования в отдельных подгруппах пациентов.

Впервые выявлены особенности антителообразования у лиц, перенесших COVID-19, в зависимости от сопутствующих заболеваний и вакцинации, а также кратности инфекционных эпизодов.

Получены новые данные о долгосрочной динамике формирования и сохранения поствакцинального иммунного ответа против COVID-19 у больных онкогематологического профиля и лиц без заболеваний системы крови.

Впервые определены специфические HLA-аллели, ассоциированные с индивидуальной генетической предрасположенностью к тяжелому течению новой коронавирусной инфекции.

Установлена и количественно охарактеризована взаимосвязь частоты инфекционных эпизодов COVID-19 и режима противоопухолевой терапии, в том числе ингибиторами тирозинкиназы Брутона, у пациентов с В-клеточными лимфопролиферативными новообразованиями.

Впервые определены новые прогностические критерии неблагоприятного течения новой коронавирусной инфекции на основании оценки выраженности системного воспаления и выявленного дисбаланса основных субпопуляций лимфоцитов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные данные дополняют существующие научные представления об иммунопатогенезе новой коронавирусной инфекции, раскрывают особенности сочетанных нарушений клеточного и гуморального звеньев иммунитета как у соматически здоровых лиц, так и у онкогематологических пациентов. На

основании комплексной оценки иммунологических показателей определены маркеры, позволяющие прогнозировать риск тяжелого и неблагоприятного течения COVID-19 на ранних этапах заболевания. Выявленная взаимосвязь между режимами противоопухолевой терапии и частотой инфекционных осложнений позволяет персонализировать тактику лечения и своевременно проводить профилактические мероприятия у пациентов с гемобластозами. Полученные данные о долгосрочной динамике угасания поствакцинального иммунитета у онкогематологических больных и лиц без заболеваний системы крови обосновывают необходимость разработки индивидуальных схем и сроков ревакцинации, в особенности для уязвимых категорий пациентов.

Методология и методы исследования

Методология основывалась на комплексном применении различных методов, включающих клинические, иммунологические и генетические исследования, и использовании ретроспективного анализа. В рамках иммунологического исследования применяли методы многоцветной проточной цитометрии, иммуноферментного анализа и жидкофазной турбидиметрии. Иммуногенетическое исследование выполняли методами полимеразной цепной реакции с использованием сиквенс-специфичных праймеров и полимеразной цепной реакции с использованием сиквенс-специфичных олигонуклеотидных проб. Для обработки полученных результатов использовали адекватные методы статистического анализа.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Вакцинация обеспечивает достижение протективного уровня антител существенно чаще, чем у невакцинированных реконвалесцентов, повторные случаи инфекции сопровождаются снижением уровня антител независимо от статуса вакцинации. У пациентов с гемобластозами наблюдается дефицит

антителообразования, а иммунная гипореактивность отмечается значительно чаще, чем у лиц без патологии системы крови.

2. Характер проводимой специфической терапии у больных В-клеточными ЛПЗ определяет сохранность гуморального иммунитета и риск инфицирования COVID-19. Применение даратумумаба значительно чаще ассоциированно со снижением уровня антител к SARS-CoV-2, чем при использовании других схем полихимиотерапии. Терапия ибрутинибом ассоциирована со снижением частоты развития COVID-19 по сравнению с пациентами, не получающими противоопухолевую терапию.

3. Наличие в генотипе группы аллелей *HLA-A*11* ассоциировано с высоким риском среднетяжелого/ тяжелого течения инфекции, в то время как снижение частоты группы аллелей *HLA-A*01* ассоциировано с легкой формой заболевания у жителей Санкт-Петербурга.

4. У лиц без гематологических заболеваний иммунологические нарушения в постковидном периоде характеризуются дисбалансом основных субпопуляций лимфоцитов. Маркерами тяжелого течения COVID-19 является значимое повышение следующих показателей: относительного содержания активированных Т-клеток (CD3+HLA-DR+) и Т-регуляторных клеток (CD4+CD25+), уровня низкомолекулярных ЦИК относительно референсных значений.

Степень достоверности и апробация результатов диссертационной работы

Достоверность результатов проведенного исследования определяется достаточным объемом выборки пациентов, перенесших COVID-19 (336 лиц без заболеваний системы крови, 177 пациентов с гемобластозами), применением достоверных диагностических методов, качеством выполненных исследований, использованием методик статистического анализа. Этапы исследования подробно изложены в работе, все данные, использованные для анализа, приведены в главе «Результаты». Указанные аспекты делают работу воспроизводимой и проверяемой.

Полученные результаты были представлены в виде стендовых и устных докладов, тезисов на конференциях, конгрессах, съездах: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2021» (онлайн, 2021), Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022» (онлайн, 2022); XXV Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей (Санкт-Петербург, 2022); IX Российский конгресс по лабораторной медицине (Москва, 2023); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» (Санкт-Петербург 2024); X Российский конгресс по лабораторной медицине (Москва, 2024), Всероссийский терапевтический конгресс с международным участием «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, 2025); 19-й Общероссийский семинар Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии (онлайн, 2025); IV Научно-практическая конференция молодых ученых «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии» (Санкт-Петербург, 2025); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» (Санкт-Петербург, 2026).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе 6 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации результатов диссертационных исследований.

Личный вклад автора

Автору принадлежит основная роль в выборе направления исследования, постановке цели и задач, а также методов их решения. Лично автором проведен анализ данных отечественной и зарубежной научной литературы. Соискатель

непосредственно участвовал в выполнении всех этапов диссертационного исследования, включая выбор групп пациентов, определение объема лабораторного обследования, получение, анализ и интерпретацию результатов, планирование и проведение экспериментов, обобщение полученных результатов. Статистическая обработка данных для научных публикаций и представления их с целью докладов на конгрессах, конференциях и семинарах выполнены лично соискателем. Лабораторные исследования выполнены автором лично и при участии сотрудников отдела НИЛ иммунологии ФГБУ «РосНИИГТ» ФМБА России.

Внедрение результатов в практику

Разработанные иммунологические прогностические критерии тяжелого течения COVID-19 внедрены в клиническую практику и используются в работе ФГБУ «РосНИИГТ» ФМБА России.

Теоретические положения работы, данные об особенностях иммунопатогенеза COVID-19 у пациентов с иммуносупрессией, новые иммунные прогностические маркеры тяжелого течения коронавирусной инфекции, а также особенности поствакцинального ответа внедрены в учебный процесс и используются при чтении лекций и проведении практических занятий для ординаторов-гематологов ФГБУ «РосНИИГТ» ФМБА России.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови и 3.2.7. Иммунология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови п. 1, п. 6, п. 15, и специальности 3.2.7. Иммунология, п. 2, п. 3, п. 5, п. 9.

Объем и структура диссертации

Текст диссертации изложен на 150 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, трех глав с результатами собственных исследований, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы. Работа содержит 33 таблицы и 21 рисунок. Список литературы включает в себя 164 источника, из них 20 отечественных и 144 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиология коронавирусной инфекции

Коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2) является РНК-вирусом зоонозного происхождения, вызывающим тяжелый респираторный синдром, который зачастую приводит к летальному исходу. Вирус SARS-CoV-2, впервые выявленный во время вспышки пневмонии в городе Ухань (Китай) в декабре 2019 г., стал причиной эпидемии COVID-19, которая быстро распространилась по всему миру. ВОЗ 30 января 2020 г. объявила эту вспышку чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение, а 11 марта – пандемией. Инфекция нанесла огромный ущерб мировой экономике и сфере здравоохранения, стала причиной смерти для миллионов людей по всему миру и, без преувеличения, коснулась каждого человека. На 22 декабря 2024 г. в России зафиксировано 23 014 969 случаев инфицирования коронавирусом COVID-19, общее число смертей от новой коронавирусной инфекции составило 400 023 человека. В активной фазе болезни находилось 156 638 человек (на декабрь 2024 г.) [13]. По данным ВОЗ к 2026 г. пандемия привела к более чем 764,9 млн подтвержденных случаев заболевания COVID-19 в 232 странах и регионах, с более чем 7, 1 млн смертельных исходов. Эксперты ВОЗ считают, что реальные цифры приблизительно втрое выше, и истинное количество летальных исходов приближается 20 млн. В марте-апреле 2020 г. общемировой коэффициент летальности составлял 5,9%, снижаясь по мере накопления данных. Уровень летальности COVID-19 значительно снизился с начала пандемии благодаря вакцинации и лечению и на 2025 г. составлял порядка 0,3% в популяции, в то время как уровень летальности при сезонном гриппе обычно не превышает 0,1%, что отражает более высокую вирулентность SARS-CoV-2. В то же время у больных гемобластозами летальность была еще выше, составляя 1,69% при неходжкинских лимфомах и 2,32% при лейкозах, что обусловлено глубоким дефектом иммунитета, ввиду поражения

костного мозга и лимфатической системы при этих заболеваниях [3]. Всё это делает пандемию COVID-19 одной из самых смертоносных в истории: смертность от новой коронавирусной инфекции значительно превышает таковую при пандемиях гриппа H2N2 (1889, 1956), 5-й и 6-й пандемий холеры (1881,1910), пандемии гриппа H3N2 (1968), H1N1 (2009). В XX-XXI веке смертность от коронавирусной инфекции превысила только пандемия испанки в 1918 году, унесшая около 50 000 000 жизней, и пандемия ВИЧ-инфекции, начавшаяся в 1981 году и унесшая суммарно около 33 000 000 жизней [124]. Хотя COVID-19 больше не считается чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение, по-прежнему сохраняется значительный исследовательский интерес к этой теме, как к продолжающемуся событию в области здравоохранения.

Клинические проявления COVID-19, в том числе острый респираторный дистресс-синдром, часто проявляются в виде гриппоподобных симптомов, включая лихорадку, кашель, одышку и мышечные боли [47]. Важно подчеркнуть, что ОРДС возникает в результате «цитокинового шторма» – патологической гипервоспалительной реакции с обильным и бесконтрольным выбросом цитокинов, который нередко приводит к летальному исходу.

Течение заболевания у лиц, инфицированных SARS-CoV-2, фенотипически разнообразно. У многих людей наблюдаются лишь легкие симптомы, у части населения клинические проявления отсутствуют, но они являются носителями вируса. Однако у некоторых людей проявляются тяжелые симптомы заболевания с развитием ОРДС, синдрома высвобождения цитокинов и полиорганной недостаточности. Еще в начале 2020 г. были выявлены подгруппы пациентов с COVID-19, которые подвержены повышенному риску заболеваемости и смертности, включая лиц мужского пола, пожилого возраста и пациентов с сопутствующими заболеваниями, такими как артериальная гипертензия, хронические заболевания легких, диабет и злокачественные новообразования [127].

1.2. Влияние коронавирусной инфекции на иммунную систему

Как правило, инфекция SARS-CoV-2 оказывает выраженное негативное влияние на врожденный иммунитет, вызывая дисбаланс клеточных популяций в виде нейтрофилеза на фоне истощения пула натуральных киллеров [56]. Напротив, результаты, связанные с адаптивным иммунитетом в крови, были более непоследовательными в разных исследованиях. Некоторые группы исследователей сообщили об уменьшении содержания как CD4+, так и CD8+ Т-лимфоцитов, сопровождающемся повышенной секрецией IL-6 и IL-8, в то время как другие отметили увеличение содержания определенных подгрупп Т-клеток [75]. Например, в работе X. Ren и соавт. продемонстрировано повышение CD4+ и CD8+ Т -клеток и снижение γδ-Т-лимфоцитов в образцах крови больных с тяжелым течением COVID-19 [126].

В настоящее время очевидно, что вариативность клинических проявлений связана с индивидуальной иммунной реакцией организма. Ключевыми медиаторами иммунной регуляции являются цитокины – класс сигнальных белков, которые регулируют иммунные и воспалительные реакции. В литературе описаны случаи заболевания с повышенным уровнем провоспалительных цитокинов (IL-6) и хемокинов (IL-8, CXCL10 и CCL5) у пациентов с тяжёлой формой COVID-19 по сравнению с теми, у кого заболевание протекало в лёгкой или умеренной форме. Похожие различия содержания провоспалительных цитокинов и хемокинов наблюдались у пациентов в остром периоде коронавирусной инфекции по сравнению с выздоровевшими лицами [86].

Одной из мишеней, на которую направлено действие цитокинов во время развития иммунного ответа, являются Т-лимфоциты – основные эффекторные клетки при вирусных инфекциях. Среди них выделяют: Т-лимфоциты-хелперы, цитотоксические лимфоциты и регуляторные Т-клетки, подразделяющиеся, в свою очередь, на Т-клетки памяти и «наивные», ранее не встречавшиеся с антигеном. За счет Т-лимфоцитов осуществляется противовирусный иммунный ответ, направленный, в первую очередь, на инфицированные вирусом клетки. Помимо Т-

лимфоцитов, адаптивный иммунный ответ на вирусные инфекции представлен В-клеточным звеном, в частности, плазматическими клетками, продуцирующими антитела. Взаимодействие клеток иммунной системы осуществляется посредством цитокинов. В последней версии клинических рекомендаций Министерства здравоохранения РФ выделяют в качестве прогностических маркеров тяжести течения новой коронавирусной инфекции такие провоспалительные цитокины, как IL-6, IL-10 и TNF-α [15]. Однако спектр цитокинов, концентрации которых изменяются при COVID-19, гораздо шире. Специфические реакции Т- и В-клеток запускаются после заражения SARS-CoV-2. У пациентов с COVID-19 обычно наблюдается лимфопения, включая снижение количества CD4+ и CD8+ Т-клеток, особенно Т-хелперов. Реакции Т-лимфоцитов играют решающую роль в раннем выведении вируса после заражения новой коронавирусной инфекцией, а участие CD4+ и CD8+ Т-клеток снижает тяжесть заболевания, поскольку Т-хелперные лимфоциты важны для ограничения инфекционного процесса при COVID-19. Известно также, что появление у Т-хелперов антигенной специфичности является благоприятным признаком для течения заболевания. Кроме того, субпопуляционный состав В-лимфоцитов истощается по мере нарастания тяжести течения заболевания, в особенности речь идет о «малых» субпопуляциях, что может быть использовано для выявления пациентов, отнесённых в группу риска тяжелого течения заболевания [32; 145].

Благодаря исследованиям ряда авторов стало известно, что защитный В-клеточный ответ, осуществляющийся через синтез антител (АТ), ослабевает быстрее, чем Т-клеточный иммунитет, и обеспечивает меньшую перекрестную защиту от различных вариантов вируса. Таким образом, можно заключить, что Т-лимфоциты являются основными эффекторными клетками, обеспечивающими защиту от развития тяжелого течения заболевания и риска летального исхода [98; 150; 159; 163].

1.3 Взаимосвязь течения новой коронавирусной инфекции, типа злокачественного новообразования и вида терапии

С тех пор как в начале 2020 г. COVID-19 начал распространяться по всему миру, онкологические пациенты были отнесены в группу риска по тяжелому течению и высокой частоте летальных исходов. Сообщалось, что больные со злокачественными новообразованиями подвержены повышенному риску заражения SARS-CoV-2 и более тяжелому течению заболевания. Поскольку онкологические заболевания охватывают множество нозологий с разными прогнозами и исходами и поражают гетерогенную группу населения, определение всех пациентов со злокачественными новообразованиями как восприимчивых к COVID-19, вероятно, не является в полной мере информативным. Очевидно, что лица с онкологическими заболеваниями, имеющие различные виды опухолей, различаются по восприимчивости к SARS-CoV-2. При этом восприимчивость к SARS-CoV-2 заметно выше у больных с онкогематологическими заболеваниями и их чаще госпитализируют в стационар [84].

Известно, что у пациентов с онкологическими заболеваниями риск тяжелого течения и смертности при COVID-19 выше, чем у больных без онкологических заболеваний. Причина этого обусловлена, во-первых, пожилым возрастом пациентов со злокачественными новообразованиями. Во-вторых, наличие сопутствующих заболеваний является еще одним хорошо известным фактором риска, а сам опухолевый процесс представляет собой тяжелую сопутствующую патологию, усугубляющую течение инфекции COVID-19 как из-за самого заболевания, так и вследствие токсического воздействия химиотерапии [51].

Кроме того, у пациентов с гематологическими опухолями выше уровень иммуносупрессии, и они подвержены более тяжелым респираторным вирусным инфекциям, чем больные с солидными новообразованиями. В РФ онкогематологические заболевания составляют 4,5-6% от всех впервые выявленных злокачественных новообразований. Использование новых методов лечения, в частности таргетных препаратов, улучшило общую выживаемость и

качество жизни больных, однако эти протоколы терапии приводят к угнетению гуморального и клеточного иммунитета, увеличивая риск инфекций, вызванных вирусными агентами [63]. В ходе проведения исследования Z. Wu и J. M. McGoogan установлено, что у онкогематологических пациентов с COVID-19 показатели тяжелого течения заболевания и смертности в три-четыре раза выше по сравнению со случаями COVID-19 в общей популяции [157]. Кроме того, клинические проявления COVID-19 были тяжелее, а показатели смертности выше среди пожилых пациентов и лиц с большим количеством сопутствующих заболеваний и зависели от нозологической формы онкогематологического заболевания и активной противоопухолевой терапии.

Первые исследования, проведенные еще в 2020 г., показали, что смертность от COVID-19 зависела от вида заболевания системы крови. В исследовании J. Garcia-Suarez и соавт. высокая смертность выявлена у пациентов с миелодиспластическим синдромом (МДС) и острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) (42% и 44% соответственно) и относительно ниже – у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями и хроническим миелолейкозом (19 и 13%) [66]. Пациенты с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), хроническими лимфопролиферативными заболеваниями также являются уязвимыми вследствие иммунодефицита, обусловленного как самим заболеванием, так и его лечением [117]. Так, отмечаются высокие показатели смертности среди больных множественной миеломой (ММ), поскольку гуморальный иммунитет пациентов с данной нозологической формой резко снижен, а на фоне противоопухолевой терапии ещё более угнетён [146].

У больных гемобластозами с COVID-19 выявляется гораздо меньшая иммунная активация, у них отмечается высокий уровень истощения CD8+ Т-клеток, тяжелая цитопения – особенно, снижение относительного содержания В-лимфоцитов и непоследовательная выработка антител по сравнению с пациентами с солидными опухолями, чем и объясняются различия в тяжести течения и смертности среди онкологических и онкогематологических больных. В группе пациентов с солидными злокачественными новообразованиями высокий уровень

летальности при COVID-19 регистрируется только у лиц с раком легкого. Данная закономерность обусловлена тем, что опухолевый процесс часто развивается на фоне хронического повреждения легочной ткани и исходно сниженного д

M. Morishita и соавт. установили, что тип противоопухолевого лечения также существенно влияет на показатели смертности при COVID-19. По результатам их исследования пациенты, получавшие терапию на основе моноклональных антител (мкАТ) против CD20, имели более тяжелое течение заболевания, поскольку истощение популяции В-клеток при применении ритуксимаба препятствует адекватному иммунному ответу на SARS-CoV-2, а те больные, которые получали высокодозную химиотерапию, умирали от COVID-19 в 1,5 раза чаще по сравнению с теми, кто такую терапию не получал (ОР 1,50, 0,99–2,29, p = 0,0561) [12]. Использование кортикостероидов также увеличивало частоту летальных исходов, поскольку помимо противовоспалительного действия, эти препараты препятствуют выработке антител [99]. Более того, в исследовании J. D. Goldman и соавт. было установлено, что терапия CAR-T-клетками также существенно увеличивала показатели смертности. В то же время применение ингибиторов иммунных контрольных точек не было связано с более высокой смертностью у пациентов с COVID-19 [68]. Важно подчеркнуть, что изучение частоты летальных исходов среди пациентов с лёгкой/средней степенью тяжести COVID-19 показало, что смертность среди тех, кто получал тоцилизумаб (рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к человеческому рецептору IL-6 из подкласса иммуноглобулинов IgG1), была почти в 6 раз выше по сравнению с теми, кто не получал этот препарат [26; 66]. Однако иные данные получили I. O. Rosas с соавт., показав отсутствие какого-либо влияния тоцилизумаба на состояние и смертность пациентов с тяжелым течением коронавирусной инфекции в течение 28 дней [76]. Согласно результатам исследования D. Jin и соавт., пациенты с ММ,

]

получающие терапию даратамумабом, имеют значительно больший риск развития тяжелого течения коронавирусной инфекции (ОШ = 3,31, p = 0,002) [77].

Напротив, лечение онкогематологических пациентов с COVID-19 противовирусными препаратами ремдесивиром или нирматрелвиром и ритонавиром позволило снизить частоту летальных исходов с 29–34% (в начале пандемии) до 1,3–9,0% в 2022 г., что было отчетливо показано в исследовании EPICOVIDEHA [112].

Таким образом, терапия онкогематологических заболеваний оказывает значительное влияние на прогноз при COVID-19, где ключевым фактором риска является степень подавления иммунного ответа. Наибольшее негативное влияние оказывают методы лечения, вызывающие глубокую иммуносупрессию и истощение В-клеток (препараты против CD20, CD38, CAR-T-клеточная терапия, высокодозная химиотерапия и длительный прием кортикостероидов), в то время как ингибиторы иммунных контрольных точек не оказывали негативного влияния на прогноз заболевания, что позволяет рассматривать их как относительно безопасные в период пандемии. Противоречивость данных по тоцилизумабу указывает на необходимость продолжения исследований в данном направлении. Противовирусная терапия (ремдесивир, нирматрелвир и ритонавир) стала главным инструментом снижения летальности в группе пациентов с гемобластозами, сократив риск смерти в среднем в 6,1 раз [120]. Исходя из этого, для снижения смертности необходим индивидуальный подход к выбору противоопухолевой схемы и приоритетное использование специфических противовирусных средств у пациентов с иммунодефицитом.

В настоящее время опубликовано три исследования с участием пациентов онкогематологического профиля, перенесших COVID-19, в том числе два, проведенных в периоды альфа- и дельта-доминирования вируса SARS-CoV-2, а третье – проведённое в период доминирования варианта Омикрон [30; 106; 113]. Эти исследования продемонстрировали высокие показатели госпитализации (37–53%) и смертности (5,7–9,2%) от коронавирусной инфекции среди пациентов с гемобластозами. Четвёртое исследование HEMATO-MADRID COVID-19,

проведённое в период преобладания варианта Омикрон, показало, что исходы течения COVID-19 среди пациентов с онкогематологическими заболеваниями значительно улучшились во время пандемии, хотя смертность пациентов гемобластозами, госпитализированных с новой коронавирусной инфекцией, осталась высокой, составляя 22,0%. Среди факторов, связанных со снижением смертности, отмечены менее тяжелое течение заболевания коронавирусной инфекции варианта Омикрон, применение интенсивных программ вакцинации против COVID-19 и внедрение эффективных методов лечения заболевания, таких как нирматрелвир и ритонавир, ремдесивир [49]. В периоды доминирования вариантов альфа- и бета- негативное влияние на выживаемость при COVID-19 у всех пациентов с гемобластозами оказали возраст ≥70 лет, наличие сопутствующей патологии и проведение высокодозной химиотерапии [89]. Напротив, в течение периода эпидемии коронавирусной инфекции варианта Омикрон единственным фактором, независимо связанным со смертностью, был возраст ≥70 лет.

1.4 Вакцинопрофилактика коронавирусной инфекции у пациентов с гемобластозами

Глобальная пандемия COVID-19, широкомасштабное введение нескольких вакцин против SARS-CoV-2, разработанных за короткое время, и продолжающаяся эволюция вируса оказывают краткосрочное и долгосрочное воздействие на иммунную систему человека. Эмпирические данные свидетельствуют о снижении показателей смертности от COVID-19, что отражает как достижения в выявлении, профилактике и лечении коронавирусной инфекции, так и появление менее вирулентных вариантов SARS-CoV-2 и введение вакцин против COVID-19 на основе матричной РНК (BNT162b2 и мРНК-1273). Результаты исследования CANVAX показали, что иммунный ответ на вакцины против SARS-CoV-2 нарушен у онкологических пациентов, что предполагает целесообразность определения уровня антител в крови для выявления пациентов, у которых повторные вакцинации позволят обеспечить эффективную защиту от инфекции

[102]. Однако несмотря на то, что вакцинация от COVID-19 значительно снижает вероятность инфицирования и связанную с ним смертность у онкологических пациентов, все же эффективность ее у пациентов с гемобластозами ограничена.

Эпидемиологические данные за период до вакцинации показали, что уровень смертности от COVID-19 среди пациентов с онкогематологическими заболеваниями был в диапазоне 13–37% в целом, а для госпитализированных пациентов составил 19–46%, при этом особенно высокие показатели зарегистрированы у пожилых пациентов с диагнозами ОМЛ или МДС, а также у больных, получавших высокодозную химиотерапию или лечение мкАТ против CD20 [90].

Пациенты с гематологическими злокачественными новообразованиями имеют повышенный риск развития тяжелых инфекций как из-за иммунодефицита, вызванного основным заболеванием, так и в силу использования иммуносупрессивной терапии. Кроме того, уровень смертности у онкогематологических больных выше, чем у пациентов с солидными опухолями (в 1,6 раза) [72]. По данным текущего регистра Европейской гематологической ассоциации EPICOVIDEHA показан более высокий уровень смертности у пациентов с онкогематологическими заболеваниями и COVID-19 во время первой волны (40,7%) по сравнению со второй (24,8%) [114]. Это согласуется с результатами исследования T. Chatzikonstantinou и соавт., в котором показано снижение уровня смертности пациентов с В-ХЛЛ, перенесших COVID-19, с 35% до 11% в более ранней когорте по сравнению с более поздней [46].

Более того, согласно данным реестра EPICOVIDEHA за 2024-2025 гг., установлено, что благодаря вакцинации у пациентов с гемобластозами снизилась смертность от коронавирусной инфекции до 4–9%. Антитела, синтезированные благодаря вакцинам, по-видимому, имеют решающее значение для защиты как от инфекции после вакцинации, так и от тяжелого течения заболевания, даже при варианте Omicron SARS-CoV-2. Согласно данным A. Das Barshan и соавт., у онкогематологических пациентов наблюдается сниженный ответ на вакцинацию против коронавирусной инфекции, а степень угнетения иммунного ответа

варьирует в зависимости от возраста пациента, нозологической формы, сроков и вида терапии [52]. При этом пациенты с лимфопролиферативными заболеваниями были определены как особенно подверженные риску неадекватного ответа на вакцины против SARS-CoV-2. Предшествующее лечение мкАТ против CD20 определено как независимый фактор, достоверно связанный с повышенной смертностью от COVID-19 и более длительным выделением вируса [148]. Данная ассоциация обусловлена подавлением гуморального ответа на вакцинацию против SARS-CoV-2 на фоне В-клеточной деплеции [119]. В исследовании C. Cattaneo и соавт. был зарегистрирован высокий уровень летальности среди гематологических пациентов, получавших ритуксимаб, в особенности у тех больных, кто был инфицирован вариантом SARS-CoV-2 Омикрон [43]. В настоящий момент известно, что истощение В-клеток ухудшает выработку антител к SARS-CoV-2, что, вероятно, и является основной причиной слабого ответа на вирус, приводящего к тяжелым симптомам COVID-19 у пациентов с ослабленным иммунитетом, получающих анти-CD20 терапию.

Кроме того, у онкогематологических пациентов продолжительность симптомов SARS-CoV-2 более длительная, а также они дольше выделяют жизнеспособные вирусные частицы (до 4 недель после положительного результата теста, в отличие от 10–12 дней у соматически здоровых лиц) [24]. В исследовании L. F. Westblade и соавт. была отмечена более высокая вирусная нагрузка SARS-CoV-2 у онкогематологических больных, получающих химиотерапию, что коррелирует с высокой внутрибольничной смертностью [155].

1.5 Постковидный синдром

Очевидно, что новая коронавирусная инфекция приводит к более тяжелому течению инфекций у пациентов с ослабленным иммунитетом, в особенности у пациентов с гематологическими злокачественными новообразованиями, реципиентов солидных органов и пациентов с аутоиммунными заболеваниями.

Более того, у лиц, перенесших COVID-19, часто развивается так называемый

«постковидный синдром» — состояние, при котором симптомы у пациента сохраняются более трех недель после выздоровления. Термин «длительный COVID» или «Long-COVID» начал широко использоваться с 2020 г. для описания различных симптомов, сохраняющихся, либо проявляющихся через несколько недель или месяцев после заражения SARS-CoV-2, независимо от вирусного статуса [23]. В настоящее время это состояние принято рассматривать в качестве самостоятельного диагноза, который включён в Международную классификацию болезней МКБ-10 с шифром U09.9 — состояние после COVID-19. Частота постковидного синдрома варьирует в пределах 10–35%, в то время как для госпитализированных пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением она может достигать 85% [1]. Симптомы этого состояния включают когнитивные нарушения, астению, слабость, дыхательные нарушения и другие неспецифические жалобы. Точный механизм развития данного синдрома неизвестен, однако можно предположить, что основой является реактивность организма и его иммунный статус. Продолжаться такое состояние может 6–12 месяцев, а у части наблюдаемых и больше года. Так, встречаются сведения, что более 70% людей, госпитализированных с коронавирусной инфекцией, полностью не восстановились даже через 12 месяцев после выздоровления, при этом отмечалась возможность длительного персистирования вируса в некоторых клетках [111]. Следует отметить, что отдаленные последствия воздействия вируса SARS-CoV-2 на иммунную систему еще недостаточно хорошо изучены и, несомненно, представляют научный интерес. При этом длительно поддерживаемая повышенная активность иммунной системы может способствовать развитию аутоиммунных реакций и осложнений.

Внедрение в организм вируса и его распространение вызывает включение двух механизмов иммунитета: врождённого и адаптивного. Врожденный иммунитет дает стимул для дальнейшего развития реакций гуморального и клеточного приобретенного иммунитета, включая представление чужеродных антигенов, привлечение иммунокомпетентных клеток в очаг инфекции, активацию их пролиферации и дифференцировки за счет действия хемокинов и цитокинов.

Адаптивный иммунитет включает в себя активацию лимфоцитарного звена, в частности, Т- и В- клеток, а также формирование антигенспецифической иммунологической памяти, без которой невозможно формирование вторичного иммунного ответа при повторном попадании инфекционного агента в организм.

Предполагается, что «длительный COVID» может быть более частым у онкологических больных из-за различных механизмов, включая их нарушенный иммунный ответ и иммуносупрессию, вызванную противоопухолевой терапией. Ретроспективное исследование Европейского регистра OnCovid онкологических больных (включающего пациентов с солидными и гематологическими опухолями) с коронавирусной инфекцией показало, что при наблюдении в течение 4-х месяцев после COVID-19 только у 15% из 1557 человек, выживших после коронавирусной инфекции, наблюдались осложнения в виде постковидного синдрома [121]. В то же время в другом исследовании ITA-HEMA-COV из 278 пациентов, у которых оценивались симптомы через 4 и 6 месяцев, у 22,7% сохранялась постковидная симптоматика через 4 месяца, а у 17,6% – через 6 месяцев. В результате этого наблюдения суммарно 27,3% больных классифицировали как имеющих «длительный COVID». Среди этих пациентов респираторные симптомы были отмечены у 57,9%, а астения – у 38,2% [85]. Независимыми прогностическими факторами развития постковидного синдрома оказались сопутствующее респираторное заболевание, госпитализация, тяжелое течение COVID-19, предшествующее лечение гидроксихлорохином, лопинавиром и дарунавиром, ремдесивиром и тоцилизумабом. Пациенты, получавшие кортикостероиды, кислородную поддержку или находящиеся на искусственной вентиляции легких, также были более склонны к развитию постковидного расстройства [40]. Интересно, что в наблюдательном исследовании European LeukemiaNet, сфокусированном на пациентах с миелопролиферативными новообразованиями, частота развития постковидного синдрома через 6 месяцев оказалась вдвое выше, чем у пациентов в исследовании OnCovid, составляя 30–33% [27]. Такой высокий показатель, вероятно, связан как со специфической иммунной дисрегуляцией, так и с более пожилым возрастом когорты больных (медиана около 70 лет), а также

стойким сохранением маркеров воспаления у более чем половины пациентов даже через полгода после выздоровления. Это обусловлено тем, что пациенты с миелопролиферативными заболеваниями более уязвимы к хронизации последствий инфекции по сравнению с общей группой онкологических больных, что показано в исследовании OnCovid. Частота развития постковидного синдрома в исследовании ITA-HEMA-COV через полгода после перенесенной коронавирусной инфекции выше (27,3%), чем в исследовании OnCovid после 4-месячного периода наблюдения (15%), но аналогична результатам для пациентов с хроническими миелопролиферативными новообразованиями в наблюдательном исследовании European LeukemiaNet (30%) [27; 90].

В исследованиях ITA-HEMA-COV, OnCovid и European LeukemiaNet респираторная коморбидность играет важную роль по нескольким причинам: во-первых, наличие хронических заболеваний легких увеличивает риск тяжелого течения COVID-19 у гематологических больных в 2–3 раза. Во-вторых, одышка и кашель могут быть как проявлением постковидного синдрома (у 57,9% пациентов), так и обострением хронического заболевания дыхательной системы, что затрудняет диагностику [161]. В-третьих, сочетанное влияние химиотерапии и вирусного повреждения легких приводит к кумулятивному эффекту и стойкому снижению диффузионной способности легких. Как следствие, выявлено, что онкологические пациенты, перенесшие «длительный COVID», в 2 раза чаще имели сопутствующие хронические заболевания дыхательной системы, чаще госпитализировались, получали противовирусные и противовоспалительные препараты для лечения тяжелого COVID-19, чем те, у кого постковидный синдром не наблюдался.

Важно подчеркнуть, что в течение 6 и более месяцев после перенесенного заболевания могут наблюдаться проявления постковидного расстройства с сохранением дисбаланса в иммунологических показателях [101]. Так, у больных, перенесших коронавирусную инфекцию легкой и среднетяжелой степени, отмечаются значительные изменения состава циркулирующих иммунных клеток, которые сохраняются длительное время (на протяжении 3-9 месяцев после острой

фазы болезни) и сходны с таковыми при аутоиммунных заболеваниях [118]. Причиной этого является, во-первых, увеличение доли провоспалительных Т-хелперов 17 (Th17), циркулирующих в крови в течение длительного времени после заболевания, и снижение противовоспалительных Т-регуляторных клеток (Treg), сопровождающееся изменением баланса Th17/Treg, что является характерным признаком широкого спектра аутоиммунных заболеваний [80]. Во-вторых, наблюдался дисбаланс между субпопуляциями Т-фолликулярных хелперных клеток и регуляторных клеток, что также отмечается при аутоиммунных проявлениях, связанных с образованием аутоантител [82]. В-третьих, в периферической крови больных COVID-19 обнаружено повышенное количество высокодифференцированных CD8+ Т-лимфоцитов (эффекторы, утратившие маркер CD27 или CD28), иными словами, пул «наивных» клеток истощается, а система перегружена узкоспециализированными клетками-агрессорами, которые сохраняются длительное время, что свидетельствует о продолжающихся процессах дифференцировки и циркуляции этих клеток с выходом из лимфоидной ткани [81]. Важно подчеркнуть, что увеличение числа цитотоксических Т-лимфоцитов в периферической крови указывает на постоянную миграцию из лимфоузлов и селезенки, что характерно для системного воспаления, а не для локального иммунного ответа. Высокоспециализированные CD8+ Т-лимфоциты, по-видимому, не связаны ни с элиминацией SARS-CoV-2, ни его антигенов, но могут быть еще одним признаком развития аутоиммунной реакции, что подтверждают исследования L. Townsend и C. Phetsouphanh. В работе L. Townsend и соавт. было показано, что сохраняющееся системное воспаление (высокие уровни IL-6 и интерферонов типа I) служит постоянным стимулом для дифференцировки Т-клеток, что в свою очередь характерно для аутоиммунных заболеваний [143]. В исследовании C. Phetsouphanh и соавт. было отмечено, что у пациентов с постковидным синдромом популяция активированных CD8+ Т-клеток значительно превышала популяцию Т-клеток, специфичных именно к антигенам SARS-CoV-2 [118].

Имеются экспериментальные доказательства того, что у лиц с бессимптомным течением инфекции SARS-CoV-2 развивается вирус-специфический Т-клеточный ответ, который по силе неотличим от такового у пациентов с симптомами, но более полноценен функционально. Такой ответ характеризуется усиленной секрецией Т-хелперами 1 типа (Th1) цитокинов (интерферон γ и IL-2), которая связана с пропорциональной и скоординированной продукцией провоспалительных (IL-6, TNF-α, IL-1β) и противовоспалительных (IL-10) цитокинов. Однако до настоящего времени значение такого иммунного ответа недостаточно выяснено для патологии, но может быть использовано для разработки вакцин [83].

После клинического выздоровления специфические для SARS-CoV-2 Т-клеточные формы ответа могут сохраняться по крайней мере в течение шести месяцев, что может положительно сказываться при повторном заражении [162]. Так, согласно исследованию T. Sekine и сооавт., SARS-CoV-2 вызывает широко направленные реакции Т-клеток памяти, что может препятствовать возникновению повторных эпизодов инфекции COVID-19 [135].

Таким образом, дальнейшее изучение особенностей состояния иммунной системы в постковидном и поствакцинальном периоде является актуальной проблемой для понимания механизмов иммунной защиты, разработки программ иммунореабилитации при постковидном синдроме, создания новых подходов к формированию восстановительного лечения пациентов, перенёсших COVID-19. Расшифровка значимости отдельных звеньев клеточного и гуморального иммунитета является краеугольным вопросом при создании эффективных вакцин и методов терапии. Резюмируя вышеизложенное, можно утверждать, что у пациентов с онкогематологическими заболеваниями, в частности, В-ЛПЗ, после перенесенной коронавирусной инфекции формируются значимые нарушения иммунного ответа, которые еще более усугубляются применением высокодозной химиотерапии, в особенности с использованием анти CD20-моноклональных антител, поскольку критическое снижение В-лимфоцитов на фоне терапии ритуксимабом создает условия для персистирующего воспаления. На этом фоне

терапевтически перспективным представляется использование ингибиторов BTK, обладающих протективным влиянием на иммунную систему и способствующих более эффективному восстановлению адаптивного иммунитета в постковидном периоде.

1.6 Тирозинкиназа Брутона и её роль в созревании и функционировании В-лимфоцитов

Тирозинкиназа Брутона — цитоплазматическая нерецепторная тирозинкиназа, являющаяся одним из пяти членов семейства TEC (тирозинкиназа, экспрессируемая в гепатоцеллюлярной карциноме), к которым также относятся TEC, BTK, интерлейкин-2-индуцируемая Т-клеточная киназа (ITK), костномозговая киназа Х-хромосомы (BMX), киназа Т-клеточной Х-хромосомы [36]. BTK – важный компонент сигнальных путей, начинающихся с пре-В-клеточного и В-клеточного рецепторов, этим и объясняется её роль в развитии В-лимфоцитов [105]. Ген BTK первоначально был обнаружен в 1993 г. как ген, ответственный за развитие Х-сцепленной агаммаглобулинемии, наследственного заболевания, при котором нефункциональная BTK блокирует развитие В-клеток в костном мозге, что приводит к резкому уменьшению количества В-клеток и

п
р
а
к
т
и
ч
е
с
к
и
п
о

BTK необходима для передачи сигналов В-клеточного рецептора (BCR) и, следовательно, играет важную роль в пролиферации, выживании, развитии, дифференцировке и активации В-клеток на разных стадиях их развития. При активации BCR BTK образует сигнальный комплекс вместе с тирозинкиназой селезёнки, белком VAV, фосфоинозитид-3-киназой, адаптерным белком SLP65 и фосфолипазой Cγ2 (PLCγ2). BTK фосфорилирует PLCγ2, транскрипционный

ядерный фактор κB (NF-κB), ядерный фактор активированных Т-клеток (NF-AT), а также внеклеточную сигнальную киназу 1 и 2, которые, в свою очередь, опосредуют последующие функциональные ответы [115; 154]. Помимо BCR, тирозинкиназа Брутона также регулирует сигнальные пути хемокиновых рецепторов, включая CXCR4 и CXCR5, которые играют ключевую роль в хемотаксисе и миграции В-лимфоцитов [37]. Аналогичным образом, BTK играет важную роль в регуляции выживания, пролиферации и миграции патологических В-лимфоцитов, существенно влияя на развитие злокачественных В-клеточных лимфопролиферативных опухолевых заболеваний [91].

1.7 Ингибиторы тирозинкиназы Брутона

В последние годы ингибиторы BTK все чаще заменяют классические схемы иммунохимиотерапии такие как FCR (флударабин, циклофосфамид, ритуксимаб) и BR (бендамустин, ритуксимаб), а у больных с высоким риском неблагоприятного прогноза (с мутацией TP53, del 17p) ингибиторы BTK показаны в 1-й линии терапии. Использование ибрутиниба и акалабрутиниба оказалось особенно эффективным у больных В-ХЛЛ и мантийноклеточной лимфомой, но также были одобрены протоколы для лечения рефрактерных и рецидивирующих форм лимфоплазмоцитарной лимфомы и макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы маргинальной зоны.

Ибрутиниб – первый пероральный ингибитор BTK, который начал использоваться в клинической практике с 2009 г [39]. Этот препарат необратимо инактивирует BTK за счет ковалентного связывания с остатком Cys481 в АТФ-связывающем сайте BTK [115]. Однако, прием этого препарата может вызывать побочные эффекты в виде кровотечений, мерцательной аритмии, гипертензии, нейтропении, артралгии, миалгии, головной боли, диареи, тошноты, утомляемости, сыпи и других изменений кожи, а также инфекционные осложнения [79; 86]. Эти нежелательные явления не ожидались при блокаде тирозинкиназы Брутона, поскольку пациентам с врожденным дефицитом BTK не свойственны ни

кровотечения, ни гипертензия, ни жизнеугрожающие желудочковые аритмии. Дальнейшие исследования доказали, что тирозинкиназа Брутона играет ключевую роль в передаче ряда сигналов тромбоцитами и кардиомиоцитами [94]. Хотя эти токсические эффекты по сути своей являются «целевыми», они наблюдаются только при лекарственной терапии, а не при Х-сцепленной агаммаглобулинемии, поскольку врожденный дефицит BTK затрагивает только Брутоновскую тирозинкиназу, в то время как белки, тесно связанные с BTK (например, семейство киназ TEC), способны обеспечивать «резервный» сигнальный путь и тем самым

Ингибиторы BTK второго поколения более селективны в отношении BTK, чем ибрутиниб, что обеспечивает их большую безопасность за счет снижения токсичности. К ингибиторам BTK второго поколения относят акалабрутиниб, занубрутиниб, тирабрутиниб и орелабрутиниб. В настоящее время акалабрутиниб и занубрутиниб разрешены для клинического использования, в том числе в РФ [28; 33]. Акалабрутиниб ингибирует BTK более избирательно, чем ибрутиниб, и обладает меньшей кардиотоксичностью [35]. По сравнению с ибрутинибом, акалабрутиниб обладает пониженной активностью в отношении TEC, EGFR и ITK и был неактивен в отношении киназ семейства SRC [25]. Согласно результатам исследования 1-й фазы в 2016 г., акалабрутиниб оказался в 3 раза более селективным в отношении киназы TEC, в 10 раз более селективным в отношении BMX и в 100 раз более селективным в отношении ITK, JAK3 и EGFR, чем ибрутиниб, что позволяет минимизировать побочные эффекты, связанные с нецелевым воздействием на другие киназы [38]. Акалабрутиниб хорошо переносится больными В-ХЛЛ с непереносимостью ибрутиниба [160]. До 2025 г. было зарегистрировано три прямых сравнительных исследования 3-й фазы ибрутиниба с ингибиторами второго поколения. Результаты всех исследований

совпали, показав прежде всего низкий риск фибрилляции предсердий (снижение в 2–4 раза) при использовании акалабрутиниба или занубрутиниба по сравнению с ибрутинибом. Более того, применение акалабрутиниба значительно реже осложнялось артериальной гипертензией (акалабрутиниб – 9%, занубрутиниб – 15%) в исследовании ASPEN, в то время как в исследовании ALPINE назначение занубрутиниба не показало меньшей частоты артериальной гипертензии (занубрутиниб – 24%, ибрутиниб – 23%) [141].

Благодаря одобрению FDA для клинического использования и внедрения в рутинную практику ибрутиниба и акалабрутиниба, значительно изменились течение и прогноз В-ХЛЛ и ЛКМ: увеличилась выживаемость без прогрессии, особенно у пациентов с высоким риском неблагоприятного исхода [137]. Ингибиторы BTK также показали лучшие результаты по клинической эффективности и безопасности, чем традиционные схемы иммунохимиотерапии, что справедливо обосновало их предпочтительное использование в группах пациентов высокого риска, в случае рецидивов, а также у лиц пожилого возраста.

Несмотря на успех применения ковалентных ингибиторов BTK, приблизительно у 60% пациентов со временем к ним развивается резистентность из–за мутаций в гене тирозинкиназы Брутона [34]. Причины резистентности обусловлены следующими механизмами:

1) мутацией BTK в сайте связывания ибрутиниба (C481S);

2) мутацией, активирующей фосфолипазу Cγ2 (R665W, S707Y и L845F);

3) мутацией BTK в домене SH2 (T316A);

4) мутацией, активирующей BTK (L528 W);

5) эволюцией опухолевых клонов, лежащей в основе прогрессирования лейкоза у пациентов с рецидивирующим В-ХЛЛ, получающих ибрутиниб [125].

Наиболее распространенные мутации, вызывающие резистентность к ибрутинибу, происходят в остатке BTK C481, который нужен для необратимого связывания ингибитора. Если мутация затрагивает остаток серина (C481S), то у больного будет иметь место высокий риск рецидива В-ХЛЛ [58]. Эта каноническая мутация C481S самая частая и составляет >90% мутаций BTK у пациентов,

получающих терапию ибрутинибом. Она приводит к потере ковалентного связывания как для ибрутиниба, так и для всех ингибиторов тирозинкиназы Брутона второго поколения, включая акалабрутиниб, занубрутиниб [103]. То есть мутация C481S обеспечивает панрезистентность ко всем существующим на сегодняшний день ковалентным ингибиторам BTK. Решение проблемы резистентности у пациентов с мутацией C481S заключается в разработке нековалентных АТФ–конкурентных ингибиторов BTK, не связывающихся с участком C481.

Новый ингибитор BTK – пиртобрутиниб является первым и пока единственным нековалентным ее ингибитором, который в настоящее время одобрен для пациентов с рецидивирующим / рефрактерным B-ХЛЛ и ЛКМ, получивших как минимум две линии терапии. Пиртобрутиниб связывается с АТФ–связывающим карманом молекулы BTK, не взаимодействуя с C481, чтобы предотвратить фосфорилирование BTK Y223 и Y551 и активацию PLCγ2, ERK1/2 и NF-κB [70]. Это даёт возможность преодолеть резистентность к ингибиторам BTK у больных с мутацией C481S. Так, в клиническом исследовании 1-й и 2-й фазы с участием пациентов с B-клеточными лимфопролиферативными новообразованиями общий уровень ответа для больных B-ХЛЛ составил 63%, а для пациентов с ЛКМ — 52% [93]. В настоящее время несколько других обратимых ингибиторов BTK находятся в стадии клинической апробации, эти препараты, обладая большей нецелевой аффинностью к киназам, чем пиртобрутиниб, менее специфичны к BTK. Например, немтабрутиниб обладает неспецифической киназной активностью в отношении TEC и BMX, тогда как векабрутиниб обладает некоторой перекрёстной активностью с ITK и TEC, что даёт надежду на ещё большую их эффективность у резистентных к терапии больных B-ХЛЛ и ЛКМ [4].

Важно подчеркнуть, что появление множества мутаций в гене BTK на фоне применения ингибиторов BTK в результате их селективного отбора привело к разработке нового класса препаратов – деградаторов белка BTK. Эти препараты состоят из трех компонентов: лиганда для целевого белка, лиганда для

убиквитинлигазы E3 и связующей цепи [152]. Деградаторы BTK используют убиквитин–протеасомный путь для убиквитинирования белка BTK в клетке, что приводит к его протеасомному разрушению. Доклинические эксперименты демонстрируют широкий спектр активности деградаторов белка BTK в отношении мутаций C481S, L528W, T474I и V416L [97]. Первые клинические результаты класса деградаторов BTK были получены в ходе исследования NX–2127 [130]. Предварительные результаты этого исследования показали быструю деградацию BTK в B-клетках с уменьшением лимфоузлов у 11 из 14 пациентов с резистентным к лечению B-ХЛЛ [92]. Кроме того, согласно ретроспективным данным A. R. Mato и соавт., около 41% больных были вынуждены прекратить лечение ибрутинибом в течение первых 17 месяцев наблюдения, при этом более чем в половине случаев прекращение терапии было обусловлено развитием непереносимой токсичности, а не прогрессированием основного заболевания [91]. В связи с этим разработка новых, более селективных ингибиторов BTK продолжается.

1.8 Частота и типы инфекционных осложнений, связанных с терапией ингибиторами тирозинкиназы Брутона

Нарушение иммунной регуляции при B-ХЛЛ приводит к увеличению частоты инфекций. Несмотря на значительные успехи в разработке схем лечения, поддерживающей терапии и антибиотикотерапии, инфекции, в том числе угрожающие жизни у таких пациентов развиваются гораздо чаще, чем у здоровых лиц. Инфекции являются непосредственной причиной смерти у больных B-ХЛЛ в 8 – 38% случаев [122].

Основные причины высокого риска инфекций при B-ХЛЛ многообразны. Кроме связанной с болезнью иммунной дисрегуляцией и иммуносупрессией, вызванной терапией, риск инфекции увеличивают также длительность течения и продвинутая стадия заболевания, выраженная гипогаммаглобулинемия и предшествующая противоопухолевая терапия [107]. При лечении B-ЛПЗ с применением ингибиторов BTK инфекционные осложнения регистрируются у ~

50% пациентов, и наиболее часто развивающимся осложнением является пневмония, вызванная условно-патогенными микроорганизмами (~ у 20% пациентов) [67; 132; 142]. При проведении 3-й фазы клинического исследования ибрутиниба (RESONATE) инфекции регистрировались у 70% из 195 больных с рецидивом В-ХЛЛ, и в 24% случаев это были инфекции тяжелые или средней степени тяжести. В клиническом исследовании 3-й фазы у ранее не леченных больных В-ХЛЛ (RESONATE2) тяжелые инфекции или инфекции средней тяжести развились у 23% больных, получавших ибрутиниб [100]. При этом риск развития инфекционных осложнений наиболее высок в первые 6 месяцев с момента начала терапии и снижается впоследствии, что согласуется с данными литературы об иммуномодулирующих эффектах ибрутиниба [21].

При анализе четырех рандомизированных контролируемых исследований применения ибрутиниба у больных В-ХЛЛ или неходжкинскими лимфомами (НХЛ) показали, что у пациентов, получавших ибрутиниб, риск инфекций максимально превалировал в течение первых 3 месяцев терапии (любые инфекции – 41%, инфекции средней тяжести и тяжелые – 11%); также было отмечено, что частота инфекций со временем снижалась [108].

В открытом многоцентровом исследовании 3-й фазы (ELEVATE TN) тяжелые инфекции и инфекции средней тяжести наблюдались у 37 (21%) пациентов, получавших акалабрутиниб и обинутузумаб, у 25 (14%) пациентов, получавших монотерапию акалабрутинибом [138]. Среди пациентов, получавших акалабрутиниб, у 30 из 41 пациентов было зарегистрировано 66 эпизодов инфекций, в том числе у 7 развилась инфекция средней тяжести и у 1 – тяжелая инфекция со средним периодом наблюдения 24,5 мес. Частота инфекций в течение первых 6 месяцев лечения акалабрутинибом была выше (12,5 случаев на 100 пациенто-месяцев) по сравнению с тем, что наблюдалось через 6 месяцев лечения (6,1 инфекций на 100 пациенто-месяцев). То есть, так же, как и при приеме ибрутиниба, риск развития инфекций снижался при увеличении длительности терапии. При лечении пациентов с рецидивирующим / рефрактерным заболеванием ибрутинибом или акалабрутинибом риск инфекции был более

высоким по сравнению с теми, кто получал ингибитор BTK в качестве терапии первой линии. Сравнение среднего количества инфекций с учетом времени приема препарата не показало различий в риске инфицирования у пациентов, принимающих акалабрутиниб по сравнению с ибрутинибом [122].

1.9 Иммуномодулирующие эффекты ибрутиниба и акалабрутиниба

Поскольку BTK задействована в активации многих популяций иммунных клеток, ее блокирование ибрутинибом оказывает комплексное иммуномодулирующее действие на клетки как адаптивной, так и врожденной иммунной системы, включая CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты, NK-клетки, и клетки миелоидной линии [96]. Как результат, иммуномодуляция может приводить к улучшению иммунного ответа против вирусной, грибковой и бактериальной инфекции, в том числе и COVID-19.

Нарушения функции Т-лимфоцитов были отмечены у больных В-ХЛЛ, что проявляется истощением (exhaustion) эффекторных Т-клеток, Т-клеток памяти и иммуносупрессивных Treg. Большая часть иммунодулирующих эффектов ингибитора BTK на Т-клетки (сдвиг в сторону фенотипа Th1, уменьшение количества Th2, изменение баланса Th17 и Treg в сторону преобладания Treg, снижение продукции цитокинов) опосредована блокадой сигнальных путей Т-клеточного рецептора (TCR) с помощью ITK [116]. В ответ на стимуляцию CD3 и происходит нарушение пролиферации, а также снижается продукция цитокинов

Высокий уровень экспрессии BTK характерен также для моноцитов и макрофагов. В этих клетках BTK регулирует передачу сигналов от Toll-подобных рецепторов (TLR), напрямую взаимодействуя с их цитоплазматическими доменами фосфорилирование BTK, которая активирует фактор транскрипции NF-κB и интерферон-регулирующий фактор, усиливающие экспрессию генов

воспалительных цитокинов, хемокинов и интерферонов [45]. В моноцитах, макрофагах и дендритных клетках ибрутиниб и акалабрутиниб ингибируют проведение сигнала и от рецепторов TREM-1 и Dectin-1, что приводит к снижению продукции воспалительных цитокинов и хемокинов, а также нарушению фагоцитоза опухолевых клеток и инфекционных патогенов (за счет воздействия на рецептор Dectin-1). Таким образом, лечение ибрутинибом приводит к снижению сывороточных уровней различных хемокинов и провоспалительных цитокинов у больных В-ХЛЛ. Эти изменения способствуют предрасположенности к частым инфекционным заболеваниям и развитию цитокинового дисбаланса.

Аналогично и в гранулоцитах ибрутиниб ингибирует активацию и эффекторные функции, индуцированные BTK-зависимыми механизмами при активации TLR, TREM-1 и формировании инфламмасомы NLRP3. Установлено, что ибрутиниб подавляет активацию воспалительных процессов, блокируя сборку инфламмасомы NLRP3 и последующую активацию каспазы-1, что препятствует созреванию IL-1β в нейтрофилах, инфильтрирующих очаг повреждения [164]. В исследовании D. Blez и соавт. показано, что нейтрофилы, выделенные у больных В-ХЛЛ, получавших ибрутиниб, имели сниженные показатели окислительного взрыва и бактерицидности, а также нарушенную способность формировать внеклеточные сети-ловушки [31; 129].

В частности, применение ингибиторов BTK в модели пневмококковой пневмонии у мышей приводило к снижению системной активации нейтрофилов и их миграции в легкие [53]. Что же касается пациентов с В-ХЛЛ, то у них на ранних этапах лечения ибрутинибом снижается продукция IL-8 нейтрофилами (опосредованная иммунными комплексами через FcγR) и их дегрануляция в ответ на опсонизированную *E. coli*, что приводит к уменьшению высвобождения нейтрофильной эластазы, миелопероксидазы и лактоферрина [59]. При этом нейтрофилы с дефицитом BTK проявляют повышенную предрасположенность к апоптозу, имеют нарушение созревания, дифференцировки, а также снижение продукции активных форм кислорода [149].

Поскольку ибрутиниб и акалабрутиниб изменяют функциональную активность фагоцитарных клеток и соотношение популяций Т-клеток, появилось предположение о возможности использования этих препаратов для лечения ряда других нозологических форм, в том числе различных злокачественных новообразований кроветворной и лимфоидной системы, солидных опухолей, атеротромбоза и аутоиммунных заболеваний. Эффективность ингибиторов BTK при лечении заболеваний перечисленных групп в настоящее время изучается во многих клинических исследованиях.

1.10 Использование ингибиторов тирозинкиназы Брутона у больных COVID-19

Наличие определенных противовоспалительных иммуномодулирующих последствий применения ингибиторов BTK у больных онкогематологическими и онкологическими заболеваниями позволило предположить целесообразность применения этой группы препаратов с целью купирования сверхострого воспаления у пациентов с COVID-19. Результаты экспериментального исследования J. M. Florence и соавт. показали, что использование ингибиторов BTK спасало мышей, инфицированных вирусом гриппа, от летального повреждения легких. Эти данные стали предпосылкой для внедрения ингибиторов BTK в протоколы лечения пациентов с COVID-19 [62]. Интересные данные получены и при наблюдении за пациентами с гемобластозами, у которых COVID-19 развился на фоне приема ингибитора BTK ибрутиниба. В частности, в исследовании S. P. Treon и соавт. сообщалось о шести пациентах с макроглобулинемией Вальденстрема, получавших ибрутиниб в качестве противоопухолевого лечения, у которых COVID-19 проявлялся только легкими симптомами поражения верхних дыхательных путей [144].

На 2022 г. было зарегистрировано 7 клинических исследований по изучению эффективности акалабрутиниба (4 трайла) и ибрутиниба (3 исследования) при COVID-19. В ходе этих клинических исследований было установлено, что коронавирусная инфекция с тяжелым течением может поражать легкие с

манифестацией в виде острого респираторного дистресс-синдрома, зачастую приводящего к летальному исходу. При этом у части пациентов развивается гиперактивный воспалительный ответ макрофагов, проявляющийся как цитокиновый шторм, который приводит к дыхательной недостаточности. При патологоанатомическом исследовании легких у пациентов, умерших от коронавирусной инфекции, выявили наличие обширной клеточной инфильтрации с преобладанием макрофагов [128; 134]. Предполагают, что привлечение макрофагов при развитии инфекции может быть связано с повышением экспрессии ангиотензинпревращающего фермента 2, регулируемой повышенными концентрациями локально продуцируемого альфа-интерферона. Макрофаги могут воспринимать одноцепочечную РНК вируса SARS-CoV-2 через TLR-7 с последующей передачей сигналов, приводящей к активации NF-κB. В присутствие вируса инфламмасома NLRP3 активирует каспазы, расщепляющие белок про-IL-1β, что обеспечивает высвобождение зрелого цитокина в окружающую среду [57].

Ибрутиниб обладает потенциальными противовоспалительными эффектами, проявляющимися в снижении уровней провоспалительных цитокинов, которые часто повышены при тяжелой форме COVID-19 [60]. Поэтому лечение пациентов с тяжелой формой COVID-19 акалабрутинибом также улучшало показатели оксигенации и снижало продукцию IL-6 моноцитами. В другом клиническом исследовании, включавшем 19 больных, госпитализированных с тяжелой формой COVID-19 (11 на неинвазивной вентиляции легких, 8 на искусственной вентиляции легких), было также установлено улучшение оксигенации через 10–14 дней лечения акалабрутинибом [131]. Эти результаты позволяют предположить, что ингибирование BTK с помощью ибрутиниба или акалабрутиниба может обеспечить защиту от развития тяжелых форм заболевания. Таким образом, блокада BTK является одной из возможностей уменьшить чрезмерное воспаление при тяжелом течении COVID-19.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Характеристика обследованной группы

Диссертационное исследование выполнено на базе научно-исследовательской лаборатории иммунологии и одобрено этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России). Все пациенты наблюдались и обследовались в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России. Лабораторные иммунологические исследования проводились в научно-исследовательской лаборатории иммунологии. Все исследования выполнены в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации и методическими указаниями «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации» (утверждены Приказом Минздрава РФ №200н от 01.04.2016 г.). От всех пациентов получено добровольное информированное согласие перед включением в исследование. Исследование проводилось по одобрению Локального этического комитета ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России (заключение ЛЭК № 27 от 29.05.2025 г.).

2.1.1 Пациенты с онкогематологическими заболеваниями

У 177 пациентов с онкогематологическими заболеваниями, Me возраста – 61 год (возраст от 33 до 85 лет), из них в динамике обследовано 32 человека, проведено исследование уровня антител к SARS-CoV-2 и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Оценка показателей клеточного иммунитета в этой группе не проводилась, поскольку пациенты находились на разных стадиях заболевания и получали различные режимы терапии. Кроме того, у ряда больных субпопуляционный состав лимфоцитов был представлен преимущественно

опухолевой популяцией, в связи с этим сопоставление групп было не целесообразным.

Среди общей группы обследованных пациентов только болели COVID-19 – 63 человека, только вакцинировались – 26, болели и вакцинировались – 47, не болели и не вакцинировались – 41. По диагнозам пациенты распределялись следующим образом: с В-ЛПЗ – 117 пациентов (из них с множественной миеломой (ММ) – 53 пациента, НХЛ – 39 человек, В-ХЛЛ – 12 больных, с лимфомой Ходжкина (ЛХ) – 13 пациентов), с хроническими миелопролиферативными заболеваниями (ХМПЗ) – 18 пациентов, с ОМЛ – 30 пациентов, с МДС – 12 пациентов. Распределение обследованных больных по нозологическим формам представлено в Таблице 1 и на Рисунке 1.

Таблица 1 — Распределение обследованных больных по нозологическим формам

Нозологическая форма	Количество больных	Доля от общего числа, %
ММ	53	29,9
НХЛ	39	22,0
ОМЛ	30	17,0
ХМПЗ	18	10,2
ЛХ	13	7,3
В-ХЛЛ	12	6,8
МДС	12	6,8

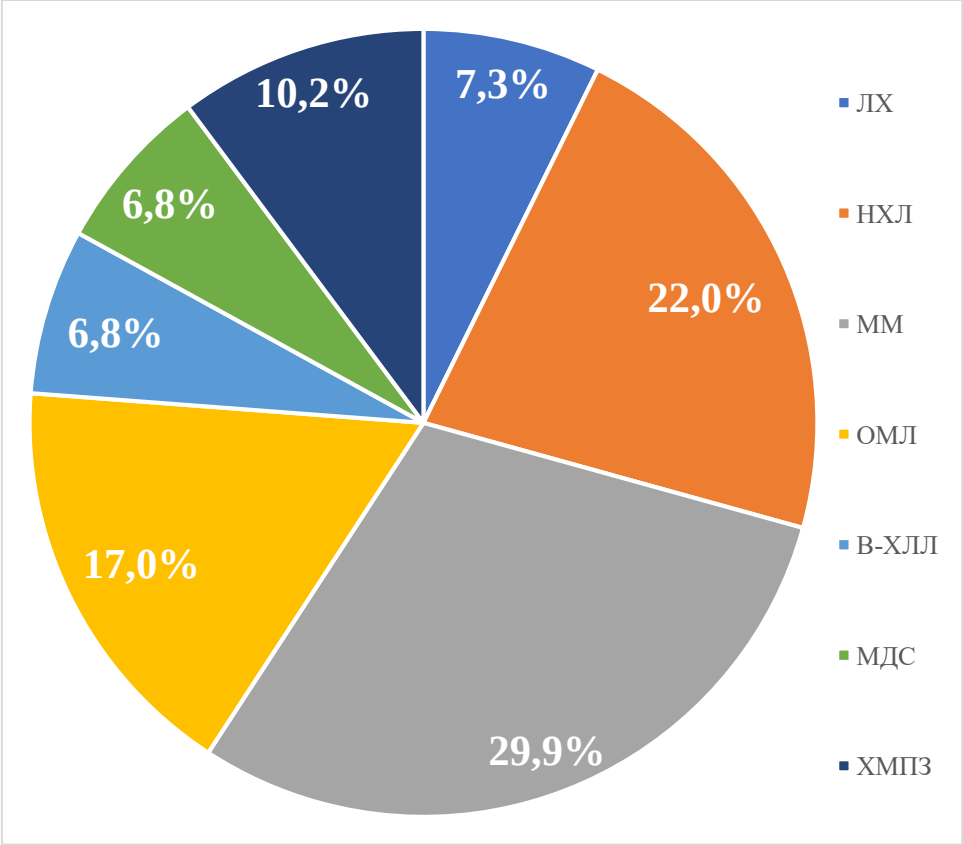


Рисунок 1 – Распределение обследованных больных по нозологическим формам

Терапию с использованием мкАТ получили 53 человека (из них даратумумаб – 19; ритуксимаб – 20; ибрутиниб – 8, обинутузумаб – 6), химиотерапию – 93 пациента, без лечения – 31 человек.

2.1.2 Пациенты с В-клеточными лимфопролиферативными заболеваниями, у которых выполнен ретроспективный анализ медицинских карт

С целью изучения связи химиотерапии с частотой инфекционных эпизодов у отдельной группы больных В-ЛПЗ были проанализированы медицинские карты 94 стационарных больных, проходивших лечение в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России с 2017 по 2021 гг. Исследуемая группа включала 67 больных В-ХЛЛ и 27 пациентов с НХЛ. В зависимости от характера проводимой терапии пациенты обеих нозологических групп были разделены на подгруппы: не получавшие специфического лечения на момент обследования, получавшие стандартные

режимы полихимиотерапии (ПХТ), включая флударабин, циклофосфамид, ритуксимаб, бендамустин, и получавшие терапию ингибиторами ВТК. Подробная структура распределения больных В-ЛПЗ с учетом нозологических форм и характера проводимого лечения представлена в Таблице 2. Среди больных В-ХЛЛ 27 пациентов не получали специфического лечения, 28 получали стандартную ПХТ, монотерапию ибрутинибом получали 12 человек. Среди 27 пациентов с НХЛ 5 больным не проводилось специфического лечения, 21 назначалась стандартная ПХТ. Монотерапию ибрутинибом получал 1 пациент.

Таблица 2 – Распределение больных В-ЛПЗ в зависимости от нозологической формы и характера проводимой терапии

Характер проводимой терапии	Больные В-ХЛЛ	Больные НХЛ	Всего пациентов
До начала специфической терапии	27 (40,3%)	5 (18,5%)	32 (34,0%)
Стандартные режимы ПХТ	28 (41,8%)	21 (77,8%)	49 (52,2%)
Терапия ингибиторами ВТК	12 (17,9%)	1 (3,7%)	13 (13,8%)

2.1.3 Пациенты без онкогематологических заболеваний

Всего в исследование было включено 258 человек, из них у 180 человек проведены исследования клеточного и гуморального иммунитета и у 78 – иммуногенетические исследования. Критерии включения в исследование представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Критерии включения / исключения участников в исследование

Критерии включения в группу перенесших COVID-19	Критерии включения в группу контроля
1. Возраст более 20 и менее 85 лет. 2. COVID-19 в анамнезе. 3. Наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании	1. Возраст старше 18 лет и младше 85 лет 2. Неинфицированные COVID-19 3. Наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании
Критерии исключения для всех групп	
1. Ухудшение состояние, появление побочных эффектов, делающее невозможным дальнейшее участие в исследовании. 2. Злоупотребление психоактивными веществами, алкоголем. 3. Беременность или планирование беременности, период грудного вскармливания	

Оценку особенностей состояния иммунной системы проводили у 128 лиц без заболеваний системы крови, не получавших вакцинацию и перенесших инфекцию COVID-19, среди них 29 мужчин и 99 женщин (возраст от 20 до 83 лет, Me возраста – 57 лет), в сроки от 1 до 12 месяцев после перенесенного заболевания. По степени тяжести перенесенной коронавирусной инфекции пациенты были поделены на следующие группы: I – с легкой формой заболевания (n = 62, возраст от 20 до 67 лет, Me – 45,1 лет), II – со среднетяжелой формой (n = 57, возраст от 36 до 83 лет, M

e

–

5

8

,

2

Таблица 4 – Характеристика лиц без заболеваний системы крови

о

д

Группа обследованных	Количество пациентов	Me, лет (диапазон)
Легкая форма COVID-19	62	45,1 (20,0–67,0)
Среднетяжелая форма COVID-19	57	58,2 (36,0–83,0)
Тяжелая форма COVID-19	9	64,9 (52,0–78,0)
Доноры	52	34,0 (18,0–45,0)

2.1.4. Группа для иммуногенетического исследования

Группа для иммуногенетического исследования включала жителей г. Санкт-Петербурга. В нее вошли лица, перенесшие COVID-19 в период 2020-2022 гг.: 78 человек в возрасте от 20 до 84 лет (медиана – 55 лет), 58 женщин (74,4%) и 20 мужчин (25,6%). Распределение пациентов в зависимости от варианта SARS-CoV-2: исходный (Уханьский) – 40, Дельта – 29, Омикрон – 9 случаев. Распределение обследованных лиц по степени тяжести течения COVID-19 в соответствии с Временным методическим рекомендациям Министерства здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 19 от 27.05.2025: легкая – 41, средняя – 32, тяжелая – 5 человек. Для дальнейшего анализа лица со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания были объединены в одну группу (37 человек). Контрольную группу составили 1563 индивидуума, являющихся потенциальными донорами гемопоэтических стволовых клеток, в возрасте от 18 до 60 лет (медиана – 32 года), 808 женщин (51,7%) и 755 мужчин (48,3%). Иммуногенетическое обследование представителей контрольной группы выполнено до начала пандемии SARS-CoV-2.

2.2 Иммунологические методы исследования

2.2.1 Проточная цитометрия

Проточная цитометрия представляет собой высокотехнологичный метод мультипараметрического анализа, позволяющий осуществлять регистрацию физических, биохимических и функциональных характеристик отдельных клеток с использованием специализированного программного обеспечения. Главным преимуществом метода перед традиционной световой микроскопией является его высокая пропускная способность — детекция до 30 000 клеточных событий в секунду. Это обеспечивает репрезентативность выборки и высокую статистическую достоверность результатов при минимальных затратах времени. Технология позволяет одновременно оценивать экспрессию поверхностных и внутриклеточных маркеров, а также функциональный статус клеток (апоптоз, пролиферация) в рамках одной аналитической процедуры. Данные свойства определяют универсальность и высокую диагностическую значимость проточной цитометрии при иммунофенотипировании клеток из различных биологических источников, включая периферическую кровь, костный мозг, нативные биожидкости, аспираты тонкоигольной биопсии и суспензии солидных тканей [78]. Кроме того, преимуществом метода является возможность обнаружения единичных патологических или злокачественно измененных клеток среди сотен тысяч и миллионов здоровых, что широко используется для анализа минимальной остаточной болезни. Необходимо отметить, что метод проточной цитометрии считается квазиколичественным, то есть обеспечивает результат не в абсолютных, а относительных величинах (как правило, в процентах от исследуемой популяции клеток или средней интенсивности флуоресценции) [136].

В основе метода проточной цитометрии лежит принцип гидродинамического фокусирования клеточной суспензии, предварительно инкубированной с флуорохром-конъюгированными моноклональными антителами или флуоресцентными зондами. За счет принципа «струя в струе» формируется ламинарный поток, обеспечивающий строго упорядоченное

движение клеток по одной через зону детекции. Возбуждение отдельных клеток лазерами вызывает флуоресцентное излучение, которое детектируется и преобразуется в электронный сигнал для дальнейшего анализа [74].

Первичная дифференциация клеточных популяций в проточном цитометре осуществляется на основании их морфологических характеристик, регистрируемых по параметрам светорассеяния, в частности, по прямому малоугловому светорассеянию (FSC), которое коррелирует с размером клетки, и боковому светорассеянию (SSC), которое отражает внутреннюю структуру и гранулярность клетки. Эти два параметра позволяют дифференцировать клетки и получать информацию об их морфологии, что и является основой метода. Прямое малоугловое светорассеяние (при углах до 10^0) – показатель, характеризующий объем клеток. Крупные клетки рассеивают свет под малыми углами с большей интенсивностью. Боковое светорассеяние, регистрируемое под углом около 90°, отражает внутреннюю структуру, гранулярность и сложность цитоплазмы. Интенсивность SSC детерминирована плотностью внутриклеточных мембранных структур (гранул, элементов эндоплазматического ретикулума и комплекса Гольджи), что позволяет четко дифференцировать клетки по внутренней сложности, например, лимфоциты от гранулоцитов. Измерение флуоресценции при использовании красителей с функцией флуорохрома, а также меченых флуорохромами моноклональных антител, позволяет получить данные о содержании ДНК, РНК, белков, липидов и гликопротеинов, количественно оценить экспрессию поверхностных и внутриклеточных маркеров клеток, а также функциональные особенности отдельных популяций клеток [6].

Последующая математическая и графическая обработка полученных данных происходит с использованием специализированного программного обеспечения, преобразующего зарегистрированные сигналы в однопараметрические или многопараметрические гистограммы, наибольшей информативностью при этом обладают двумерные точечные диаграммы рассеяния (дот-плоты), где каждая точка визуализирует единичное клеточное событие. Данный формат визуализации позволяет проводить сочетанную оценку физических параметров светорассеяния

для верификации морфологических признаков исследуемых популяций клеток и интенсивности флуоресценции по соответствующим каналам детекции, что обеспечивает полуколичественный анализ уровня экспрессии поверхностных и внутриклеточных дифференцировочных антигенов на уровне единичных клеток.

Параллельно с оценкой физических параметров клеток в проточном цитометре осуществляется высокоскоростная регистрация сигналов флуоресценции. Применение селективных флуоресцентных зондов и флуорохром-конъюгированных моноклональных антител обеспечивает прецизионную количественную оценку экспрессии поверхностных и внутриклеточных маркеров, определение содержания нуклеиновых кислот (ДНК, РНК), белков и гликопротеинов, а также комплексный анализ функционального статуса отдельных популяций клеток.

Для обеспечения валидности и воспроизводимости детекции флуоресцентных сигналов применяется стандартизированный алгоритм преаналитической настройки прибора. Данный протокол включает оптимизацию параметров дискриминатора для эффективного отсечения нецелевого клеточного дебриса, калибровку каналов прямого и бокового светорассеяния, регулировку напряжения на фотоэлектронных умножителях, а также проведение математической компенсации спектрального перекрытия флуорохромов. Высокая объективность, статистическая мощность и диагностическая ценность метода обусловливают его широкое применение как в клинической практике, так и в биомедицинских модельных экспериментах.

В современной иммунологии ведущее значение приобретает многокомпонентный анализ субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток, включающий оценку как основных популяций (Т-лимфоциты CD3+, Т-хелперы CD3+CD4+, цитотоксические Т-лимфоциты CD3+CD8+, В-лимфоциты CD19+ и NK-клетки CD3-CD16+CD56+), так и минорных пулов лимфоцитов периферической крови (дифференцированные субпопуляции Т-хелперов CD4+ и Т-цитотоксических лимфоцитов CD8+, в том числе с разделением на "наивные" клетки и клетки памяти, субпопуляции с αβ- и γδ-

типами Т-клеточного рецептора, В1- и В2-лимфоциты, а также функционально различные субпопуляции NK-клеток) [6; 10; 20].

2.2.2 Определение субпопуляционного состава лимфоцитов

Определение клеточного состава основных субпопуляций лимфоцитов выполнялось на трёхлазерном десятицветном проточном цитометре, который представлен на Рисунке 2, с использованием моноклональных антител, сертифицированных для in vitro диагностики и имеющих регистрационное удостоверение Росздравнадзора, разрешающее их использование для медицинских целей на территории РФ. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» утверждена профильной комиссией Министерства здравоохранения РФ и регламентирует проведение количественной оценки клеточного состава лимфоцитов методом проточной цитометрии.



Рисунок 2 – Трехлазерный десятицветный проточный цитометр NAVIOS (Beckman Coulter, США)

Непосредственно после взятия пробы перемешивали путем 10-кратного плавного инвертирования пробирки. Образцы транспортировали и хранили при

контролируемой комнатной температуре (+18...+22 °С). Анализ клеточного состава проводили в течение 24 часов с момента забора биоматериала для обеспечения максимальной жизнеспособности клеток и стабильности экспрессии поверхностных антигенов.

Методика определения субпопуляционного состава лимфоцитов — разделение клеток на группы в зависимости от наличия на поверхности лимфоцитов специфических поверхностных антигенов — кластеров дифференцировки (CD, Clusters of Differentiation). Основные субпопуляции включают Т-лимфоциты (CD3+), Т-хелперы (CD3+CD4+), цитотоксические Т-лимфоциты (CD3+CD8+), В-лимфоциты (CD19+) и NK-клетки (CD3-CD16+CD56+). Анализ представленных субпопуляций позволяет объективно охарактеризовать структурно-функциональное состояние иммунной системы, выявить патологические изменения на ранних стадиях, а также своевременно диагностировать различные формы иммунодефицитных состояний и иммунопатологических дисфункций

Анализ клеточных популяций проводили методом проточной цитофлуориметрии на цитометре Navios (Beckman Coulter, США). Настройку прибора и компенсацию перекрытия спектров флуорохромов проводили с использованием контрольных образцов. Протокол оценки субпопуляций лимфоцитов методом проточной цитометрии включает следующие ключевые этапы: подготовку пробы, сбор данных на цитометре и последующий анализ (гейтирование) [9].

Преаналитический этап (подготовка образца) направлен на выделение клеток и их специфическое окрашивание с помощью моноклональных антител. В качестве биоматериала использовалась цельная периферическая кровь с антикоагулянтом К2–ЭДТА или К3–ЭДТА. Применялся стандартный протокол пробоподготовки «окрашивание – лизис – отмывка», этапы представлены в Таблице 5.

Таблица 5 – Этапы пробоподготовки

Название этапа	Суть этапа
Аликвотирование образца	Цельную кровь в пробирке с антикоагулянтом тщательно перемешивали и 100 мкл цельной крови переносили в цитометрическую пробирку.
Окрашивание	В цитометрическую пробирку добавляли мкАТ, меченые флуорохромами, с последующей инкубацией 15-30 минут в темноте при комнатной температуре.
Лизис	В цитометрическую пробирку добавляли 300-500 мкл лизирующего раствора Versalyse, тщательно перемешивали биоматериал с лизирующим буфером и оставляли на 15 минут при комнатной температуре для разрушения эритроцитов.
Отмывка	Для удаления несвязавшихся антител и остатков разрушенных эритроцитов к пробе добавляли фосфатно-солевой буфер, а затем исследуемый биоматериал центрифугировали (около 300–500 g) в течение 5 минут. В случае, если лизис был неполным, пробу лизировали снова с меньшим количеством лизирующего буфера с повторной отмывкой и центрифугированием. После этого осадок ресуспендировали и подавали для анализа на проточный цитометр

Далее проводили аналитический этап (сбор данных). После пробоподготовки образец был готов к исследованию на трехлазерном десятицветном проточном цитометре Navios, оснащённом лазерами с длинами волн 405, 488 и 638 нм. В протоколе исследования проводили оценку не менее 20 000 событий для получения статистически валидных результатов.

При выполнении исследования суспензия предварительно окрашенных флуоресцирующими красителями клеток через наконечник под давлением попадала в центр быстро движущегося в том же направлении потока жидкости. Клетки, подхваченные потоком жидкости, выстраивались друг за другом согласно принципу гидродинамического фокусирования, благодаря чему создаются условия ламинарного потока без перемешивания суспензии клеток с обтекающей их жидкостью. Измерения происходят при пересечении клеткой сфокусированного лазерного луча и световые сигналы, получаемые при взаимодействии луча лазера

с клетками, регистрировались системой детектирования и преобразовывались в элементы данных.

На постаналитическом этапе (гейтирование и анализ) клетки идентифицировали по параметрам прямого и бокового светорассеяния для исключения дебриса и дуплетов. Интенсивность флуоресценции регистрировали в соответствующих каналах: FITC, PE, ECD, PC5, PC7, APC.

Методом проточной цитометрии определяли субпопуляции лимфоцитов (B-лимфоциты, Т-лимфоциты, Т-хелперы, цитотоксические Т-лимфоциты, активированные Т-клетки, Т-регуляторные клетки, NK- и NKT-клетки) на основании экспрессии характерных маркеров (Таблица 6).

Таблица 6 – Кластеры дифференцировки, используемые для идентификации субпопуляций лимфоцитов

Маркер		Экспрессия
CD3	–	белковый комплекс, является основным корецептором для Т-клеточного рецептора, необходим для передачи сигнала внутрь клетки. Основной маркер Т-лимфоцитов и тимоцитов.
CD4	–	гликопротеин на поверхности клеток, который служит корецептором для Т-клеточного рецептора. Экспрессия этой молекулы наиболее характерна для Т-хелперов (CD3+CD4+). Моноциты также экспрессируют CD4, но со значительно меньшей плотностью чем лимфоциты. Некоторые субпопуляции дендритных клеток также могут нести этот маркер.
CD25 (IL-2Rα)	–	главный антиген Т-регуляторных клеток (CD4+ CD25 high). Также данный маркер может экспрессироваться на активированных Т-лимфоцитах.
CD8	–	антиген, который является маркером Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+), которые распознают антигены в комплексе с MHC I класса. Часть NK-клеток (CD3-CD8+dim) экспрессирует CD8, но со значительно меньшей интенсивностью, чем Т-киллеры.

Продолжение Таблицы 6

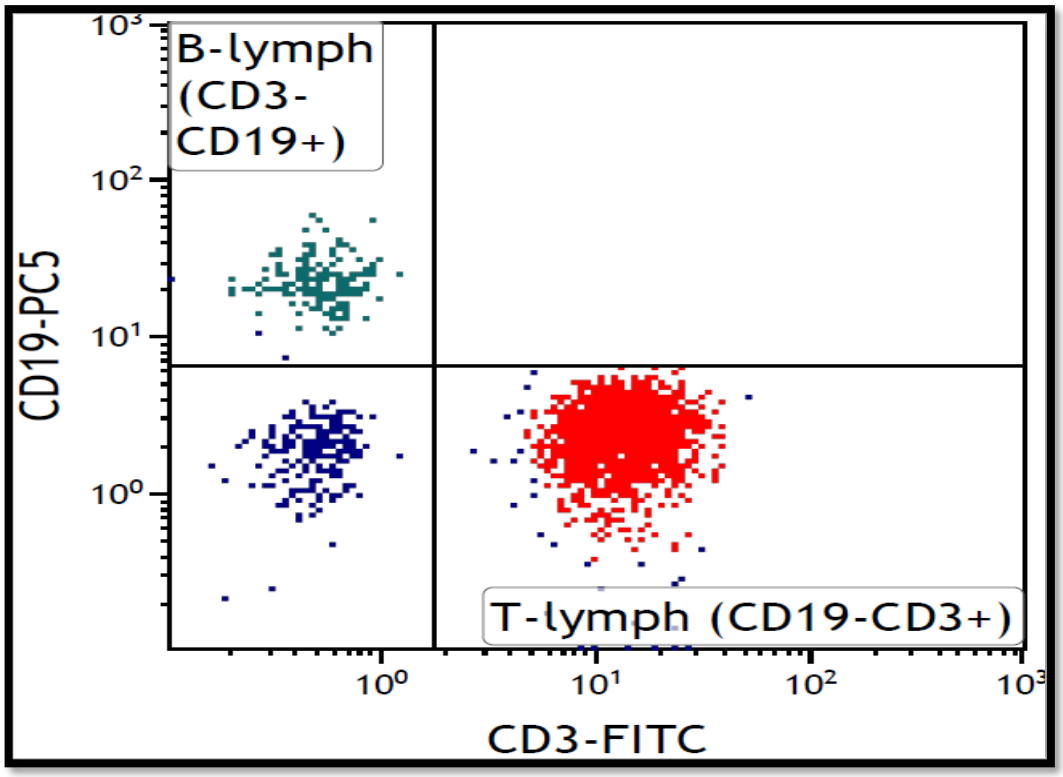
CD16	–	маркер, который в проточной цитометрии чаще всего используется для идентификации NK-клеток. Антиген CD16 позволяет им осуществлять антителозависимую клеточную цитотоксичность. Нейтрофилы также экспрессируют CD16 очень интенсивно. Именно поэтому при анализе лимфоцитов важно гейтирование по CD45/SSC, чтобы отсечь гранулоциты. Небольшая популяция «неклассических» моноцитов также экспрессирует CD16+.
CD19	–	ключевой маркер В-лимфоцитов. Он появляется на самых ранних стадиях развития В–клеток в костном мозге и сохраняется на мембране до момента превращения в плазматическую клетку
HLA-DR	–	антиген главного комплекса гистосовместимости человека II класса. Участвует в презентации чужеродных пептидов Т-клеточному рецептору Т-лимфоцитов. Экспрессия этой молекулы характерна для профессиональных антигенпредставляющих клеток, например, дендритных клеток, моноцитов, макрофагов, В-лимфоцитов и др. В данной комбинации маркер HLA DR использован для выделения активированных Т-лимфоцитов.

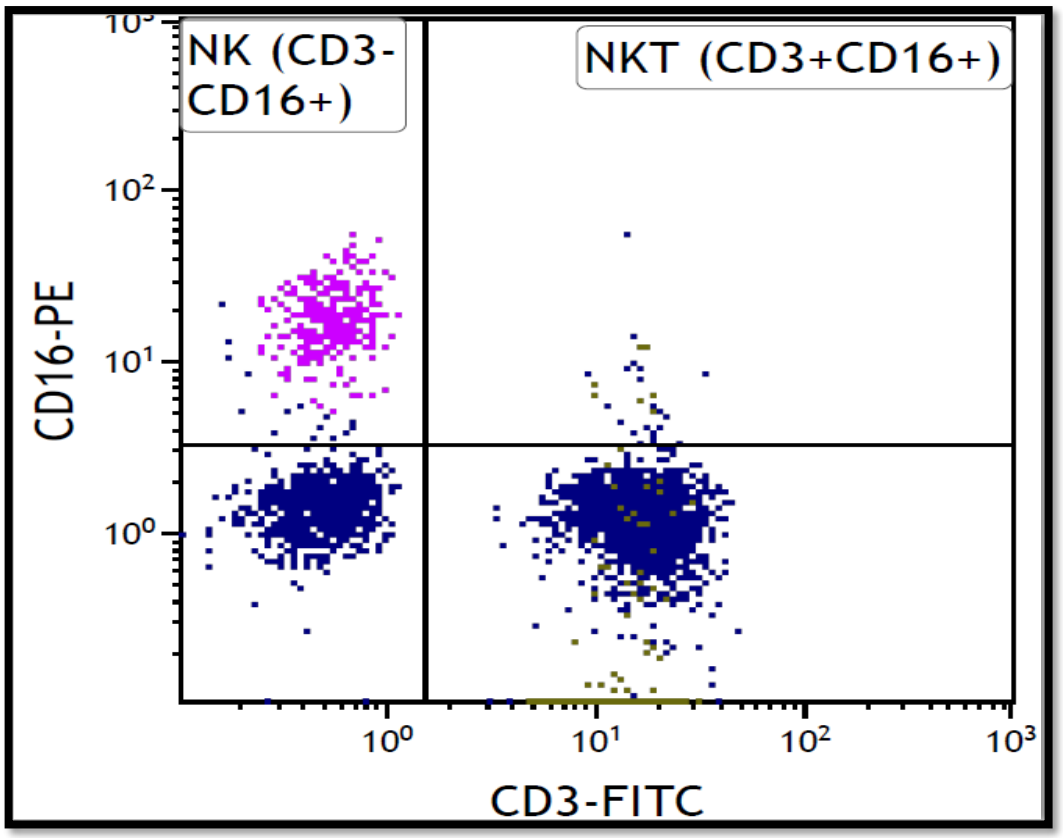
Стратегия гейтирования включала последовательное выделение лимфоцитов по параметрам FSC/SSC, исключение дуплетов в координатах FSC-A/FSC-H и отбор CD45+ событий. Вначале на гистограмме по параметрам прямого FS и бокового SS светорассеяния отсекали дебрис. Затем выделяли область исследования, где находятся лимфоциты: клетки ярко позитивные по экспрессии пан-лейкоцитарного антигена CD45 с низкими показателями бокового светорассеяния. Т-лимфоциты идентифицировали как CD3+ клетки с последующим разделением на CD3+CD4+ и CD3+CD8+, В-лимфоциты определяли как CD3-CD19+, NK-клетки и NKT-клетки верифицировали по экспрессии CD3-CD16+CD56+ и CD3+CD16+CD56+ соответственно. Для оценки уровня системной активации иммунной системы анализировали экспрессию маркера HLA-DR на субпопуляциях Т-лимфоцитов. Активированными считали Т-хелперы и Т-цитотоксические лимфоциты с фенотипом CD3+CD4+HLA-DR+ и CD3+CD8+HLA-DR+ соответственно (Таблица 7).

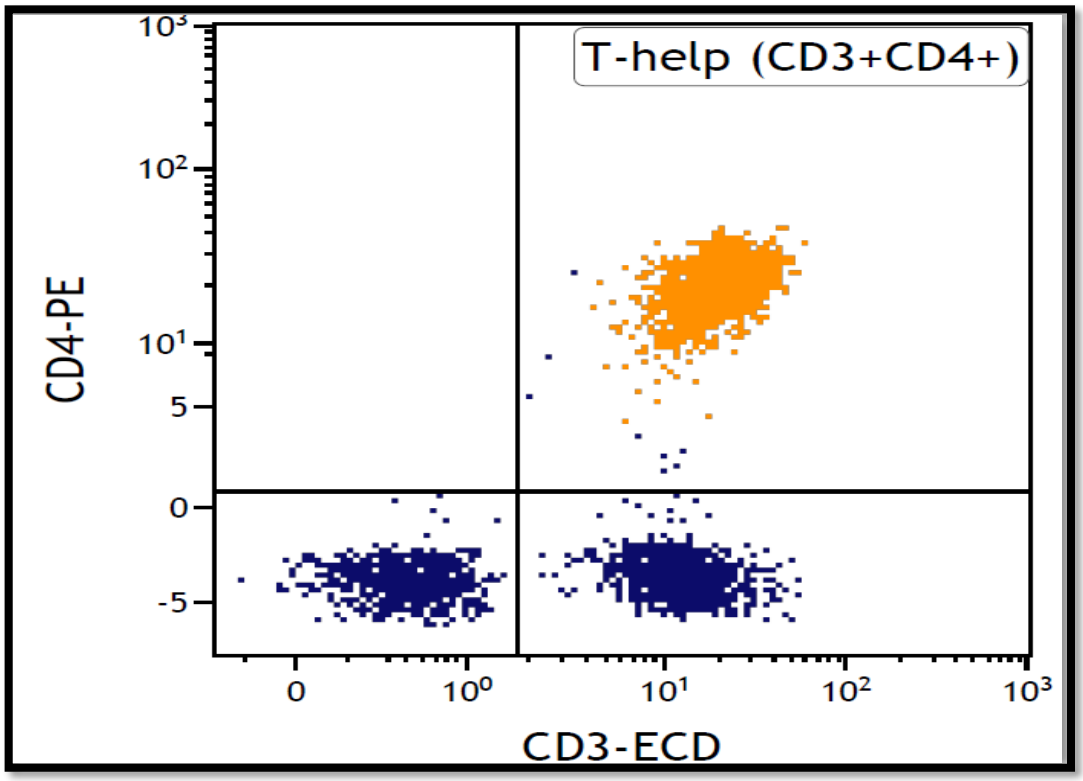
Таблица 7 – Идентификационные маркеры субпопуляций лимфоцитов

Иммунофенотип	Субпопуляция лимфоцитов
CD3+	Т-лимфоциты
CD3+CD4+	Т-хелперы
CD3+CD8+	Т-цитотоксические лимфоциты
CD3+CD4+HLA-DR+/ CD3+CD8+HLA-DR+	Активированные Т-хелперы и Т-цитотоксические лимфоциты
CD19+	В-лимфоциты
CD3-CD16+CD56+	NK-клетки
CD3+CD16+CD56+	NKT-клетки

На Рисунке 3 представлены примеры стратегии гейтирования основных субпопуляций лимфоцитов. Обработку полученных результатов и гейтирование популяций после сбора событий всех проб образца проводили в программе Kaluza Analysis (Beckman Coulter, США).




NK (CD3-CD16+)
NKT (CD3+CD16+)
CD16-PE
CD3-FITC
10^0
10^1
10^2
10^3


T-help (CD3+CD4+)
CD4-PE
CD3-ECD
10^3
10^2
10^1
5
0
-5
10^0
10^1
10^2
10^3

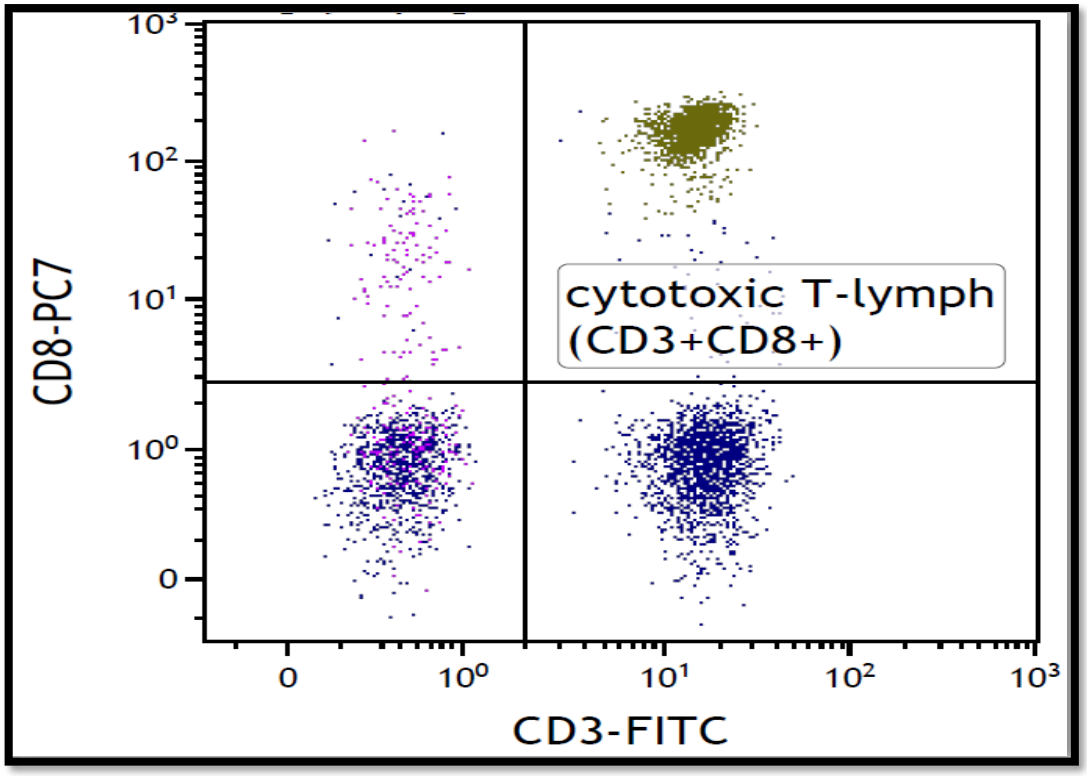


Рисунок 3 – Стратегия гейтирования основных субпопуляций лимфоцитов.

Примечание: B-lymph верифицировались по отсутствию Т-клеточного маркера CD3 и по выраженной экспрессии CD19 (фенотип CD3-CD19+), T-Lymph определялись по коэкспрессии общего Т-линейного маркера CD3 при отсутствии молекулы CD19 (фенотип CD3+CD19-), NK-клетки идентифицировались в негативном по CD3 регионе по сочетанной экспрессии рецепторов CD16 и CD56 (фенотип CD3-CD16+CD56+), NKT-клетки регистрировались как субпопуляция, одновременно экспрессирующая маркер CD3 и маркеры NK-клеток (фенотип CD3+CD16+ CD56+). Т-хелперы дифференцировались внутри пула Т-лимфоцитов по наличию корецептора CD4 (фенотип CD3+CD4+), цитотоксические Т-лимфоциты определялись в CD3-положительном гейте по экспрессии молекулы CD8 (фенотип CD3+CD8+)

2.2.3 Определение концентрации цитокинов в сыворотке крови

Содержание в сыворотке цитокинов IL-1β, IL-6, IL-10 и фактора некроза опухоли α (TNF-α) определяли количественным иммуноферментным методом, согласно инструкции с использованием тест-систем «Вектор-БЕСТ» (Россия). Для определения концентрации цитокинов методом твердофазного иммуноферментного анализа образцы периферической крови собирали в вакуумные пробирки с активатором свертывания (SiO2) и разделительным гелем.

Для формирования полноценного фибринового сгустка пробирки выдерживали в вертикальном положении при комнатной температуре (20±2°С) в течение 30–60 минут. Затем образцы центрифугировали при 3000 g в течение 10 минут. Полученную сыворотку аликвотировали в эппендорфы объемом 1,0 мл и хранили при температуре –80°С до момента проведения исследования. Повторные циклы замораживания-оттаивания образцов исключались.

Определение IL-1β, IL-6, IL-10 и TNF-α осуществляли в соответствии с инструкцией производителя с помощью трехстадийного «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов для иммуноферментного определения концентрации цитокинов «Интерлейкин-1β-ИФА-БЕСТ» (Вектор Бест, Россия), «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ» (Вектор Бест, Россия), «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ» (Вектор Бест, Россия) и «альфа-TNF-ИФА-БЕСТ» (Вектор-Бест, Россия), предназначенных для количественного определения содержания аналитов в образцах. Чувствительность наборов составила от 1,0 пг/мл до 2,0 пг/мл, данные представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Чувствительность и референсные значения наборов для определения содержания цитокинов в сыворотке крови

Показатель	Чувствительность (пг/мл)	Референсное значение (пг/мл)
IL-1β	1,0	0–5,0
IL-6	2,0	0–10,0
IL-10	1,0	0–9,1
TNF-α	1,0	0–8,2

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы сыворотки крови инкубировали в лунках планшета с иммобилизованными антителами к соответствующим цитокинам. Имеющийся в образцах цитокин связывался с иммобилизованными антителами. Несвязавшийся материал удалялся отмывкой. Связавшийся биомаркер взаимодействовал при инкубации с конъюгатом №1. Несвязавшийся конъюгат №1 удалялся отмывкой. На третьей стадии связавшийся

конъюгат №1 взаимодействовал при инкубации с конъюгатом №2 (стрептовидин с пероксидазой хрена). Несвязавшийся конъюгат №2 удалялся отмывкой. Количество связавшегося конъюгата №2 определяли цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы хрена – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна количеству содержащегося в образце исследуемого цитокина.

Измерение величины оптической плотности растворов в лунках стрипов проводили на спектрофотометре вертикального сканирования Sunrise Tecan, Австрия, с основным фильтром 450 нм через 2-3 минуты после остановки реакции. По окончании измерения строили калибровочный график зависимости оптической плотности (ось ординат) от концентрации каждого из цитокинов (ось абсцисс) в калибровочных образцах. В дальнейшем по калибровочному графику определяли концентрацию искомого цитокина в контрольном материале и анализируемых образцах. Условием правильности выполнения исследований являлось попадание значения концентрации искомого биомаркера в контрольном образце, вычисленное по калибровочному графику, в пределы, указанные на этикетке флакона. Все аналиты были определены в соответствии с инструкциями производителя наборов, изменений в методику не вносилось.

2.2.4 Определение концентрации циркулирующих иммунных комплексов

Концентрацию ЦИК в сыворотке крови определяли общепринятым методом жидкофазной турбидиметрии (метод преципитации в растворе полиэтиленгликоля ПЭГ-6000) [8].

Забор периферической крови проводили в вакуумные системы с активатором свертывания (SiO2) без антикоагулянтов. После формирования полноценного фибринового сгустка (45–60 мин при комнатной температуре) образцы центрифугировали при 2000 g в течение 15 мин. Метод основан на селективной преципитации антиген-связанных иммуноглобулинов в 3,50% или 3,75% растворе ПЭГ-6000 в боратном буфере (pH 8,4). Регистрацию интенсивности

светорассеяния (оптической плотности) проводили на автоматическом фотометре для микропланшет, модель 680 (BIO-RAD, США) в сравнении с контрольными ячейками, не содержащими исследуемые сыворотки, при длине волны 450 нм. Результаты выражали в условных единицах (у.е.). К исследованию допускались только прозрачные образцы сыворотки без признаков гемолиза и липемии.

2.2.5. Определение антител класса G к SARS-CoV-2

Определение антител (АТ) класса G к SARS-CoV-2 проводили в сыворотке крови методом трехстадийного «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-системы «SARS-CoV-2-IgG количественный ИФА-БЕСТ» (Вектор-БЕСТ, Россия). Результаты оценивали в соответствии с прилагаемой инструкцией к тест-системе в предложенных ВОЗ единицах BAU/мл (Binding Antibody Units). Были установлены следующие критерии оценки: 0-10 BAU/мл – результат отрицательный; 11-79 BAU/мл – малое количество АТ; 80-149,9 BAU/мл – промежуточный результат («среднее количество АТ»); 150-499 BAU/мл – результат положительный; 500 BAU/мл и более – «гиперпродукция». Критерии структурированы в Таблице 9. Учет результатов осуществляли на автоматическом фотометре для микропланшет, модель 680 (BIO-RAD, США).

Таблица 9 – Референсные интервалы и критерии оценки уровня антител класса G к SARS-CoV-2

Концентрация IgG, BAU/мл	Интерпретация результата	Клиническое значение
0-10	Отрицательный	АТ не обнаружены
11-79	Малое количество АТ	Низкий уровень гуморального ответа
80-149,9	Промежуточный	Средний уровень гуморального ответа
150-499	Положительный	Высокий уровень гуморального ответа
500 и более	Гиперпродукция	Экстремально высокий уровень гуморального ответа

2.2.6 Иммуногенетическое исследование

Геномная ДНК выделялась из ядросодержащих клеток периферической крови с использованием набора реагентов DNA BOX 500 (Protrans, Германия). Оценка количества и качества выделенной ДНК осуществлялась методом спектрофотометрии с помощью спектрофотометра NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, США). Качество выделенной ДНК оценивалось по соотношению оптических плотностей при длинах волн 260/280 нм. Конечная концентрация выделенной ДНК составляла 20-30 нг/мкл. Нормативный диапазон соотношения оптических плотностей 1,6 – 1,8.

HLA-типирование генов *HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1* базового уровня разрешения выполнялось методами полимеразной цепной реакции с использованием сиквенс-специфичных праймеров (PCR-SSP) и полимеразной цепной реакции с использованием сиквенс-специфичных олигонуклеотидных проб (PCR-SSOP).

При проведении исследований методом PCR-SSP применяли коммерческие наборы реагентов фирмы Protrans (Германия) – PROTRANS *HLA-A*/B*/DRB1** Cyclerplate System, PROTRANS *HLA-C** Cyclerplate System, PROTRANS *HLA-DQB1** Cyclerplate System. Визуализацию продуктов, полученных в результате полимеразной цепной реакции, выполняли с помощью электрофореза в 2% агарозном геле. Интерпретацию результатов осуществляли с помощью таблиц, прилагаемых к набору праймеров.

При проведении исследований методом PCR-SSOP применяли коммерческие наборы реагентов BAG HEALTH CARE (Германия). Процедура гибридизации для проведения PCR-SSOP проводилась в автоматическом режиме с помощью прибора Mr SPOT (BAG Diagnostics GmbH, Германия). Для анализа полученных результатов применялось программное обеспечение HISTO MATCH (BAG Diagnostics GmbH, Германия).

Частоты групп HLA-аллелей определялись методом максимального правдоподобия при помощи алгоритма максимизации ожидания с использованием программного обеспечения Arlequin 3.5.

2.2.7 Статистические методы

Накопление и систематизация полученных клинико-лабораторных данных выполнялись в электронных таблицах Microsoft Excel (Microsoft Corp., США). Статистическая обработка результатов исследования осуществлена с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США). Перед началом статистического анализа проводилась проверка характера распределения всех количественных признаков (включая показатели возраста пациентов и лабораторные параметры). Для оценки соответствия закону нормального распределения применяли критерий Шапиро-Уилка, учитывая объемы исследуемых выборок и подгрупп.

Описательная статистика качественных (номинальных) и порядковых (ординальных) признаков представлена в виде абсолютных частот (n) и относительных величин (процентных долей, %). Сравнение распределения частот качественных признаков в независимых группах выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона, а при наличии малых частот (менее 5 наблюдений в любой из ячеек таблицы сопряженности) — с использованием точного критерия Фишера. Для количественных признаков с распределением, отличным от нормального, рассчитывали медиану, минимальные и максимальные значения.

При проведении иммуногенетического исследования для сравнения частот групп HLA-аллелей использован двухсторонний точный критерий Фишера. При проведении многофакторного анализа применен метод логистической регрессии.

Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости при проверке нулевых гипотез (p) принимали равным 0,05. Статистически достоверными считали различия при значимостях $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

3.1 Частота и особенности инфекционных осложнений у пациентов с В-клеточными лимфопролиферативными новообразованиями

Для изучения ассоциации частоты инфекционных осложнений с типом противоопухолевой терапии был проведен ретроспективный анализ историй болезни 94 пациентов с В-ЛПЗ, которые были госпитализированы в клинику ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России в период 2020-2021 гг. В этой группе было зарегистрировано 32 инфекционных осложнения, что составило 34,0% от общего числа обследованных (Рисунок 4).

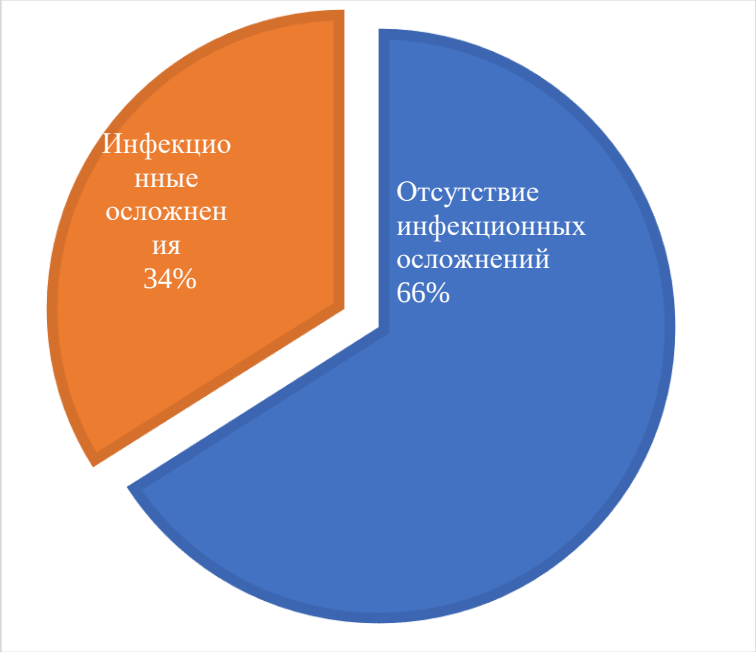


Рисунок 4 – Общая частота развития инфекционных осложнений у больных В-ЛПЗ

При анализе частоты развития инфекционных эпизодов в зависимости от нозологической формы заболевания было установлено, что у больных В-ХЛЛ инфекционные события развивались статистически значимо чаще, чем в группе пациентов с НХЛ: 44,8% (30 из 67 человек) против 7,4% (2 из 27 человек) соответственно ($p < 0,01$).

В структуре инфекционной патологии у 67 больных В-ХЛЛ было выявлено 30 (44,8%) инфекционных эпизодов, в том числе 10 случаев новой коронавирусной инфекции, что составило 33,3% от общего числа зарегистрированных в этой группе осложнений.

Сравнительный анализ частоты встречаемости инфекций у пациентов В-ХЛЛ и НХЛ с учетом характера проводимой противоопухолевой терапии показал, что в группе В-ХЛЛ инфекционные события распределились следующим образом: у пациентов до начала специфического лечения – 12 из 27 случаев (44,4%), на фоне приема ибрутиниба – 6 из 12 случаев (50,0%), а при получении стандартных режимов химиотерапии – 12 из 28 наблюдений (42,9%). При этом внутри нозологической группы В-ХЛЛ частота развития инфекционных осложнений не зависела от характера и факта проведения терапии ($p > 0,05$ по критерию Хи квадрат Пирсона).

Среди 27 больных НХЛ было отмечено лишь 2 инфекционных эпизода: 1 случай из 5 (20,0%) развился у пациента до начала терапии и 1 случай из 21 (4,8%) — на фоне проведения стандартных программ лечения. Сопоставление нозологических форм выявило, что при получении аналогичной стандартной химиотерапии у больных В-ХЛЛ инфекционная нагрузка была статистически значимо выше, чем у пациентов с НХЛ (42,9% против 4,8% соответственно, $p < 0,01$). Подробные данные по распределению инфекционных осложнений с учетом нозологий и терапевтической тактики сведены в Таблице 10 и на Рисунке 5.

Таблица 10 – Частота развития инфекционных осложнений у больных В-ЛПЗ в зависимости от вида терапии

Вид терапии	Больные В-ХЛЛ (n = 67)	Больные НХЛ (n = 27)
Без специфического лечения	12 из 27 (44,4%)	1 из 5 (20,0%)
Стандартная ПХТ	12 из 28 (42,9%)[1]	1 из 21 (4,8%)[1]
Монотерапия ибрутинибом	6 из 12 (50,0%)	0 из 1 (0,0%)
Всего инфекционных эпизодов	30 из 67 (44,8%)[1]	2 из 27 (7,4%)[1]

Примечание –[1] точный критерий Фишера, $p < 0,01$ для сравниваемых групп В-ХЛЛ и НХЛ

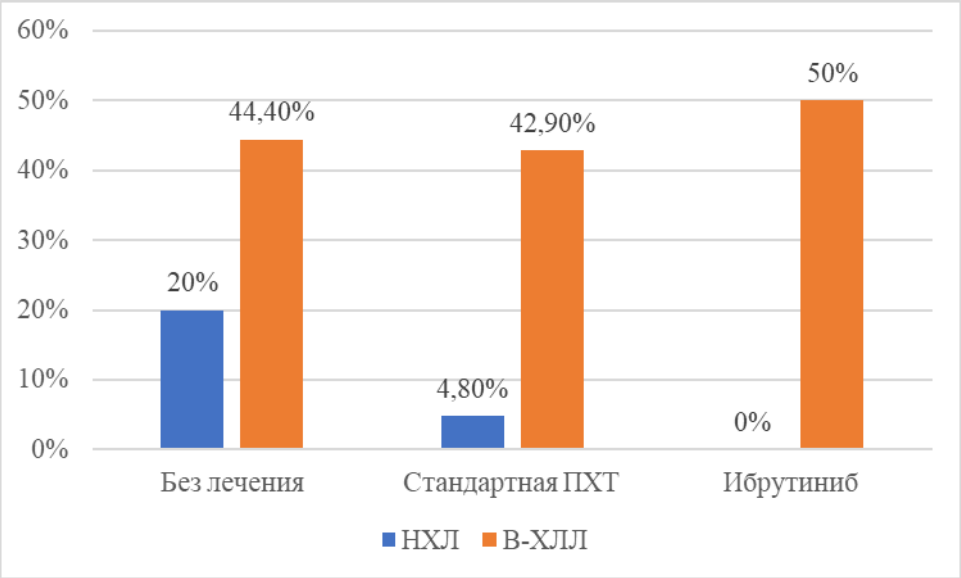


Рисунок 5 – Сравнительный анализ частоты развития инфекционных осложнений у больных В-ХЛЛ и НХЛ в зависимости от вида терапии

Помимо COVID-19 наблюдались следующие инфекционные осложнения: ОРВИ, герпес, пневмония, бронхопневмония, ларингит, ларинготрахеит, фарингит, тонзиллит, гайморит, синусит.

При детальном анализе структуры инфекционной патологии в зависимости от характера проводимого лечения у больных В-ХЛЛ было установлено, что в группе пациентов, получавших таргетную монотерапию ибрутинибом, частота инфекционных осложнений составила 50,0% (6 из 12 человек), при этом на долю новой коронавирусной инфекции COVID-19 приходился 1 случай (16,7%) от числа всех инфекций в данной подгруппе, или 8,3% от общего количества больных, принимавших ингибиторы ВТК.

В подгруппе пациентов, находившихся на стандартных режимах ПХТ, было отмечено 12 инфекционных событий из 28 (42,9%), однако во всех случаях это были инфекции бактериальной и грибковой этиологии, случаев COVID-19 в данном периоде зафиксировано не было (0,0%). В группе пациентов до начала специфического лечения частота инфекционных эпизодов составила 44,4% (12 из 27 человек), при этом 75% осложнений (9 случаев), было вызвано вирусом SARS-CoV-2, что соответствует 33,3% от общего числа нелеченых больных В-ХЛЛ.

При сопоставлении частоты встречаемости COVID-19 у больных В-ХЛЛ было установлено, что наиболее высокая частота инфицирования вирусом SARS-CoV-2 наблюдалась у пациентов до начала специфического лечения (33,3%), тогда как на фоне приема ибрутиниба частота развития COVID-19 составила 8,3% ($p < 0,05$), что может быть обусловлено избирательным иммуномодулирующим и противовоспалительным эффектом ингибиторов BTK. Примечательно, что среди пациентов на стандартных режимах ПХТ заболеваемость составила 0,0%, что обусловило статистически достоверную разницу при сравнении с нелеченой когортой ($p < 0,05$). Данный факт, вероятно, объясняется строгой изоляцией и превентивным стационарным режимом больных, проходящих ПХТ.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о более благоприятном течении вирусной инфекции на фоне таргетного лечения и согласуются с актуальными данными литературы о потенциальном протективном и иммуномодулирующем действии ингибиторов BTK при инфекции SARS-CoV-2, способствующих предотвращению развития гипервоспалительного ответа [60; 144]

3.2 Определение антител к SARS-CoV-2 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями

У пациентов с онкогематологическими заболевания сведения о степени тяжести перенесенного заболевания в анамнезе имелись не для всей группы, а лишь для 50 человек. Из них у 34 (68,0%) пациентов наблюдалось легкое течение и у 16 (32,0%) было среднетяжелое / тяжелое течение. Данные представлены в Таблице 11.

Таблица 11 – Образование АТ к SARS-CoV-2 у онкогематологических пациентов в зависимости от степени тяжести

Уровень АТ к SARS-CoV-2	Пациенты с тяжелым / среднетяжелым течением, n=16		Пациенты с легким течением, n=34		P
	n	%	n	%	
Низкий	5	31,2	8	23,5	0,73
Защитный	3	18,8	12	35,3	0,33
Повышенный	8	50,0	14	41,2	0,76

Низкий уровень АТ в группе с тяжелым / среднетяжелым течением встречается несколько чаще (31,2%), чем при легкой форме (23,5%). Защитный уровень регистрируется у пациентов с легким течением почти в 2 раза чаще, чем у лиц с тяжелым / среднетяжелым течением (35,3% против 18,8%). Это может указывать на то, что более эффективный первоначальный иммунный ответ способствовал более легкому течению болезни. Повышенный уровень выявляется у половины пациентов (50,0%) с тяжелой / среднетяжелой формой, в то время как в группе с легким течением этот показатель составляет 41,2%, что может быть связано с гиперактивацией иммунной системы при тяжелом течении.

Содержание анти-SARS-CoV-2 антител определяли у онкогематологических пациентов разных возрастных групп и значимых различий не зафиксировано, данные представлены в Таблице 12.

Таблица 12 – Образование АТ к SARS-CoV-2 у онкогематологических пациентов различных возрастных групп

Уровень АТ к SARS-CoV-2	Пациенты моложе 64 лет, n=27		Пациенты 64 лет и старше, n=32		P
	n	%	n	%	
Низкий	11	40,7	7	21,9	0,16
Защитный	3	11,1	10	31,2	0,11
Повышенный	13	48,2	15	46,9	1

В ходе анализа образования АТ к SARS-CoV-2 у пациентов женского и мужского пола существенные отличия сравниваемых показателей также не выявлены (Таблица 13). Низкий уровень АТ наблюдался у 36,7% женщин и 24,1% мужчин (p=0,40).

Таблица 13 – Образование АТ к SARS-CoV-2 у онкогематологических пациентов в зависимости от пола

Уровень АТ к SARS-CoV-2	Женщины, n=30		Мужчины, n=29		P
	n	%	n	%	
Низкий	11	36,7	7	24,1	0,40
Защитный	7	23,3	6	20,7	1
Повышенный	12	40	16	55,2	0,24

При сравнении антителообразования у пациентов с различными В-ЛПЗ достоверные различия анализируемых показателей по нозологическим подгруппам не установлены (Таблица 14). Независимо от вида заболевания (ММ, НХЛ, В-ХЛЛ), повышенный уровень АТ определялся у обследованных пациентов несколько чаще, чем низкий (<150 BAU/мл) или защитный (≥ 150 – <500 BAU/мл) уровни.

Таблица 14 – Образование АТ к SARS-CoV-2 у пациентов с различными В-ЛПЗ

Уровень АТ к SARS-CoV-2	ММ[1], n=37		НХЛ[2], n=18		В-ХЛЛ[3], n=4		$P^{1,2}$	$P^{1,3}$	$P^{2,3}$
	n	%	n	%	n	%			
Низкий	11	29,7	7	38,9	0	0	0,55	-	-
Защитный	10	27	2	11,1	1	25	0,30	1	0,47
Повышенный	16	43,3	9	50	3	75	0,77	0,32	0,59

Результаты, полученные при изучении образования АТ в зависимости от вида терапии онкогематологического заболевания, представлены в Таблице 15. Снижение уровня АТ чаще наблюдалось у пациентов, получавших терапию с использованием даратумумаба (44,4% случаев). Среди больных, находившихся на

стандартных режимах ПХТ, снижение антителообразования встречалось реже (15% случаев, p <0,05).

Таблица 15 – Образование АТ к SARS-CoV-2 в зависимости от терапии В-ЛПЗ

Уровень АТ к SARS-CoV-2	Химиотерапия[1], n=20		Терапия с применением ритуксимаба[2], n=15		Терапия с применением даратумумаба[3], n=18		$P^{1,2}$	$P^{1,3}$	$P^{2,3}$
	n	%	n	%	n	%			
Низкий	3	15,0	4	26,7	8	44,4	0,43	0,04	0,47
Защитный	6	30,0	2	13,3	4	22,2	0,42	0,72	0,66
Повышенный	11	55,0	9	60	6	33,4	1	0,21	0,17

Два пациента на терапии с применением обинутузумаба имели низкий уровень АТ, из них первый пациент перенес заболевание COVID-19, второй – COVID-19 и вакцинацию. У больного, получавшего на разных этапах терапии ритуксимаб и обинутузумаб, был определен защитный уровень антител, сформировавшийся в результате перенесенной новой коронавирусной инфекции. Из трех пациентов без лечения два имели повышенный уровень АТ как результат вакцинации, у одного пациента, перенесшего и вакцинацию, и COVID-19, был установлен низкий уровень антител.

При анализе антителообразования в зависимости от события, вызывавшего иммунный ответ (Таблица 16), установлено, что повышенный уровень антител значительно чаще наблюдался среди вакцинированных пациентов по сравнению с переболевшими COVID-19 (90% против 26%, p = 0,0007). Также отмечалась тенденция большей распространенности повышенного уровня антител у переболевших / вакцинированных пациентов по сравнению с только переболевшими COVID-19 (54,6% против 26%, p = 0,08).

Таблица 16 – Образование АТ к SARS-CoV-2 у онкогематологических пациентов в зависимости от события, вызвавшего иммунный ответ

Уровень АТ к SARS-CoV-2	Переболев-шие COVID-19[1], n=27		Вакцинированные[2], n=10		Переболевшие /вакцинированные[3], n=22		$P^{1,2}$	$P^{1,3}$	$P^{2,3}$
	n	%	n	%	n	%			
Низкий	10	37	1	10	7	31,8	0,22	0,77	0,38
Защитный	10	37	0	0	3	13,6	-	0,10	-
Повышенный	7	26	9	90	12	54,6	0,0007	0,08	0,11

Таким образом, представленные выше данные доказывают, что у пациентов с онкогематологическими заболеваниями наблюдается ряд особенностей реагирования иммунной системы на инфекцию, вызванную вирусом SARS-CoV-2, свидетельствующих о нарушении регуляции гуморального иммунитета.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ БЕЗ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

4.1 Оценка показателей клеточного и гуморального иммунитета у лиц без гематологических заболеваний, перенесших инфекцию COVID-19

В рамках оценки иммунного статуса обследуемых пациентов был проведен комплексный анализ клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Состав субпопуляций лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD25+, HLA-DR+) изучался методом проточной цитометрии. Состояние гуморального ответа оценивалось по уровню сывороточных иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM) и концентрации циркулирующих иммунных комплексов различной молекулярной массы (ЦИКн, ЦИКср). Цитокиновый профиль (IL-1β, IL-6, IL-10, TNF-α) исследовался методом ИФА. Полученные лабораторные показатели сопоставлялись с результатами клинического анкетирования, в котором учитывались такие характерные для инфекции COVID-19 клинические симптомы, как нарушения обоняния и вкуса, абдоминальный синдром, кожный синдром (сухость и шелушение кожи).

Основные результаты, полученные при изучении показателей клеточного иммунитета у лиц без заболеваний системы крови, перенесших инфекцию COVID-19, в зависимости от степени тяжести перенесенного заболевания, представлены в Таблице 17.

Таблица 17 – Состав субпопуляций лимфоцитов у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в зависимости от степени тяжести заболевания

	CD3+ (%)	CD3+ CD4+ (%)	CD3+ CD8+ (%)	CD3+ DR+ (%)	CD16+ (%)	CD19+ (%)	CD25+ CD4+ (%)	CD3+ CD16+ (%)
Легкая форма n=63 (I)	74,4 ± 1,2	45,4 ± 1,2	26,3 ± 1,1	4,2 ± 0,2	12,5 ± 0,8	10,2 ± 0,7	3,4 ± 0,2	3,5 ± 0,3
Среднетяжелая / тяжелая форма n=63 (II)	69,7 ± 1,7	44,7 ± 1,6	23,1 ± 1,4	7,8 ± 0,4	12,9 ± 1,0	13,3 ± 1,2	4,0 ± 0,2	3,2 ± 0,4
Доноры n=52 (III)	68,6 ± 1,1	42,6 ± 1,1	24,0 ± 0,9	3,9 ± 0,2	12,4 ± 1,0	13,9 ± 0,9	1,9 ± 0,2	4,6 ± 0,5
p_{I-III}	<0,001	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	<0,001	<0,01	н.д.
p_{II-III}	н.д.	н.д.	н.д.	<0,01	н.д.	н.д.	<0,001	н.д.

н.д. – различия недостоверны

Сравнение иммунологических показателей среди пациентов с различной степенью тяжести заболевания и группы здоровых доноров выявило ряд значимых изменений субпопуляционного состава лимфоцитов. Было установлено статистически значимое увеличение относительного содержания Т-лимфоцитов (CD3+) в группе с легкой формой заболевания – 74,4% и 68,6% соответственно (p <0,001), Treg (CD25+CD4+) – 3,4% и 1,9% соответственно (p <0,05), и снижение содержания В-лимфоцитов (CD19+) – 10,02% и 13,9% соответственно (p <0,001). У пациентов со среднетяжелым / тяжелым течением заболевания наблюдались более значимые иммунологические сдвиги: повышение содержания Treg носило еще более выраженный характер, а также наблюдалось увеличение относительного содержания клеток с фенотипом CD3+HLA-DR+, соответствующим поздней активации Т-лимфоцитов – 7,8 ± 0,4% против 3,9 ± 0,2% в группе доноров (Рисунок 6 – 7).

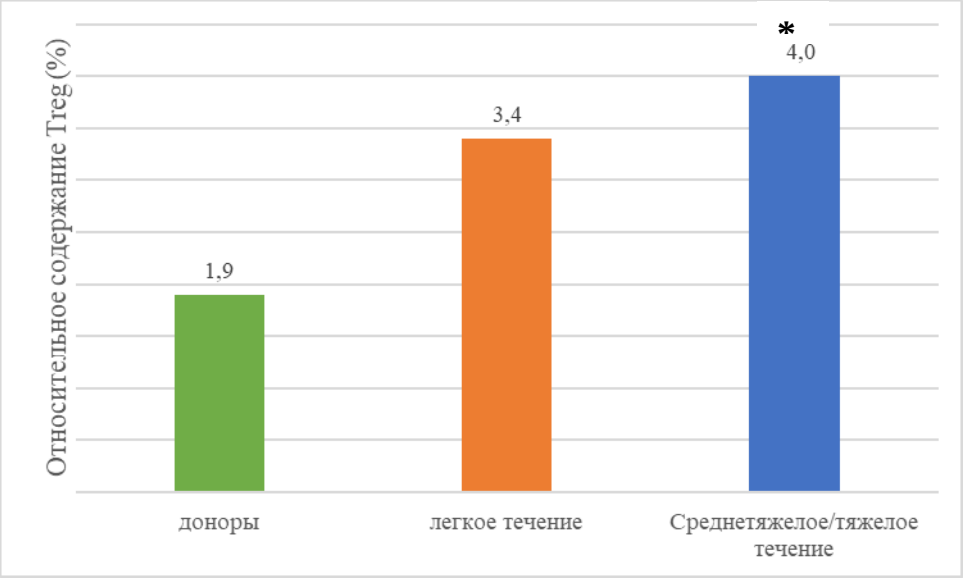


Рисунок 6 – Изменение относительного содержания Treg CD4+CD25+ (%) в зависимости от тяжести течения заболевания

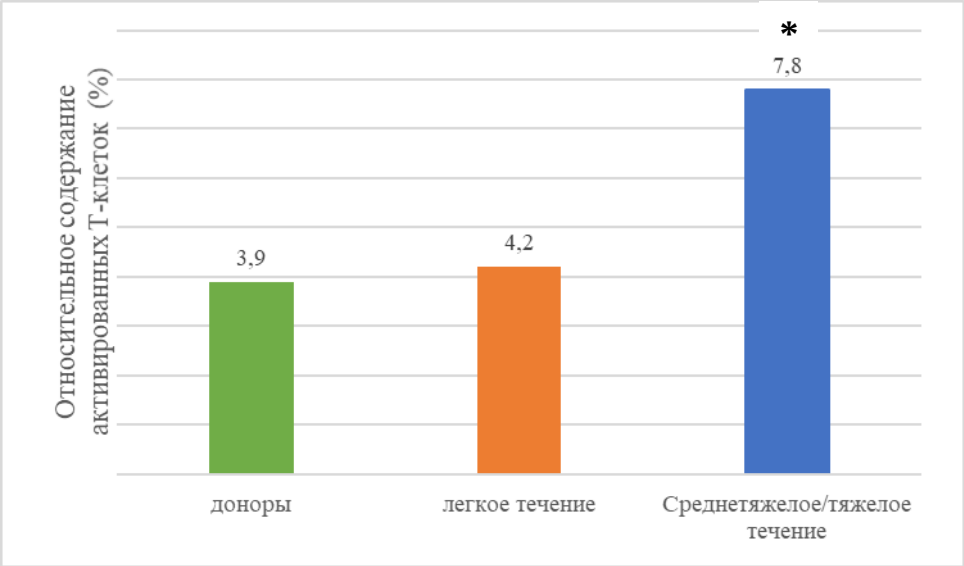


Рисунок 7 – Изменение относительного содержания активированных Т-клеток CD3+HLA-DR+ (%) в зависимости от тяжести течения заболевания

Полученные данные свидетельствуют о четкой зависимости иммунологических изменений от тяжести заболевания. Таким образом, легкое течение коронавирусной инфекции сопровождается умеренной активацией клеточного иммунитета (рост CD3+) и компенсаторным увеличением Treg. При этом отмечается подавление гуморального звена (снижение CD19+). Среднетяжелая и тяжелая формы заболевания характеризуются накоплением Treg, подавляющих эффекторные иммунные реакции, и увеличением активированных Т-клеток CD3+HLA-DR+, что сопряжено с риском их функционального истощения. Таким образом, динамика изменений иммунологических показателей отражает поэтапное нарушение регуляции иммунного ответа — от компенсаторных механизмов при легком течении заболевания до выраженной дисфункции при тяжелом течении. Вышеперечисленные изменения могут способствовать снижению эффективности иммунного надзора, прогрессированию основного заболевания, а также повышению риска инфекционных осложнений.

В группе с легким течением заболевания уровень CD3+ лимфоцитов был повышен в 50% случаев, снижен – в 12% и сохранялся в норме в 38% случаев, тогда как уровень CD19+ лимфоцитов, напротив, чаще оказывался снижен – в 74% случаев, в 6% он был повышен и в 20% – в норме. Сходные закономерности

наблюдались и у лиц со среднетяжелым течением: повышенный уровень CD3+ лимфоцитов отмечен чаще, чем сниженный – в 38% и в 20% случаев, соответственно, а в 42% случаев он сохранялся в норме. Однако при тяжелом течении заболевания, напротив, наиболее часто наблюдалось снижение уровня CD3+ лимфоцитов (в 44% случаев) и повышение уровня CD19+ – в 56%, при сохранении показателей в пределах нормы в 34% и 22% случаев, соответственно. Выявленные закономерности коррелируют с тяжестью заболевания. Для пациентов с легкой формой заболевания была характерна выраженная активация клеточного иммунитета на фоне супрессии гуморального звена, по-видимому, носит компенсаторно-приспособительный характер. У пациентов со среднетяжелой формой наблюдалась частичная стабилизация показателей как клеточного, так и гуморального звена. Среди пациентов с тяжелой формой заболевания было выявлено функциональное истощение Т-клеток на фоне повышения В-лимфоцитов, т.е., инверсия иммунорегуляторных механизмов. Таким образом, обнаруженные сдвиги указывают на постепенное истощение компенсаторных возможностей иммунной системы, а динамика уровней CD3+ и CD19+ лимфоцитов может рассматриваться в качестве прогностического биомаркера прогрессирования заболевания. Полученные нами данные согласуются с результатами исследования A. Aljuaid, в котором было установлено, что у пациентов с тяжелым течением коронавирусной инфекции на фоне резкого падения общего числа Т-клеток регистрируется парадоксальное увеличение количества CD19+ В-лимфоцитов в периферической крови [22].

В Таблице 18 представлены результаты определения сывороточных иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM) и концентрации ЦИКср и ЦИКн у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в зависимости от степени тяжести заболевания.

Таблица 18 – Показатели гуморального иммунитета у лиц, перенесших инфекцию COVID-19

	IgG (г/л)	IgA (г/л)	IgM (г/л)	ЦИКср (усл.ед.)	ЦИКн (усл.ед.)
Легкая форма n=63 (I)	10,1 ± 0,4	2,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	53,9 ± 3,1	331,1 ± 12,7
Среднетяж. форма n=55 (II)	10,1 ± 0,4	2,6 ± 0,3	1,3 ± 0,1	61,8± 3,8	362,8 ± 18,0
Тяж. форма n=8 (III)	10,1 ± 0,5	2,0 ± 0,4	1,3 ± 0,3	63,6 ± 7,0	325,4± 22,5
Доноры n=52 (IV)	10,3 ± 0,2	2,8 ± 0,1	1,5 ± 0,1	34,1 ± 3,6	122,5 ± 11,9
p_{I-IV}	н.д.	<0,01	н.д.	p<0,001	p<0,001
p_{II-IV}	н.д.	н.д.	н.д.	p<0,001	p<0,001
p_{III-IV}	н.д.	<0,05	н.д.	p<0,001	p<0,001

н.д. – различия недостоверны

Согласно полученным данным, наблюдалось снижение концентрации в сыворотке иммуноглобулина А, статистически достоверное в группах с легким течением, тяжелым течением относительно нормальных значений – 2,3 г/л, 2,0 г/л и 1,5 г/л. Во всех группах пациентов отмечено статистически значимое увеличение содержания циркулирующих иммунных комплексов по сравнению с группой контроля. Особенно значимым оказалось повышение уровня низкомолекулярных ЦИК, что может свидетельствовать о нарушении процессов элиминации иммунных комплексов и развитии хронического воспаления.

Повышенный уровень ЦИКн по сравнению с нормальными значениями наблюдался во всех обследованных группах пациентов, перенесших COVID-19, составляя 331,1 ± 12,7 усл. ед. в группе с легким течением, 362,8 ± 18,0 усл. ед. в группе со среднетяжелым течением, 325,4 ± 22,5 усл. ед. в группе с тяжелым течением против 122,5 ± 11,9 усл. ед. в норме. Особенно значительное повышение уровня ЦИКн – свыше 400 усл. ед – отмечено у 39 человек (30,5% от общей группы,

30,3% от числа обследованных лиц женского пола и 31% в группе обследованных мужчин). Среди них преобладали лица, перенесшие инфекцию COVID-19 в среднетяжелой форме – 23 человека, что составило 40,4% всех обследованных, перенесших COVID-19 средней степени тяжести Существенных различий по возрастному составу в подгруппе с наиболее высокими значениями ЦИК не имелось: медиана возраста 56 лет (от 29 до 83 лет) против 53 лет в общей группе гематологических заболеваний, перенесших COVID-19 (в 2,7–3,0 раза относительно нормы, p <0,001), подтверждает, что инфекция SARS-CoV-2 вызывает долгосрочные изменения в иммунной системе даже после клинического выздоровления. Согласно литературным данным, персистирующие вирусные антигены, в частности спайковый белок SARS-CoV-2, могут оставаться обнаруживаемыми в кровообращении или иммунных клетках в течение многих месяцев. Предполагается, что этот резервуар вирусного материала и поддерживает активацию иммунной системы, обеспечивая потенциальную механистическую связь между персистенцией антигена и хроническим воспалением при длительном

Таким образом, уровень ЦИКн может служить маркером сохраняющегося хронического воспаления, продолжающейся антигенной стимуляции, нарушения механизмов клиренса иммунных комплексов, а также потенциального риска развития аутоиммунных реакций. Важное клиническое значение имеет обнаружение подгруппы пациентов (30,5% от общей выборки) с уровнем ЦИКн свыше 400 усл. ед. Во-первых, такие пациенты могут иметь более высокий риск развития постковидного синдрома и аутоиммунных заболеваний. Во-вторых, преобладание среднетяжелого течения (40,4% пациентов) подтверждает роль умеренной, но продолжительной антигенной стимуляции в накоплении ЦИК. В-третьих, нами было установлено, что механизмы накопления ЦИКн не связаны с гендерными различиями. Схожий возрастной профиль в подгруппе с высокими ЦИКн (медиана 56 лет, диапазон 29–83 года) и общей группе (медиана 53 года) позволяет сделать следующие выводы: накопление ЦИКн обусловлено

преимущественно иммунными реакциями на вирус, а не возрастными изменениями иммунитета, риск формирования высоких уровней ЦИКн существует во всех возрастных категориях, включая молодых пациентов, что подчеркивает необходимость мониторинга ЦИКн вне зависимости от возраста пациента.

У ряда обследованных лиц в рамках общих тенденций было отмечено сохранение выраженных отклонений не только в первые месяцы после клинического выздоровления, но и в пределах полугода после него, что является важным аргументом в поддержку концепции постковидного синдрома как состояния с длительным дисбалансом иммунной системы. Наиболее часто определялось сохранение значительно повышенного (> 300 усл. ед) уровня ЦИКн, выявленное у 7 человек, причем 5 из них перенесли инфекцию в легкой форме и 2 – средней тяжести. У двоих обследованных оставалось повышенным (7% против 3,9 ± 0,8% в норме) содержание Т-клеток с маркерами поздней активации (CD3+HLA-DR+). У 2 обследованных в срок 6 месяцев отмечено значительное нарушение соотношения CD4+/CD8+ с повышением содержания CD4+ клеток (Т-хелперов). Связи выявленных отклонений с клиническими особенностями течения заболевания и постковидного периода выявить не удалось, что подчеркивает необходимость наблюдения за всеми переболевшими, независимо от тяжести перенесенной инфекции, для своевременного выявления групп риска и персонализации реабилитационных мероприятий.

Согласно клиническим данным, у 46,9% пациентов во время болезни и в постковидном периоде отмечались значительные нарушения обоняния и вкуса, у 26,6% – абдоминальные симптомы в виде болей в животе и диспептических явлений, сухость и шелушение кожи – у 39,8% обследованных. Полученные данные представлены в Таблице 19 и на Рисунке 8.

Таблица 19 – Распространенность клинических проявлений в постковидном периоде (n=128)

Клиническое проявление	Абсолютное количество пациентов	Частота встречаемости
Абдоминальный синдром	34	26,6%
Нарушение вкуса и обоняния	60	46,9%
Сухость и шелушение кожи	51	39,8%

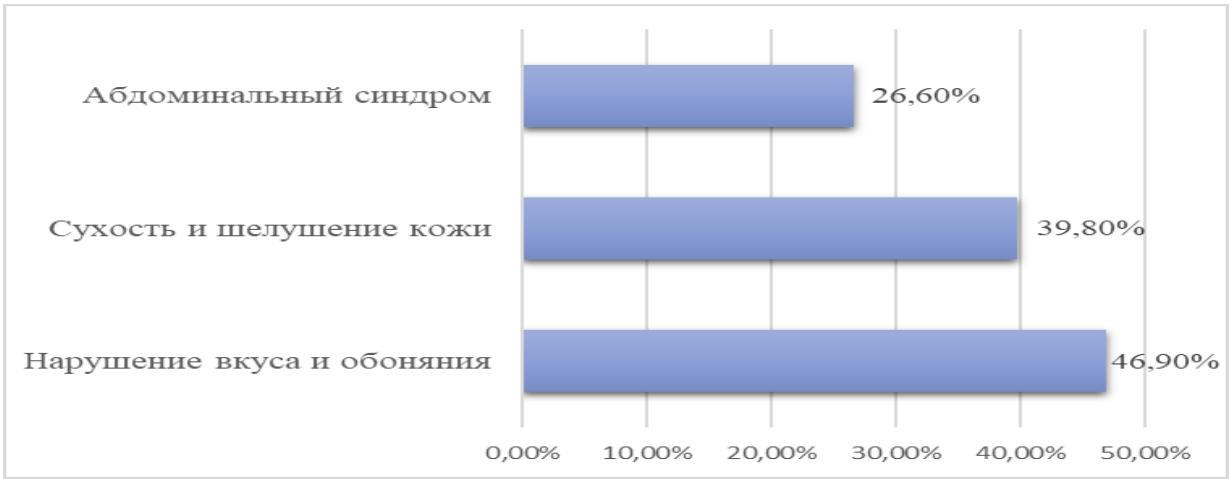


Рисунок 8 – Структура клинических проявлений у пациентов в постковидном периоде (n = 128)

Высокая частота нарушений обоняния и вкуса (46,9%) подтверждает нейротропность вируса, а отсутствие связи с уровнем ЦИКн свидетельствует о том, что этот симптом не зависит напрямую от выраженности иммунного ответа с образованием ЦИК, а скорее обусловлен прямым вирусным повреждением. У большей части опрошенных лиц перечисленные симптомы встречались в сочетании, что отражает мультисистемный характер поражения при коронавирусной инфекции. Убедительных различий по данным симптомам у перенесших COVID-19 в группе с повышением ЦИКн менее и более 400 усл. ед. не выявлено, за исключением сопровождавшего острый период болезни абдоминального синдрома, который в группе со значительным превышением ЦИК

встречался в 2 раза чаще. Данный феномен может отражать интенсивную репликацию вируса в ЖКТ, приводящую к массивному образованию иммунных комплексов, а также свидетельствовать о локальном воспалении в кишечнике, связанном с отложением ЦИК. В Таблице 20 представлены данные о частоте встречаемости отдельных клинических проявлений у лиц, перенесших COVID-19, в зависимости от уровня ЦИКн.

Таблица 20 – Связь частоты встречаемости отдельных клинических проявлений у лиц, перенесших COVID-19, с уровнем ЦИКн

Показатель ЦИКн (усл. ед.)	Абдоминальный синдром	Нарушение вкуса и обоняния	Кожные проявления
<400 (n = 89)	20,2%	46,1%	39,3%
>400 (n = 39)	41%	48,7%	41%

Что касается изменений в показателях клеточного иммунитета, то четких закономерностей и ассоциаций с клиническими данными отмечено не было. Тем не менее, обращали на себя внимание некоторые особенности после перенесенного COVID-19 у отдельных больных. Так, при сочетании сниженного относительного содержания CD3+ лимфоцитов с повышенным содержанием CD19+ лимфоцитов, что наблюдалось у 4 больных, трое из них (в возрасте от 62 до 65 лет) предъявляли жалобы на выраженную сухость и шелушение кожи и у двоих отмечалась выраженная алопеция. Среди лиц более молодого возраста один из обследованных, мужчина 44 лет, у которого значительное (до 49,1%) снижение содержания CD3+ лимфоцитов сочеталось со значительным повышением уровней ЦИКср и ЦИКн (102 усл. ед. и 520 усл. ед. соответственно), длительное время отмечал наряду с выраженной слабостью и когнитивными нарушениями также онемение пальцев рук и ног, головные боли, что можно расценить, как постковидные неврологические нарушения. У одной из пациенток 40 лет, особенностью которой было лишь снижение уровня CD3+ лимфоцитов, течение COVID-19 инфекции сопровождалось выраженными абдоминальными болями и длительными диспептическими явлениями в постковидном периоде. Однако последнее можно

также связать с проведенной терапией антибиотиками и дисбиозом. Отсутствие статистически значимых ассоциаций между иммунологическими показателями и клиническими симптомами может быть обусловлено как ограниченным объемом выборки, так и разнородностью механизмов развития постковидного синдрома и высокой индивидуальной вариабельностью иммунного ответа на вирус, что еще раз подтверждает, что «Long COVID» представляет собой гетерогенное состояние с множественными патогенетическими путями, а не единую нозологическую единицу.

При выделении групп пациентов, перенесших COVID-19, в зависимости от возраста оказалось, что у пациентов в возрасте до 60 лет (Me возраста – 45 лет) преобладала легкая форма заболевания (55,0%), среднетяжелая форма наблюдалась у 40,5% и тяжелая форма всего у 4,5% пациентов. В то же время, среди пациентов в возрасте 60 лет и старше (Me возраста 68 лет) легкая форма заболевания наблюдалась у 21%, среднетяжелая – у 71% и тяжелая форма у 8% человек. На основании вышесказанного можно сделать вывод, что возраст пациентов является ключевым предиктором характера клинического течения инфекции SARS-CoV-2. У лиц моложе 60 лет заболевание протекает преимущественно в легкой форме (55,0%). Напротив, в старшей возрастной группе (60 лет и старше, медиана — 68 лет) наблюдается резкое утяжеление процесса: доля легких форм сокращается более чем в 2,5 раза (до с 55,0% до 21,0%), а доминирующей становится среднетяжелая форма (71,0%). При этом частота тяжелого течения возрастает почти вдвое (с 4,5% до 8,0%).

В ходе исследования не было установлено значимых различий в показателях клеточного иммунитета в зависимости от возраста. Так, имелась лишь тенденция к повышению относительного содержания активированных клеток (CD3+HLA-DR+), Treg и NK-клеток (CD3-CD16+) в группе пациентов 60 лет и старше. Однако в старшей возрастной группе отмечалось более выраженное повышение уровня как среднемолекулярных, так и низкомолекулярных ЦИК: ЦИКср – 53,2 ± 2,4 усл. ед. и 70,8 ± 5,3 усл. ед. в группах <60 лет и ≥60 лет, соответственно ($p < 0,01$); ЦИКн –

328,3 ± 10,9 усл. ед. и 391,5 ± 24,5 усл. ед. в группах <60 лет и ≥60 лет, соответственно (p <0,01).

Среди показателей гуморального иммунитета в старшей возрастной группе отмечалось более выраженное снижение уровня IgA и повышение уровня ЦИК различной молекулярной массы (Таблица 21).

Таблица 21 – Показатели гуморального иммунитета у лиц разных возрастных групп, перенесших инфекцию COVID-19

	IgG (г/л)	IgA (г/л)	IgM (г/л)	ЦИКср (усл.ед.)	ЦИКн (усл.ед.)
До 60 лет (n=89)	10,1 ± 0,3	2,5 ± 0,1	1,3 ±0,1	53,2 ± 2,4	328,3 ± 10,9
60+ (n=33)	9,7 ± 0,6	2,0 ± 0,1	1,3 ± 0,2	70,8 ± 5,3	391,5 ±24,5
p	н.д.	<0,05	н.д.	<0,01	<0,01

Примечание – н.д. – различия недостоверны

По срокам обследования с момента клинического выздоровления в рамках общей группы были выделены следующие подгруппы: со сроком менее 3 месяцев (n=76), от 3 до 6 месяцев (n=34) и более 6 месяцев (n=16). Результаты сравнения групп пациентов, выделенных в зависимости от срока, не показали значимых различий средних величин изученных показателей. Однако в срок 3-6 месяцев отмечалась тенденция к усугублению отклонений показателей, выявлявшихся на ранних сроках, с последующей тенденцией к их нормализации после указанного временного интервала. Несмотря на отсутствие статистически значимых различий, прослеживается определённая временная динамика изменений иммунных показателей.

Выявленные изменения иммунологических показателей отражают закономерности трехфазного процесса восстановления иммунного гомеостаза в постковидном периоде [133]. При этом в качестве критического интервала

выступает фаза максимального иммунологического дисбаланса (от 3 до 6 месяцев после манифестации инфекции), характеризующаяся тенденцией к усугублению ранее верифицированных нарушений клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Именно в этот временной период отмечается наибольшая вероятность формирования персистирующих постковидных осложнений, что обосновывает важность пролонгированного клинико-лабораторного мониторинга данной группы пациентов. Наметившаяся в сроки свыше 6 месяцев тенденция к нормализации исследуемых параметров свидетельствует о сохранности репаративного потенциала иммунной системы и способности к реституции гомеостаза у части реконвалесцентов. Полученные нами данные согласуются с результатами проспективного исследования E. Strumiliene и соавт., где аналогично было продемонстрировано, что через 12 месяцев после госпитализации большинство пациентов достигают существенного клинического улучшения, однако полноценное восстановление иммунной системы значительно отстает по времени [140]. Данный факт подчеркивает дисбаланс между клиническим выздоровлением и нормализацией иммунологического статуса, указывая на скрытое течение процессов иммунной дисрегуляции. Гетерогенность вариантов иммунологического восстановления обуславливает необходимость персонализированного подхода к оценке иммунного статуса и разработке индивидуальных программ медицинской реабилитации. Наличие выраженной вариабельности данных в сочетании с относительно небольшим объемом исследуемой выборки указывает на целесообразность проведения дальнейших проспективных исследований.

Результаты определения в сыворотке крови уровня таких цитокинов, как IL-1β, IL-6, IL-10 и TNF-α, проведенного как в раннем постковидном периоде (в первые 1-2 месяца), так и в более поздние сроки, не показали достоверного увеличения ни одного из изученных показателей относительно референсных значений. Напротив, у лиц, перенесших COVID-19, отмечались более низкие средние показатели уровня IL-1β, IL-6 и IL-10 по сравнению с нормой. Результаты представлены в Таблице 22. При этом, низкие уровни IL-6 и TNF-α указывают на

отсутствие активного системного воспалительного процесса в постковидном периоде, что отличает постковидный синдром от аутоиммунных заболеваний, где повышение IL-6 является маркером активности [151]. Снижение уровней про- и противовоспалительных цитокинов может отражать несколько патофизиологических механизмов: истощение иммунного ответа после острой фазы инфекции, дисрегуляцию цитокиновой сети (изменение чувствительности рецепторов к цитокинам, нарушение обратной связи в регуляции продукции цитокинов, нарушение баланса про-и противовоспалительных цитокинов), а также может быть связано с длительной иммуносупрессией, индуцированной вирусом SARS-CoV-2 для уклонения от иммунного ответа, либо связанной с активацией Treg и повышением продукции IL-10 в острый период, что может привести к долговременному подавлению синтеза других цитокинов.

Таблица 22 – Содержание IL-1β, IL-6, IL-10 и TNF-α у лиц, перенесших инфекцию COVID-19

Группа	Показатель	IL-6 пг/мл	TNF-α пг/мл	IL-1β пг/мл	IL-10 пг/мл
Лица, перенесшие COVID-19 (n=78)	Среднее значение	1,64	0,83	0,61	2,07
	Разброс показателей	(0 – 12,8)	(0 – 7,7)	(0 – 9,1)	(0 – 15,6)
Норма (n=68)	Среднее значение	2,0	0,5	1,6	5,0
	Разброс показателей	(0– 10)	(0– 6)	(0– 11)	(0– 31)

Отмечены отдельные пациенты (в возрасте от 39 до 78 лет) с умеренным повышением уровня провоспалительных цитокинов: у 3 наблюдалось повышение TNF-α и у 2 – IL-6, исследование у этой категории выполнялось в сроки от 1 до 4,5 месяцев после перенесенной инфекции. Среди клинико-лабораторных

особенностей у пациентов данной подгруппы можно отметить параллельное снижение уровня IgG и, напротив, близкие к нормальным уровни ЦИК, что в целом было не характерно для общей группы обследованных в постковидном периоде пациентов и может указывать на гетерогенность иммунного ответа и наличие индивидуальных особенностей патогенеза.

В ходе проведения нашего исследования обратил на себя внимание интересный клинический случай выявления у пациентки в постковидном периоде патологического клона лимфоцитов, который по истечению времени самопроизвольно редуцировался.

Клинический случай

Пациентка А., 64 года, без заболевания системы крови в анамнезе, обратилась к гематологу через 1 месяц после перенесенной инфекции COVID-19 с жалобами на слабость, снижение памяти, работоспособности. Была направлена на иммунофенотипическое исследование периферической крови. Из анамнеза заболевания: перенесла COVID-19 средней степени тяжести в августе 2021 г. Среди особенностей постковидного периода можно отметить длительно сохранявшуюся общую слабость, выраженную алопецию и умеренно выраженные нарушения вкусовых ощущений. Обследована впервые. Основные показатели гемограммы на момент обследования – в пределах нормы (число лейкоцитов – 5,5 $\times 10^9$/л, абсолютное число лимфоцитов – у нижней границы нормы (1,3 $\times 10^9$/л)). По данным проточной цитометрии при первичном обследовании отмечен ряд отклонений по сравнению с показателями здоровых лиц. Выявлено нарушение субпопуляционного состава лимфоцитов за счет повышенного относительного содержания В-клеток (CD19+) до 57,3%. При этом суммарный иммунофенотип В-лимфоцитов патологический и соответствует В-хроническому лимфопролиферативному заболеванию – хроническому лимфолейкозу: CD19+ CD20+low CD22+low CD5+ CD23+ CD43+ CD200+ (Рисунок 9).

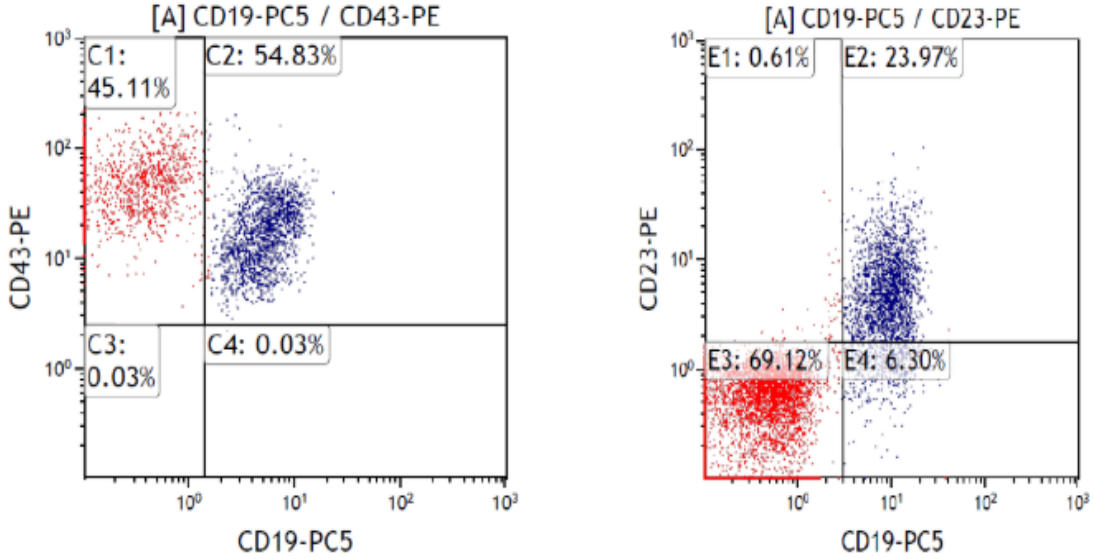


Рисунок 9 – Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов пациентки А., в сентябре 2021 г. (обнаружены В-клетки с аберрантным фенотипом, который более всего соответствует В-ХЛЛ)

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

Наличие патологического клона, характерного для В-ХЛЛ, подтверждено повторно проведенным анализом из свежего образца периферической крови, однако клинических проявлений, морфологически измененных лимфоцитов в клиническом анализе крови не наблюдалось. Тем не менее, не исключался случайно выявленный моноклональный лимфоцитов, требующий дальнейшего наблюдения в связи с возможным переходом в дальнейшем в хронический В-ХЛЛ. Планировалось наблюдение в динамике с дообследованием на клональность.

Общее самочувствие пациентки нормализовалось по истечении года после перенесенной инфекции COVID-19. За медицинской помощью не обращалась, никаких лекарственных препаратов не принимала. Повторное обследование было проведено в апреле 2023 г. и показало следующее: относительное содержание зрелых Т-лимфоцитов (CD3+), NK-клеток (CD3-CD16+CD56+) в пределах нормальных значений. Имеется дисбаланс содержания основных субпопуляций

эффекторных клеток за счёт повышенного содержания Т-хелперов (CD3+CD4+). Зрелые В-клетки поликлональны, имеют нормальный фенотип CD19+ CD20+ CD22+ CD79b+ IgM+ и составляют около 8,0% среди общего пула лимфоцитов. Патологический клон В-лимфоцитов с фенотипом В-ХЛЛ не выявлен (Рисунок 10). При повторном обследовании через год (2024 г.) состояние пациентки было удовлетворительным, патологических симптомов не отмечалось. Таким образом, выявленный в 2021 г. аберрантный фенотип В-лимфоцитов имел транзиторный характер. Отсутствие клинических проявлений и негативной динамики при контрольном обследовании в 2023 и 2024 гг. позволил исключить В-ЛПЗ. Выявленные ранее субпопуляционные сдвиги ретроспективно расценены как постинфекционная активация В-клеточного звена иммунитета на фоне COVID-19.

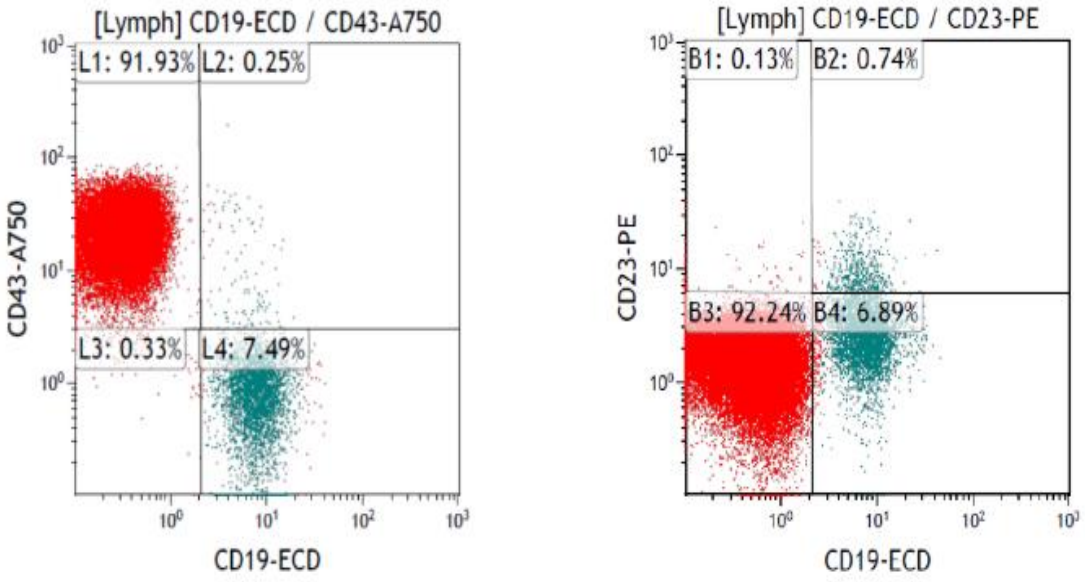


Рисунок 10 – Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов пациентки А., в 2023 г. (В-клетки с аберрантным фенотипом не обнаружены)

4.2 Особенности выработки антител к SARS-CoV-2

При оценке характера образования специфических АТ к SARS-CoV-2 у пациентов без заболеваний системы крови (n=150) продемонстрирован несомненный положительный эффект вакцинации. В группе невакцинированных доля пациентов с легким течением заболевания составила 43%, со среднетяжелым

– у 49% и тяжелым – у 8%, тогда как в группе вакцинированных тяжелого течения заболевания не наблюдалось, а легкая форма течения COVID отмечена у 68% больных. В Таблице 23 представлены данные о частоте выработки антител к SARS-CoV-2 в зависимости от статуса вакцинации.

Таблица 23 – Уровень выработки антител к SARS-CoV-2 у невакцинированных и вакцинированных пациентов без заболеваний системы крови

Уровень антител к SARS-CoV-2 (BAU/мл)	Невакцинированные (n = 89)	Вакцинированные (n = 34)
<150	n = 26 (29%)	n = 5 (15%)
150 – 500	n =26 (29%)	n = 6 (18%)
>500	n = 37 (42%)	n = 23 (68%)

С

о

г

л

а

с

н

о Изучение взаимосвязи титра антител с иммунологическими параметрами, включающими характеристики клеточного и гуморального иммунитета, показало, нто деление на группы вакцинированных и переболевших, но не прошедших рвакцинацию, выявило ряд достоверных корреляций. При этом оказалось, что наибольшее количество коррелятивных связей обнаружено в группе

д

а

к

ц

Т

и

а

н

о

и

и

п

ц

Показатель	Невакцинированные (n = 75) Коэффициент корреляции (r)	Вакцинированные (n = 36) Коэффициент корреляции (r)
$CD19^+$	0,205 (p <0,05)	–0,157 (p >0,05)
ЦИКср	0,144 (p >0,05)	0,35 (p <0,05)
ЦИКн	0,425 (p <0,01)	0,39 (p <0,05)
$CD3\text{-}CD16^+$	0,085 (p >0,05)	0,33 (p <0,05)
$CD3+CD16^+$	0,178 (p >0,05)	0,332 (p <0,05)
$CD25^+/CD4^+$	0,155 (p >0,05)	–0,357 (p <0,05)

С

о

г

л

а

с

н

о

п

р

е

д

с

т

а

в

л

е

н

н

Таким образом, наибольшее количество коррелятивных связей обнаружено в группе вакцинированных, меньше – у невакцинированных, перенесших COVID-19, и полное отсутствие – в объединенной группе пациентов. Предположительно, этот факт можно объяснить тем, что вакцинация, в некотором роде, «упорядочивает» иммунный ответ на поступающий в организм инфекционный агент, вызывая формирование иммунного ответа в виде антителообразования. Тогда как в процессе заболевания выраженность специфического иммунного ответа в большей степени обусловлена индивидуальными особенностями реагирования организма и, возможно, вирусной нагрузкой [95].

Динамика антителообразования была исследована у 140 человек. Обследованные пациенты были поделены на 4 группы: 1 группа – не вакцинированные, перенесшие COVID-19 (n = 74), 2 группа – определение антител выполнено после первой вакцинации (n = 14), 3 группа – получившие 2-3 вакцинации с интервалом 1 раз в полгода (n = 29), 4 группа – определение антител выполнено через 3 месяца после повторной ревакцинации (n = 23). Полученные результаты представлены в таблице.

Таблица – Динамика антителообразования у перенесших COVID-19 и вакцинированных пациентов

Группа	n	Уровень антител к SARS-CoV-2 (BAU/мл)	P[1]
1 – не вакцинированные, перенесшие COVID-19	74	719	–
2 – после первой вакцинации	14	1446	1 vs. 2 = 0,0011
3 – после 2-3 вакцинаций с интервалом 1 раз в полгода	29	1880	2 vs. 3 = 0,148
4 – через 3 месяца после повторной ревакцинации	23	1095	3 vs. 4 = 0,0078

Примечание – p – сравнение отдельных групп пациентов

У лиц, перенесших COVID-19, но не вакцинированных (1 группа), уровень АТ был наиболее низким, а у лиц, получивших первую вакцинацию, независимо от наличия заболевания в анамнезе (2 группа), уровень АТ был значимо выше по сравнению с группой 1. При последующих неоднократных вакцинациях 1 раз в полгода (3 группа) уровень антител возрастал статистически не значимо, однако примерно через 3 месяца после повторной ревакцинации (4 группа) он снижался. При этом различия между 3-й и 4-й группами носили достоверный характер. В то же время уровень антител во всех группах был достаточно высоким, скорее соответствуя их гиперпродукции, что свидетельствует о формировании в

долгосрочного иммунитета. Полученные данные подтверждают, что вакцинация против COVID-19 является ключевым фактором индукции мощного гуморального ответа, демонстрируя статистически значимое превосходство по уровню специфических антител по сравнению с постинфекционным иммунитетом у невакцинированных лиц.

Изучение корреляции между уровнем АТ и сроком, прошедшим от события (заболевания либо вакцинации) до момента исследования, показала лишь слабую отрицательную корреляцию в группах как вакцинированных, так и не вакцинированных лиц, однако достоверности в обоих случаях не наблюдалось: $r = –0,23$ в группе невакцинированных и $r = –0,13$ в группе вакцинированных ($p > 0,05$), что свидетельствует о том, что уровень антител в большей степени связан с индивидуальной реактивностью иммунной системы, чем с длительностью постинфекционного или поствакцинального периода.

Анализ способности к выработке антител в зависимости от возраста показал, что у пациентов старшей возрастной группы уровень АТ был несколько выше, чем у пациентов в возрасте до 60 лет, как в группе невакцинированных, так и в группе получивших прививку, хотя различия не были статистически значимыми (Таблица 26). При этом во всех случаях он значительно превышал пороговое значение, т.е., антителообразование у пациентов старшей возрастной группы оказалось на достаточно высоком уровне, однако это не позволяет в полной мере судить об эффективности противоинфекционного иммунитета, поскольку высокая интенсивность антителогенеза у лиц старшего возраста не является исчерпывающим критерием напряженности противовирусного иммунитета. Это подтверждается данными К. К. Тихомировой и соавт., установившими прямую корреляцию между возрастом старше 60 лет и повышенной восприимчивостью к инфекции на фоне ревакцинации, уступающей показателям лиц молодого ($r = 0,418$) и среднего ($r = 0,432$) возраста [17].

Таблица 26 – Показатели уровня антител к SARS-CoV-2 и ЦИК у пациентов различных возрастных групп

Группа	Без вакцинации	С вакцинацией

Показатель	1	2	3	4
	< 60 лет (n = 45)	≥ 60 лет (n = 31)	< 60 лет (n = 42)	≥ 60 лет (n = 11)
Средний возраст, лет (Медиана)	45,7 (47,0)	68,8 (67,0	40,9 (41,0)	65,6 (67,0)
Антитела (BAU/мл)	622,6	846,3	1442,3	1827,2
ЦИКн	304,1	336,1[1]	364,7	424,0

Примечание – [1]p <0,01, сравнение группы 1 и 2

Уровень ЦИКн у пациентов ≥ 60 лет также был выше, у лиц без вакцинации различия носили статистически значимый характер. Сочетанная гиперпродукция специфических антител и высокая концентрация ЦИКн у пациентов старшей возрастной группы свидетельствуют об избыточной активации гуморального иммунного ответа, что позволяет рассматривать данную когорту как группу повышенного риска развития системных аутоиммунных реакций в постинфекционном периоде

Среди обследованных пациентов также была выделена группа повторно перенесших инфекцию COVID-19 – всего 29 человек, из них 6 – невакцинированных и 23 – получивших вакцинацию. Было проведено сравнение показателей антителообразования у этой категории и у лиц, однократно болевших COVID-19. Данные представлены в Таблице 27.

Таблица 27 – Показатели уровня антител к SARS-CoV-2 у неоднократно перенесших инфекцию пациентов

Группа / Показатель	Без вакцинации		С вакцинацией	
	Однократно болевшие	Дважды болевшие	Однократно болевшие	Дважды болевшие
	1	2	3	4
	n = 72	n = 6	n = 18	n = 23
Антитела (BAU/мл)	709,5	444,0	1668,2[1]	1181,8
ЦИКн	337,3	321,5	387,9	353,7

Примечание – [1]p <0,01, сравнение группы 1 и 3

Из представленных данных видно, что в группе невакцинированных дважды болевших COVID-19 пациентов уровень АТ к SARS-CoV-2 в 1,6 раза ниже по сравнению с таковым у однократно болевших. Аналогичная тенденция отмечается

и для вакцинированных: у дважды болевших уровень АТ к SARS-CoV-2 в 1,4 раза ниже по сравнению с таковым у однократно болевших. Вероятно, это отражает неэффективность реагирования на инфекцию COVID-19 у повторно болевших, что может быть обусловлено генетическими особенностями этих индивидов. Остальные исследованные показатели, включая показатели клеточного иммунитета и уровень ЦИКср и ЦИКн, значимо не различались в выделенных подгруппах. Установленный феномен сниженной продукции антител при повторной антигенной стимуляции свидетельствует о неэффективности гуморального звена иммунитета у данной категории пациентов, что позволяет рассматривать лиц с низким постинфекционным титром антител после первичного эпизода как группу повышенного риска повторного заражения SARS-CoV-2

4.3 Анализ иммуногенетических показателей (HLA системы) у пациентов, перенесших COVID-19

Ответ на инфекцию может быть обусловлен, в том числе, индивидуальными особенностями организма, в частности – генетическими. Известно, что одним из важнейших генетических факторов реагирования на инфекционный процесс является главный комплекс гистосовместимости человека – система HLA (Human Leukocyte Antigens). Ключевая роль, которую молекулы HLA играют в иммунном ответе, презентируя пептиды патогенов, и огромная молекулярная вариабельность аллелей HLA в человеческих популяциях, явились факторами, вызвавшими пристальное внимание, и стали основанием для проведения многочисленных исследований, направленных на изучение роли HLA-генотипов в индивидуальных особенностях ответа на новую инфекцию, вызванную β-коронавирусом SARS-CoV-2 [2]. Согласно данным исследователей, был установлен ряд протективных и предрасполагающих групп HLA-аллелей в отношении развития заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, среди жителей Северо-запада России [2].

В связи с вышеизложенным нами было выполнено иммуногенетическое обследования жителей северо-западного региона РФ для изучения ассоциаций с

предрасположенностью и / или резистентностью к заболеванию COVID-19. Результаты определения частот групп аллелей гена *HLA-A* представлены на Рисунке 11.

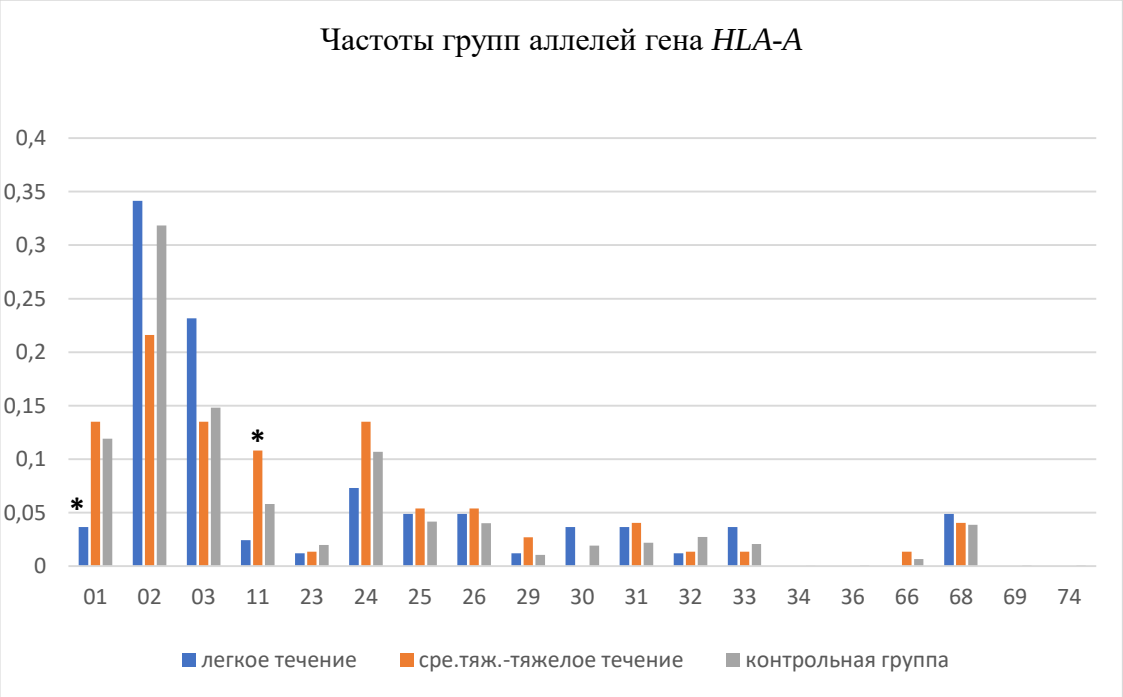


Рисунок 11 – Распределение частот групп аллелей гена *HLA-A* у жителей Санкт-Петербурга, перенесших COVID-19

При однофакторном анализе нами установлено, что у лиц, перенесших COVID-19 в легкой форме, наблюдалось снижение частоты группы *HLA-A*01* по сравнению с группой со среднетяжелым / тяжелым течением заболевания (0,0366 против 0,1351; p = 0,04) и контрольной группой (0,0366 против 0,1193; p = 0,02), что позволяет рассматривать данный генетический маркер как фактор предрасположенности к более тяжелому клиническому течению заболевания. Кроме того, выявлена более высокая частота группы *HLA-A*11* у лиц со среднетяжелым / тяжелым течением по сравнению с индивидуумами с легким течением COVID-19 (0,1081 против 0,0244; p = 0,048), что указывает на негативное прогностическое значение данного маркера в отношении тяжести патологического процесса. Также отмечалась тенденция к более высокой частоте контроля (0,1081 против 0,0582; p = 0,08).

Группа *HLA-A*03* достоверно чаще определялась у лиц с легким течением COVID-19 по сравнению с контрольной группой (0,2317 против 0,1481; p = 0,04). Различия, выявленные при сравнении групп с легким и среднетяжелым / тяжелым течением, не являлись статистически достоверными (0,2317 против 0,1315; p =

При сравнительном анализе частот групп аллелей генов *HLA-B, C, DRB1,* заболевания, а также с группой популяционного контроля установлено не было

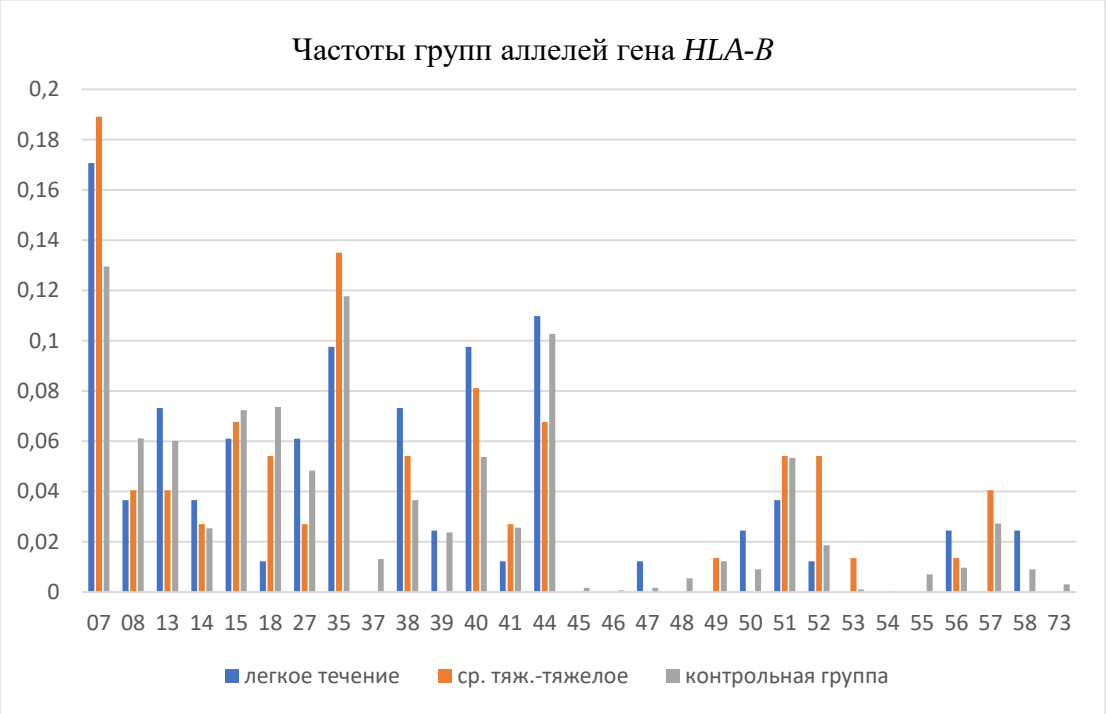


Рисунок 12 – Распределение частот групп аллелей гена *HLA-B* у жителей Санкт-Петербурга, перенесших COVID-19

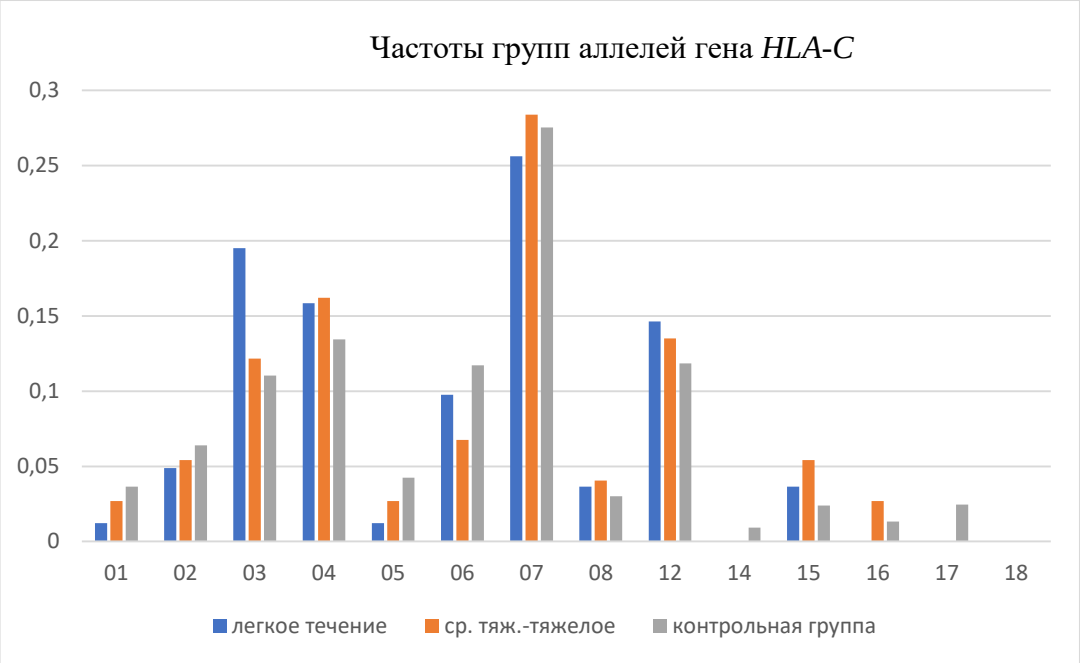


Рисунок 13 – Распределение частот групп аллелей гена *HLA-C* у жителей Санкт-Петербурга, перенесших COVID-19

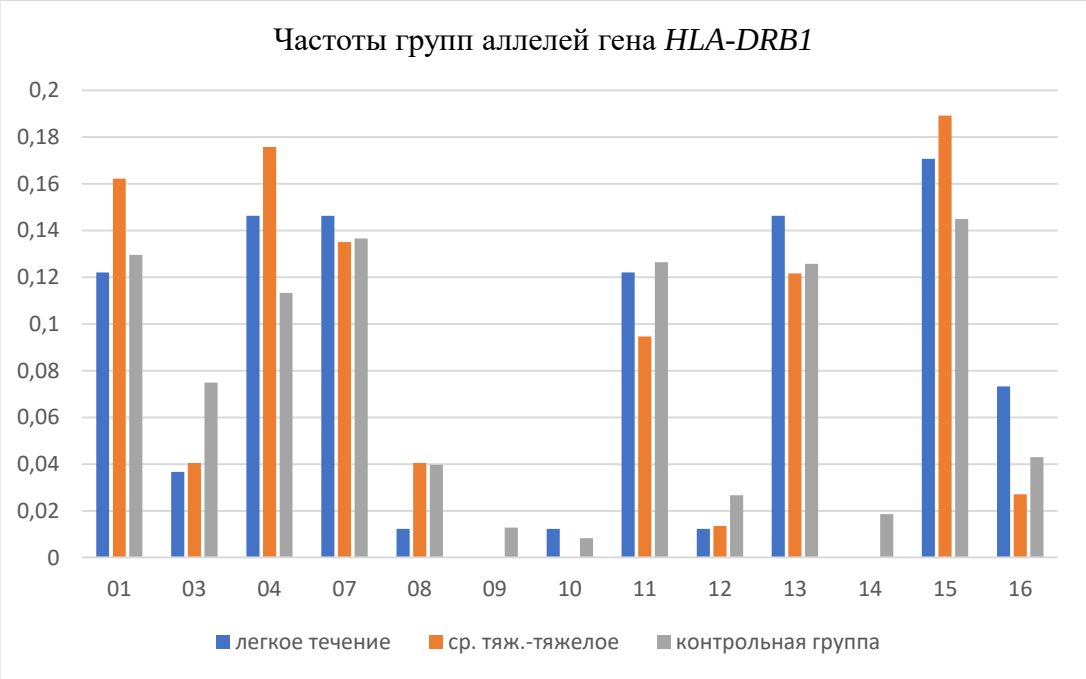


Рисунок 14 – Распределение частот групп аллелей гена *HLA-DRB1* у жителей Санкт-Петербурга, перенесших COVID-19

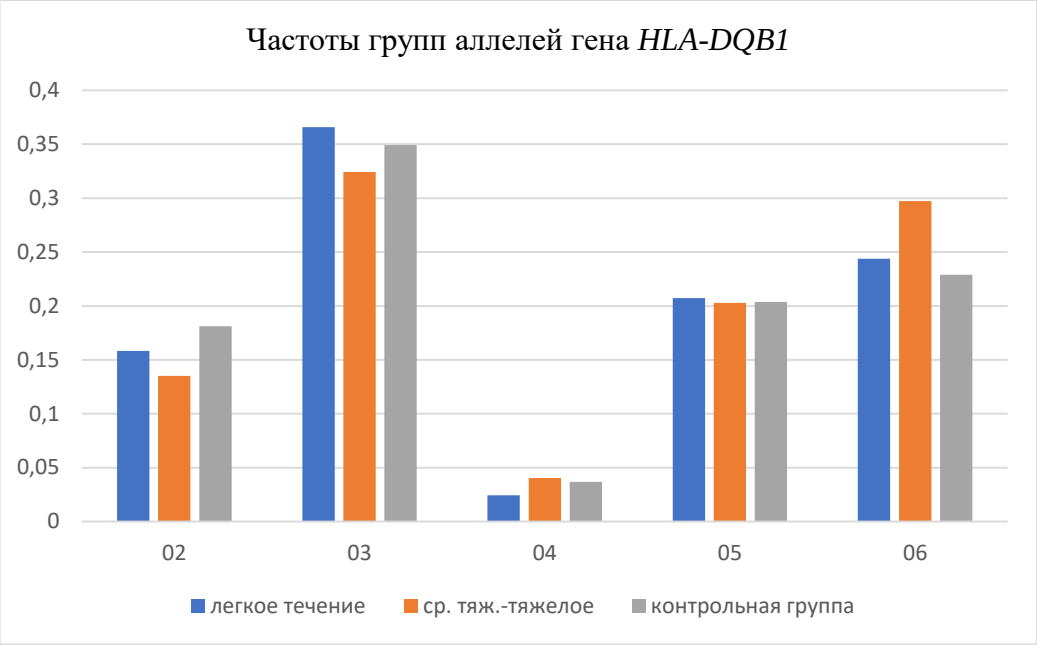


Рисунок 15 – Распределение частот групп аллелей гена *HLA-DQB1* у жителей Санкт-Петербурга, перенесших COVID-19

Закономерности, установленные в результате однофакторного анализа, были проверены с помощью статистических методов, позволяющих оценить комплексное воздействие различных факторов на изучаемый показатель. При выполнении многофакторного анализа (Таблица 28) учитывались следующие параметры: возраст (линейно), пол, вариант SARS-CoV-2 и иммуногенетические факторы (наличие конкретных групп HLA-аллелей). Установлено, что риск тяжелого течения COVID-19 у жителей Санкт-Петербурга ассоциирован с наличием *HLA-A*11* (отношение шансов – ОШ 7,38; доверительный интервал – ДИ 1,15-47,3; p = 0,032) и возрастом (ОШ 1,05; ДИ 1,01-1,09; p = 0,008). Также отмечалась тенденция влияния *HLA-A*01* на риск развития тяжелого течения заболевания (ОШ 3,88; ДИ 0,88-17,09; p = 0,068).

Таблица 28 – Влияние клинических и иммуногенетических факторов на тяжесть течения новой коронавирусной инфекции

Наименование фактора	ОШ	95% ДИ	p
возраст			p =0,008
наличие *HLA-A*11*			p =0,032
наличие *HLA-A*01*			p =0,068
пол			p >0,05
вариант SARS-CoV-2			p >0,05

Для изучения ассоциации иммуногенетических маркеров с риском развития п

о Хотя на предыдущих этапах исследования нами был отмечен ряд иммуногенетических ассоциаций – выявлены группы аллелей, обладающих протективным эффектом в отношении вируса SARS-CoV-2 – *HLA-A*02* и *HLA-A*26*, или ассоциированных с тяжелым течения COVID-19 – *HLA-A*11* и *HLA-A*01*, а также – снижение уровня антителообразования в группе повторно инфицированных, свидетельствующее об иммунодефиците у данной категории пациентов, значимых ассоциаций иммуногенетических маркеров с повторным развитием COVID-19 установлено не было. Данный факт может объясняться малочисленностью обследованной группы (38 человек) и, следовательно, небольшим числом носителей определенных групп HLA-аллелей.

а

б

о

л

е

в

а

н

и

я

н

ГЛАВА 5. СРАВНЕНИЕ АНТИТЕЛООБРАЗОВАНИЯ К SARS-CoV-2 У ПАЦИЕНТОВ С ГЕМОБЛАСТОЗАМИ И ЛИЦ БЕЗ ЗАБОЛЕВАНИЙ СИСТЕМЫ КРОВИ

Кроме того, проведено сравнение выработки антител к SARS-CoV-2 в подгруппах больных с заболеваниями системы крови и лиц без гематологических заболеваний. Полученные данные представлены в Таблицах 29 – 31. Анализ подгруппы не вакцинированных пациентов, перенесших COVID-19 (Таблица 29), показал, что инфекция как таковая приводит к схожему характеру антителообразования: защитный и повышенный уровни антител наблюдались примерно с одинаковой частотой (32% и 43% против 27% и 42%) у пациентов с онкогематологическими заболеваниями и лиц без заболеваний системы крови соответственно.

Таблица 29 – Уровни выработки антител к SARS-CoV-2 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями и без заболеваний системы крови, не вакцинированных, перенесших COVID-19

Уровень антител к SARS-CoV-2	Пациенты с онкогематологическими заболеваниями	Пациенты без заболеваний системы крови
< 150 BAU/мл	25%	31%
≥ 150 – <500 BAU/мл	32%	27%
≥ 500 BAU/мл	43%	42%

Таблица 30 – Уровни выработки антител к SARS-CoV-2 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями и без заболеваний системы крови, вакцинированных, не болевших COVID-19

Уровень антител к SARS-CoV-2	Пациенты с онкогематологическими заболеваниями	Пациенты без заболеваний системы крови
< 150 BAU/мл	12%	0%
≥ 150 – <500 BAU/мл	6%	20%
≥ 500 BAU/мл	82%	80%

В то же время, среди только вакцинированных у части гематологических пациентов (12%) не достигался защитный уровень АТ, чего не наблюдалось у лиц без заболеваний системы крови, а защитный уровень достигался у меньшей доли лиц – 6% и 20% соответственно (Таблица 30). Среди перенесших COVID-19 и прошедших вакцинацию у части лиц наблюдался низкий уровень АТ, однако среди гематологических пациентов доля лиц с низким уровнем АТ была более, чем в 2 раза выше, а с гиперпродукцией (≥ 500 BAU/мл) – в 1,5 раза ниже, чем у лиц без заболеваний системы крови (Таблица 31).

Таблица 31 – Уровни выработки антител к SARS-CoV-2 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями и без заболеваний системы крови, вакцинированных, перенесших COVID-19

Уровень антител к SARS-CoV-2 (BAU/мл)	Пациенты с онкогематологическими заболеваниями	Пациенты без заболеваний системы крови
< 150	36%	16%
≥ 150 – <500	18%	17%
≥ 500	46%	67%

При этом наиболее часто низкий уровень АТ выявлялся у больных В-ЛПЗ (27,1% случаев); у двух пациентов данной подгруппы АТ к вирусу SARS-CoV-2 отсутствовали. Необходимо отметить, что большинство пациентов с В-ЛПЗ (72,2%), не имевших АТ или с низким их уровнем, получали терапию, включающую мкАТ. У больных острыми лейкозами низкий уровень продукции специфических АТ выявлен не был.

При выполнении многофакторного анализа проводилась оценка влияния на антителообразование следующих показателей: нозологическая форма основного заболевания; возраст (линейно); событие, вызвавшее иммунный ответ (заболевание COVID-19; вакцинация; заболевание / вакцинация); терапия онкогематологического заболевания. Снижение способности к антителообразованию было ассоциировано с применявшейся терапией онкогематологического заболевания: ОШ 3,19 [95% ДИ 1,29-7,87; p = 0,01].

Выполнено исследование факторов, оказывающих негативное влияние на образование антител к вирусу SARS-CoV-2 у 104 пациентов с В-ЛПЗ, часть из которых получали терапию с использованием даратумумаба (n = 10). В группе пациентов, получавших даратумумаб, значительно чаще наблюдалось снижение уровня антител к SARS-CoV-2 по сравнению с пациентами, получавшими химиотерапию без добавления моноклональных антител (44,4% против 15% случаев, p=0,07).

У пациентов с онкогематологическими заболеваниями сведения о степени тяжести перенесенного заболевания в анамнезе имелись не для всей группы, а лишь для 53 человек. Из них у 35 (66,1%) пациентов наблюдалось легкое течение и у 18 (33,9%) было среднетяжелое / тяжелое течение. При сравнении групп по степени тяжести коронавирусной инфекции как у лиц без онкогематологических заболеваний, так и у пациентов с гемобластозами не наблюдалось различий уровня АТ и ЦИКср и ЦИКн внутри каждой из групп. Однако в группе онкогематологических пациентов с тяжелым / среднетяжелым течением коронавирусной инфекции уровень АТ был выше в 2,8 раза, чем в аналогичной группе пациентов без заболеваний системы крови (p <0,01). Данные представлены в Таблице 32 и на Рисунках 16-17.

Таблица 32 – Показатели гуморального иммунитета в группе пациентов без злокачественных заболеваний системы крови и пациентов с гемобластозами

Группа	Пациенты без злокачественных заболеваний системы крови		Пациенты с гемобластозами	
	Легкое течение (1) n=31	Среднетяжелое и тяжелое течение (2) n=41	Легкое течение (3) n=35	Среднетяжелое и тяжелое течение (4) n=18
АТ	628,6	734,7	1189,07	2023,45[1]
ЦИКср	63,14	59,31	61,0	49,89
ЦИКн	328,38	331,73	267,78	252,89

Примечание – [1] p <0,01 при сравнении группы пациентов без злокачественных заболеваний системы крови и пациентов с гемобластозами

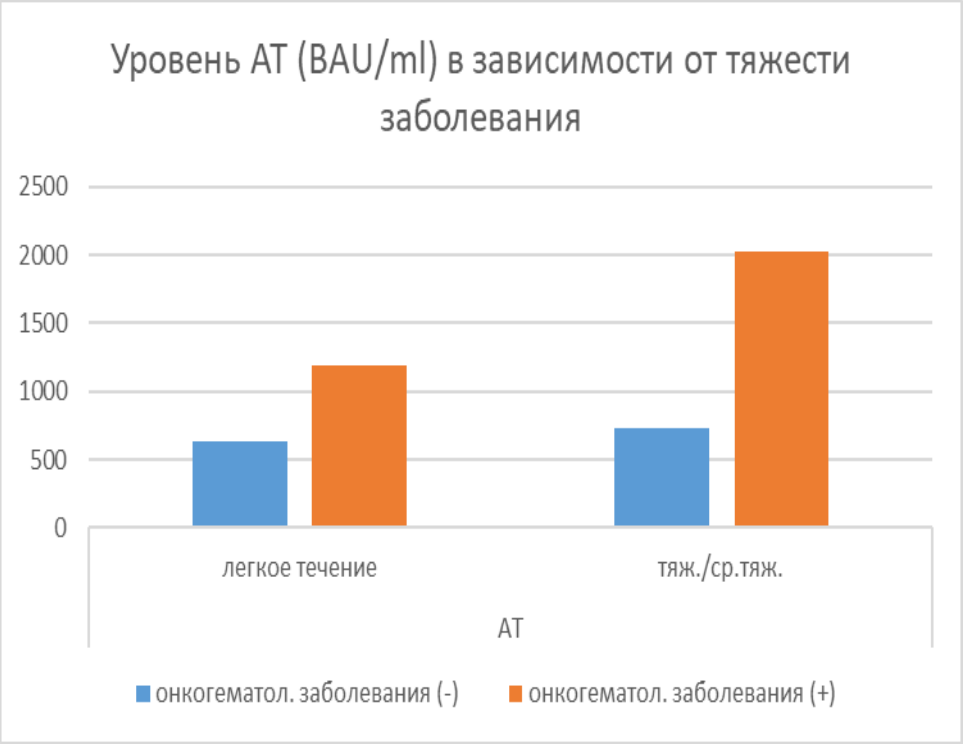


Рисунок 16 – Уровень АТ в группах пациентов с гемобластозами и без злокачественных заболеваний системы крови

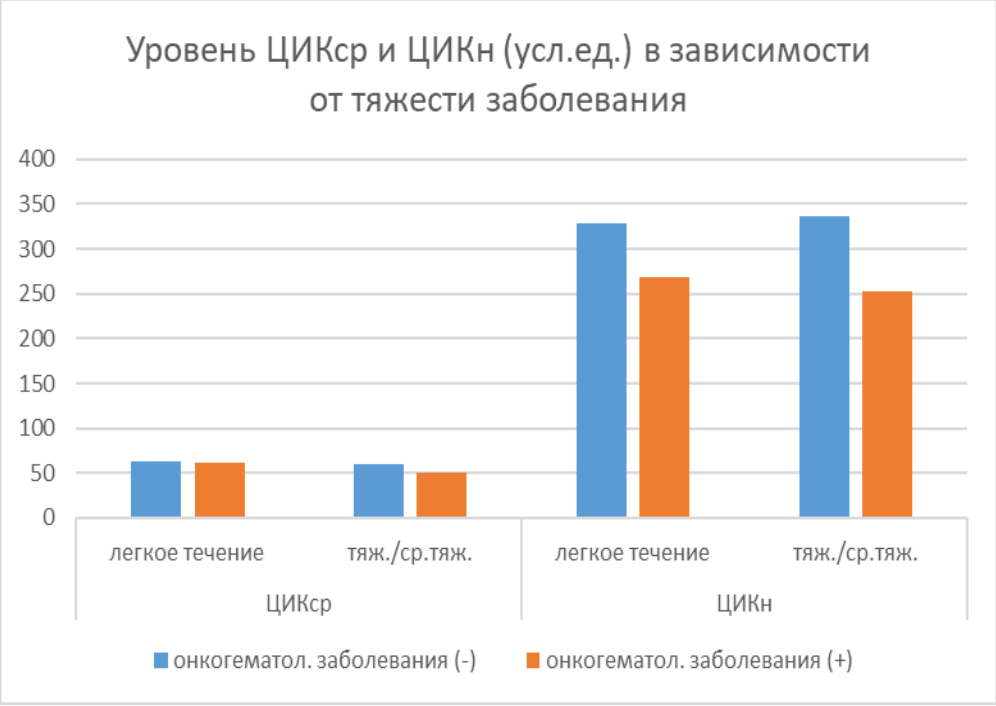


Рисунок 17 – Уровень ЦИКср и ЦИКн в группах пациентов с гемобластозами и без злокачественных заболеваний системы крови

5.1 Динамика уровня антител к SARS-CoV-2 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями и без заболеваний системы крови

Обследовано в динамике 32 онкогематологических пациента и 19 лиц без патологии системы крови в сроки от 1го месяца до 33 месяцев после перенесенной коронавирусной инфекции или вакцинации. Среди онкогематологических пациентов встречались следующие диагнозы: В-ЛПЗ – 15 пациентов (из них ММ – 6 пациентов, НХЛ – 9 человек, В-ХЛЛ – 1 больной), ЛХ – 3 пациента, ХМПЗ – 4 человека, ОЛ – 6 пациентов, МДС – 4 пациента. Сравнительный анализ направленности и выраженности изменений уровней АТ в динамике у онкогематологических пациентов и лиц без заболеваний системы крови представлен в Таблице 33.

Таблица 33 – Распределение повторно обследованных лиц в зависимости от направленности динамики уровней антител

Группа обследованных	Повышение уровня АТ (n, %)	Снижение уровня АТ (n, %)	Неизменный уровень АТ (n, %)
Лица без заболеваний системы крови, n=19 (1)	10 (52,6%)	8 (42,1%)	1 (5,3%)
Онкогематологические пациенты, n=32 (2)	8 (25%)	12 (37,5%)	12 (37,5%)
$P^{1,2}$	< 0,05	н.д.	< 0,01

При оценке изменений в группе здоровых лиц (n=19) было установлено, что у большинства обследованных лиц (52,6%, n=10) уровень АТ значимо вырос. Снижение титров АТ зарегистрировано у 42,1% (n=8) участников, в то время как лишь у одного человека (5,3%) показатели оставались стабильными на протяжении всего периода наблюдения. Среди пациентов с онкогематологической патологией (n=32) распределение вариантов динамики АТ носило принципиально иной характер. Снижение концентрации АТ зафиксировано в 37,5% случаев (n=12), повышение — в 25,0% (n=8). Для оценки статистической значимости различий

между группами был применен критерий хи-квадрат Пирсона. Динамика уровней антител в группах имеет достоверные различия (p = 0,040), при этом основной вклад в различия вносит доля лиц с неизменным уровнем АТ. У онкогематологических пациентов она составляет 37,5%, тогда как у здоровых лиц — всего 5,3%, что подтверждает данные литературы о феномене иммунной гипореактивности, характерном для иммунокомпрометированных лиц.

Особый интерес представляет подгруппа пациентов, у которых изначально, несмотря на отсутствие вакцинации и верифицированного COVID-19 в анамнезе, регистрировалась выраженная гиперпродукция специфических антител (более 5000 BAU/мл). При динамическом обследовании через 6 месяцев и более высокий титр антител сохранялся на исходном уровне. Данное явление было зафиксировано у трех больных: одного пациента с ЛХ, получавшего ПХТ по протоколу ABVD (адриамицин, блеомицин, винбластин, дакарбазин) и двух пациентов с ОЛ, находившихся на лечении по программам Hyper-CVAD (гиперфракционированный циклофосфамид, винкристин, адриамицин и дексаметазон) и CHOEP (циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, этопозид, преднизолон) соответственно.

Очевидно, что среди всей когорты исходно не болевших и не вакцинированных лиц, часть пациентов действительно не имела контакта с вирусом, о чем свидетельствует минимальный или пороговый уровень сероконверсии. В то же время больные со стойкой гиперпродукцией антител, по всей видимости, перенесли инфекцию SARS-CoV-2 в латентной форме.

Развитие мощного гуморального ответа (более 5000 BAU/мл) на фоне проведения агрессивных режимов ПХТ (Hyper-CVAD, CHOEP-21) свидетельствует о сохранности пула антигенпрезентирующих клеток и плазмоцитов у данной категории больных. Латентное течение инфекции в сочетании с гиперактивацией В-клеточного звена иммунитета может быть обусловлено иммуносупрессивным эффектом противоопухолевой терапии, которая нивелировала развернутую клиническую симптоматику COVID-19, но не препятствовала интенсивной продукции специфических иммуноглобулинов

При этом, вариабельность и разнонаправленность динамики АТ у онкогематологических больных могут быть обусловлены как биологическими особенностями циркулирующего штамма вируса, так и супрессивным действием различных схем противоопухолевой терапии. Постоянная антигенная эволюция вируса SARS-CoV-2 и смена его геновариантов напрямую влияют на стабильность и долгосрочность сохранения постинфекционного и поствакцинального пула АТ поверхностных антигенов приводит к феномену «ускользания» вируса. У иммунокомпрометированных лиц это инициирует быструю деградацию существующего пула АТ, что объясняет высокую долю онкогематологических больных со снижением титров АТ (37,5%). Кроме того, на формирование пула АТ к SARS-CoV-2 влияет и противоопухолевая терапия, лимфотоксическое действие которой блокирует ключевые этапы антителообразования. Так, стандартная химиотерапия неселективно угнетает пролиферацию активированных лимфоцитов и плазматических клеток, что ведет к истощению пула циркулирующих АТ, таргетные анти-CD20 препараты вызывают глубокое истощение В-клеточного звена с блокадой их дифференцировки в плазматические клетки. В совокупности эти механизмы препятствуют созреванию антител и формированию стойких клеток памяти, определяя деформацию противовирусного гуморального ответа у онкогематологических больных.

Интересно, что у онкогематологических пациентов уменьшение / увеличение уровня АТ носит более выраженный характер, чем у лиц без заболеваний системы крови (Рисунки 18-21). Так, кратность уменьшения уровня АТ в группе онкогематологических больных составила 10,81 раза против 2,13 раза в группе здоровых лиц, а кратность его увеличения — 18,07 раза против 1,77 раза соответственно. Выявленная асимметрия подчеркивает глубокую дестабилизацию гуморального звена иммунитета и утрату механизмов физиологического гомеостаза у пациентов с гемобластозами. Описанные изменения связаны как с влиянием самого онкологического процесса, так и с прямым цитотоксическим и лимфопеническим действием проводимой противоопухолевой терапии.

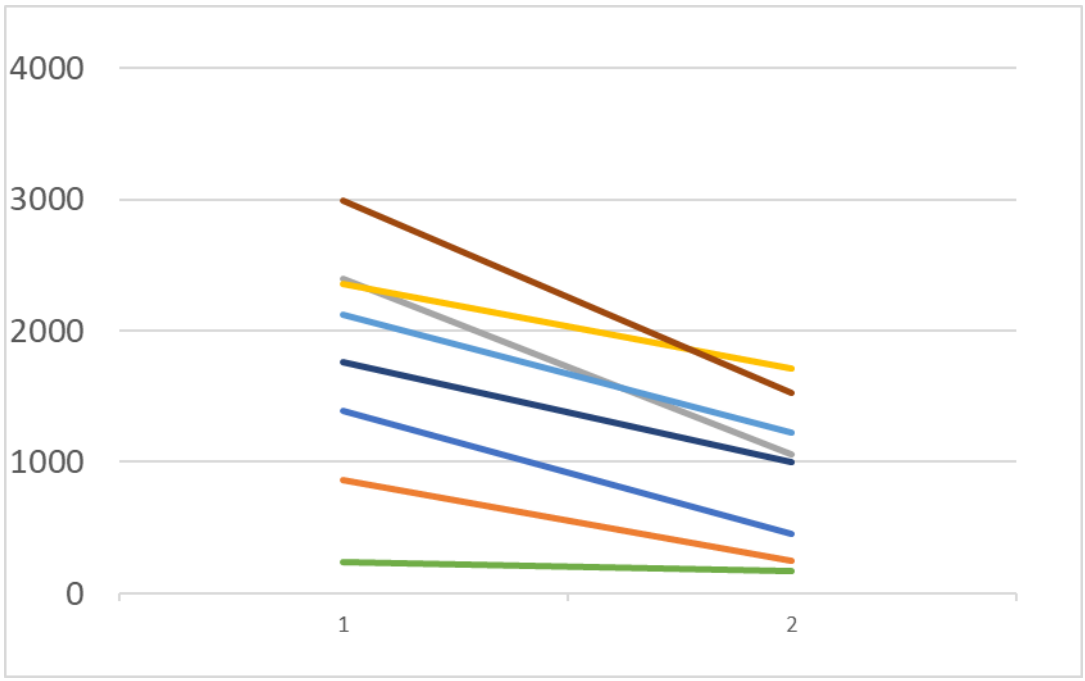


Рисунок 18 – Динамика снижения уровня АТ у лиц без заболеваний системы крови

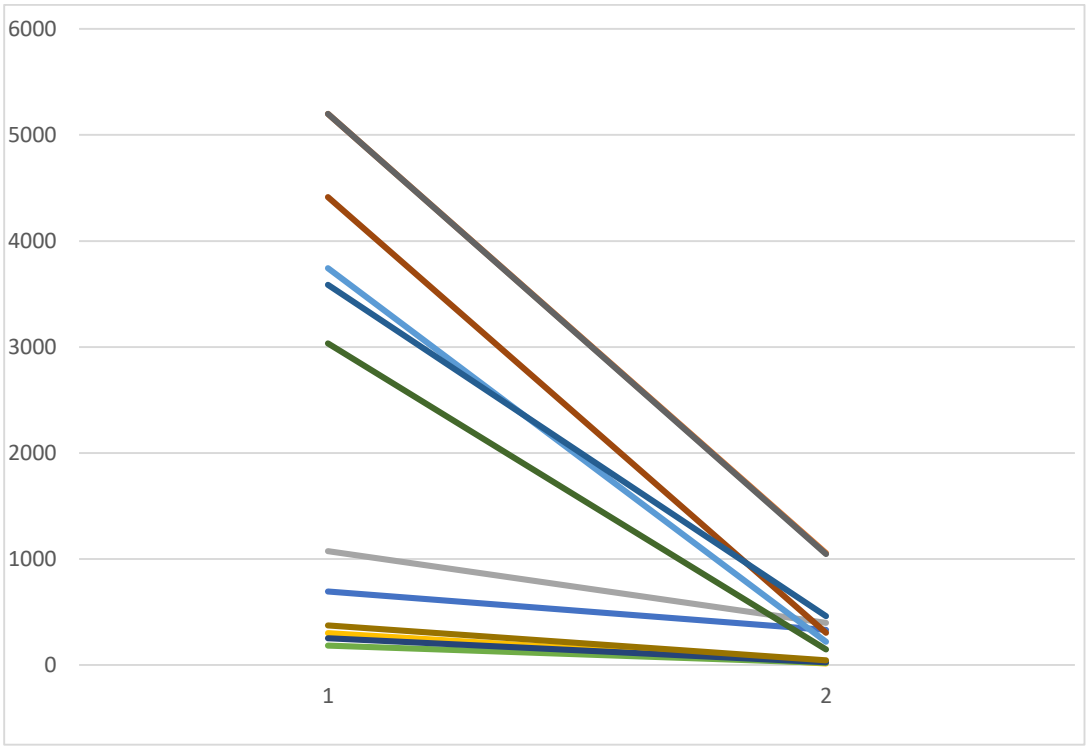


Рисунок 19 – Динамика снижения уровня АТ у онкогематологических пациентов

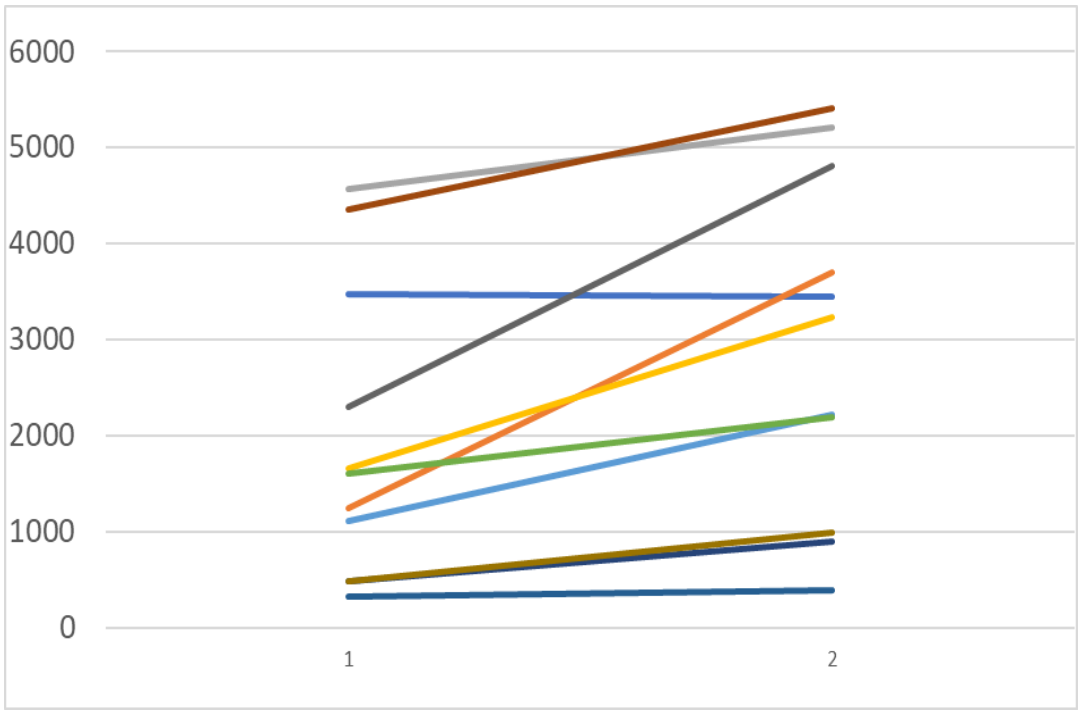


Рисунок 20 – Динамика роста уровня АТ у лиц без заболеваний системы крови

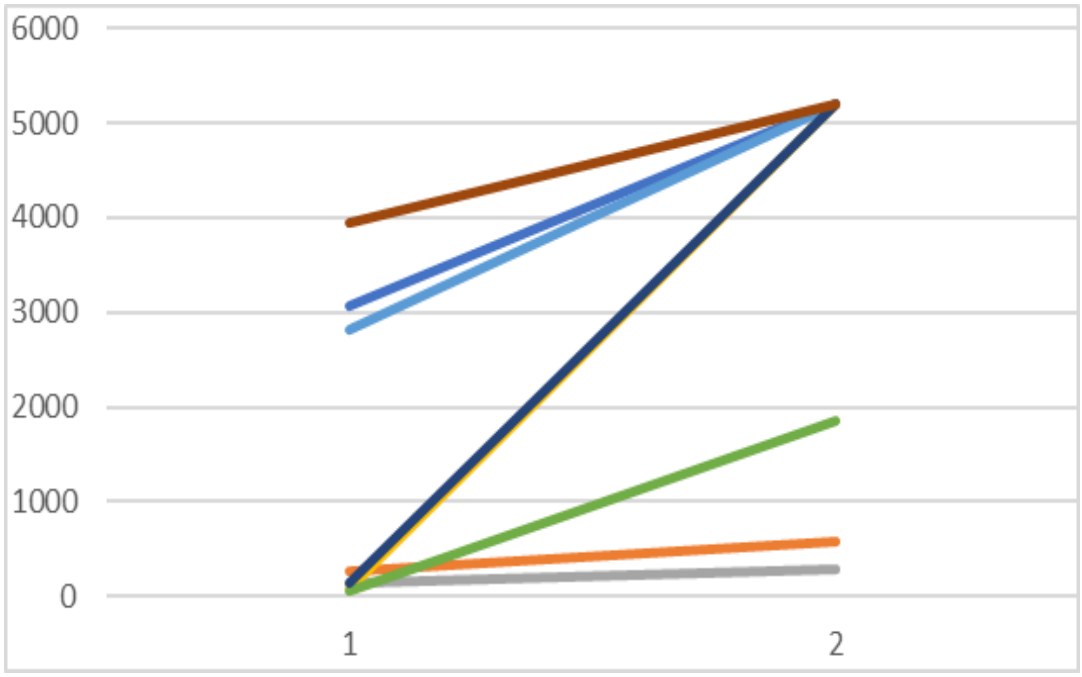


Рисунок 21 – Динамика роста уровня АТ у онкогематологических пациентов

Представленные данные свидетельствуют о глубокой деформации гуморального противовирусного ответа у пациентов с гемобластозами по сравнению со здоровыми лицами. Во-первых, выявление значительной доли онкогематологических пациентов с неизменным уровнем антител (37,5%) против (5,3%) в группе контроля подтверждает неспособность

иммунокомпрометированного организма адекватно реагировать на вирусные антигены и согласуется с данными и феномене гипореактивности. Во-вторых, у больных гемобластозами выявлен атипичный характер динамики титров АТ, если у большинства здоровых лиц (52,6%) отмечается закономерный рост титров антител, то у онкогематологических пациентов преобладает либо их падение (37,5%), либо стагнация показателей (37,5%). При этом негативная динамика в виде падения уровня нейтрализующих АТ превалировала у лиц, получавших даратумумаб (44,4%), что патогенетически обосновано, поскольку анти-CD38 терапия напрямую истощает пул плазматических клеток, являющихся главными продуцентами антител. В-третьих, выявлена асимметрия в кратности изменений уровня АТ у пациентов с гемобластозами и лиц без заболеваний системы крови (падение титров в 10,8 раза и их рост в 18,1 раз у больных против минимальных колебаний у здоровых лиц) отражает утрату механизмов физиологического гомеостаза. При этом дестабилизация гуморального звена носит сочетанный характер. Она может быть индуцирована как биологическими свойствами самого вируса, так и ятрогенной иммуносупрессией, вызванной противоопухолевой терапией. Кроме того, обнаружение подгруппы исходно не болевших и невакцинированных пациентов (n=3) со стойкой гиперпродукцией антител (более 5000 BAU/мл) указывает на способность данной категории лиц переносить инфекцию SARS-CoV-2 в латентной форме (без клинических проявлений).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то, что новая коронавирусная инфекция на современном этапе утратила статус чрезвычайной ситуации в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение, исследовательский интерес к изучению ее долгосрочных последствий остается высоким. Вирус нанес масштабный ущерб системе здравоохранения и привел к высокой летальности во всем мире. Особую научно-практическую проблему представляет течение COVID-19 у иммунокомпрометированных пациентов, к которым относятся онкогематологические больные, реципиенты солидных органов и пациенты с системными аутоиммунными заболеваниями, у которых риски тяжелого течения и неблагоприятных исходов остаются высокими. Дополнительную актуальность проблеме придает высокая частота развития постковидного синдрома, в основе формирования которого лежит незавершенный иммунный ответ с признаками системного хронического воспаления, при этом у иммунокомпрометированных лиц риски затяжного течения возрастают многократно. Изучение роли клеточного и гуморального иммунитета при SARS-CoV-2 и особенностей индивидуальной реакции организма имеет определяющее значение для раскрытия иммунопатогенеза инфекции у онкогематологических больных. В связи с этим комплексная оценка иммунного статуса в постковидном и поствакцинальном периодах, расшифровка функциональной значимости отдельных популяций иммунокомпетентных клеток, а также установления взаимосвязи отдельных режимов противоопухолевой терапии и течения инфекции критически важны для понимания механизмов иммунной защиты и патогенетического обоснования новых подходов к ведению пациентов с гемобластозами. Таким образом, высокая медицинская и социальная значимость проблемы, необходимость оценки поствакцинального и постинфекционного ответа у иммунокомпрометированных лиц, а также дефицит систематизированных данных об особенностях клеточного и гуморального иммунитета в постковидном периоде определили целесообразность проведения настоящего исследования.

Результаты выполненного нами анализа субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови лиц без онкогематологических заболеваний, перенесших коронавирусную инфекцию, показали четкую зависимость характера и направленности иммунологических сдвигов от степени тяжести инфекционного процесса.

В ходе исследования у пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, верифицировано достоверное увеличение относительного содержания Т-лимфоцитов CD3+ на фоне умеренного компенсаторного роста пула Treg CD4+CD25+. Данная перестройка сопровождалась снижением процентной доли В-лимфоцитов CD19+ по сравнению с контрольной группой. Полученные данные свидетельствуют о том, что легкое течение инфекции характеризуется адекватной активацией клеточного звена иммунитета при сохранной супрессорной функции на фоне временного ограничения гуморального ответа.

По мере прогрессирования процесса до среднетяжелой и тяжелой форм характер иммунорегуляторных нарушений усугублялся. Нарастание тяжести состояния сопровождалось экспансией пула Treg, которая приобретала декомпенсированный характер (увеличение в 2,1 раза, $p < 0,01$). Кроме того, было отмечено выраженное увеличение относительного содержания Т-лимфоцитов с фенотипом поздней активации CD3+HLA-DR+, составившее 7,8% при среднетяжелом / тяжелом течении против 3,9% в группе контроля.

Выявленная нами динамика субпопуляционного состава лимфоцитов при прогрессировании патологического процесса отражает закономерности трансформации адаптивного иммунного ответа в условиях нарастающей антигенной нагрузки. Зафиксированная выраженная активация клеточного иммунитета у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, на фоне умеренной супрессии гуморального ответа, по-видимому, носит компенсаторно-приспособительный характер и направлена на элиминацию патогена цитотоксическими механизмами. Первичное напряжение Т-клеточного звена с высоким уровнем экспрессии активационных молекул HLA-DR+ подтверждается

данными литературы о прямой связи дебюта системного воспаления с мобилизацией эффекторных Т-лимфоцитов [88].

Переход патологического процесса в тяжелую форму сопровождается снижением относительного содержания Т-лимфоцитов, что укладывается в классическую концепцию антиген-индуцированного Т-клеточного истощения, детально описанную в фундаментальной работе E. J. Wherry и подтвержденную современными исследованиями [48; 156; 150]. На этом фоне обнаруженное нами увеличение относительного содержания В-лимфоцитов указывает на инверсию иммунорегуляторных механизмов и попытку гуморального звена компенсировать дефицит клеточной цитотоксичности. Аналогичная перестройка фенотипического состава периферической крови с перераспределением долей в пользу В-клеточного пула при тяжелой коронавирусной инфекции была описана V. A. Sosa-Hernández и соавт. [139]. При этом увеличение относительного содержания В-лимфоцитов при тяжелом течении COVID-19 сопровождается их глубокой функциональной несостоятельностью, поскольку блокируется созревание полноценных функциональных В-клеток памяти CD19+CD27+ на фоне резкого компенсаторного выброса короткоживущих плазматических клеток и экспансии пула двойных негативных В-лимфоцитов CD19+CD27-IgD-, которые являются функционально истощенными и лишены способности к эффективному иммунному ответу, что также подтверждается рядом исследований [44; 139].

Таким образом, прогрессирующее падение уровня Т-лимфоцитов CD3+ в сочетании с увеличением В-клеток CD19+ может свидетельствоаать о срыве иммунологической толерантности и истощение физиологических резервов организма, что позволяет рассматривать дисбаланс данных параметров в качестве цитометрических маркеров неблагоприятного течения заболевания. Отсутствие связи данных иммунных нарушений с клиническими особенностями течения инфекции подчёркивает необходимость широкого иммунологического скрининга переболевших для своевременного выявления групп риска и персонализации реабилитационных мероприятий с учётом иммунного статуса пациента.

Результаты определения в сыворотке крови уровня IL-1β, IL-6, IL-10 и TNF-α у лиц без заболеваний системы крови, проведенного как в раннем постковидном периоде, так и в более поздние сроки, не показали достоверного увеличения ни одного из изученных показателей относительно референсных значений. Полученные нами данные полностью согласуются с проспективным исследованием M. Fleischer и соавт., в котором экспериментально доказано, что сывороточные уровни IL-6 и TNF-α у пациентов с постковидным синдромом не имеют статистически значимых различий с показателями здоровых людей, перенесших инфекцию без последствий. Это подтверждает тезис о том, что классическое системное воспаление в крови у таких пациентов часто отсутствует, а симптомы могут иметь иную природу, например, нейровоспалительную или локальную тканевую [61]. Развитие постковидного синдрома в данном случае может быть ассоциировано не с дисбалансом цитокинов, а с локальным воспалением, обусловленном персистенцией антигенов вируса в тканевых депо, развитием нейроиммунных нарушений, а также дисфункцией эндотелия и хронической тканевой гипоксией. Следовательно, мониторинг сывороточных цитокинов обладает низкой диагностической значимостью при оценке тяжести постковидных нарушений.

Нами также было установлено, что уровень ЦИКн достоверно повышен у всех пациентов без онкогематологических заболеваний, перенесших COVID-19, независимо от тяжести течения (в 2,7–3,0 раза относительно референсных значений). Наиболее высокие показатели ЦИКн регистрируются при среднетяжелом течении инфекции. У 30,5% обследованных отмечается экстремально высокий уровень ЦИКн (> 400 усл. ед.), преимущественно среди пациентов со среднетяжелой формой COVID-19. При этом возраст и пол не оказывают существенного влияния на формирование подгруппы с высокими значениями данного маркера. Таким образом, уровень ЦИКн выступает чувствительным индикатором иммунных нарушений в постковидном периоде. Его повышение носит универсальный характер, но достигает максимума при среднетяжелом течении инфекции. Выделение подгруппы пациентов с

экстремально высокими значениями ЦИКн позволяет своевременно идентифицировать лиц с повышенным риском развития постковидных осложнений. Полученные нами данные согласуется с результатами исследований Е. В. Ждановой и соавт., в которых была экспериментально доказана сопряженность процессов накопления циркулирующих иммунных комплексов в периферической крови реконвалесцентов с формированием различных клинических вариантов постковидного синдрома [5]. Отсутствие корреляции с возрастом и полом подчеркивает ведущую роль фундаментальных иммунологических механизмов в формировании этого феномена. Интеграция мониторинга ЦИКн в клиническую практику способна улучшить стратификацию рисков и повысить персонализацию реабилитационных мероприятий у пациентов, перенесших COVID-19. Оценка уровня ЦИКн в динамике обладает высокой прогностической ценностью, поскольку позволяет судить об эффективности элиминации вирусных антигенов и скорости восстановления иммунного гомеостаза.

Выраженный генетический полиморфизм HLA-комплекса обеспечивает презентацию уникальных репертуаров антигенных детерминант SARS-CoV-2. Вовлеченность молекул главного комплекса гистосовместимости в механизмы как клеточного, так и гуморального иммунитета обуславливает ключевую роль HLA-комплекса в иммунном контроле над инфекцией. Различия в аффинности связывания вирусных эпитопов конкретными аллельными вариантами HLA формируют индивидуальный фенотип противовирусной защиты, варьирующий от предрасположенности воспалению до резистентности к инфицированию. При этом, ключевыми медиаторами первого звена в развитии специфического иммунного ответа на инфекцию, вызванную SARS-CoV-2, являются молекулы HLA класса I. После проникновения в клетку вирус SARS-CoV-2 немедленно индуцирует трансляцию собственных белков, которые подвергаются протеасомной деградации. Полученные антигенные пептиды презентируются на мембране инфицированной клетки в комплексе с молекулами HLA I класса. Комплекс «пептид-молекула HLA I класса» взаимодействует с рецептором CD8+

Т-лимфоцитов, что приводит к активации Т-клеток, их пролиферации и дифференцировке в эффекторные клетки и клетки памяти. В течение 5–7 дней образуется популяция вирусспецифических цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов, способных уничтожать инфицированные клетки посредством перфоринов и сериновых протеаз, что обеспечивает эффективный контроль над вирусной нагрузкой [11].

При проведении иммуногенетического исследования нами были выявлены HLA маркеры тяжести течения инфекции. Обнаруженная ассоциация аллелей *HLA-A*01* и *HLA-A*11* со склонностью к манифестации среднетяжелых и тяжелых форм COVID-19 указывает на существование генетически детерминированной предрасположенности к неблагоприятному исходу заболевания. Статистически значимое снижение частоты *HLA-A*01* в группе с легким течением по сравнению с тяжелой формой и контролем, а также преобладание *HLA-A*11* у пациентов с тяжелым / среднетяжелым течением позволяют рассматривать данные аллели как независимые прогностические факторы риска. Вероятно, молекулы данных генотипов обладают меньшей аффинностью к ключевым иммуногенным эпитопам SARS-CoV-2, что приводит к менее эффективной презентации антигена и, как следствие, к генерализации инфекционного процесса. Наши результаты согласуются с исследованием P. Castro-Santos и соавт., где было обнаружено, что аллели *HLA-A*11:01* связаны с тяжелым течением коронавирусной инфекции [42].

Анализ кофакторов показал, что, помимо генетического статуса, весомый вклад в характер течения заболевания вносит возраст пациента, что сообразуется с известными данными литературы. Тяжелое течение инфекции у лиц старших возрастных групп закономерно объясняется феноменом иммунного старения и накоплением коморбидной патологии, что было описано в работе Е. В. Кузьмич и соавт. [11]. Однако тяжелые формы COVID-19 встречаются и у молодых пациентов без хронических заболеваний, что свидетельствует о влиянии и других факторов, связанных не только с инфекционным агентом, но и с организмом человека. Вышеизложенное подтверждает гипотезу о ведущей роли индивидуального профиля адаптивного иммунитета, предопределенного

иммуногенетическими факторами, при условии сопоставимой вирулентности штамма и вирусной нагрузки.

В то же время, при оценке рисков повторного инфицирования нам не удалось выявить статистически значимых ассоциаций с исследуемыми HLA-маркерами. Данный факт носит предварительный характер и обусловлен объективными ограничениями исследования, а именно – малым объемом выборки (n = 38) и небольшим числом носителей конкретных групп аллелей соответственно. Таким образом, для окончательной верификации роли системы HLA в долгосрочных исходах COVID-19 и для оптимизации подходов к разработке эффективных вакцин требуется продолжение исследований на расширенных когортах пациентов.

Согласно данным международных исследований, частота реинфекции SARS-CoV-2 варьирует от 0,1% до 1,54%. Первичное инфицирование обеспечивает защиту от повторного заражения в среднем в 80,5% случаев, тогда как в возрастной группе старше 65 лет данный показатель снижается до 47,1% [71]. Случаи реинфекции преимущественно регистрируются у пациентов моложе 60 лет (84,7%), что обусловлено более высокой интенсивностью их социальных контактов по сравнению с лицами старшего возраста [104]. Примечательно, что повторное инфицирование SARS-CoV-2 происходит вопреки наличию циркулирующих специфических антител. При этом тяжесть клинического течения второго эпизода COVID-19 зачастую сопоставима с первичным заболеванием, в том числе у серопозитивных пациентов. Данный факт подтверждает необходимость сравнительной оценки уровня антител в различных возрастных когортах вакцинированных и невакцинированных лиц.

Проведенное нами исследование показало, что среди вакцинированных против инфекции COVID-19 доля лиц, у которых уровень АТ к SARS-CoV-2 превышал пороговое значение, а также лиц с гиперпродукцией АТ был выше по сравнению с невакцинированными реконвалесцентами. При этом доля лиц с недостаточным уровнем антител в группе вакцинированных была меньше, чем в группе переболевших, но не вакцинированных. У лиц, перенесших COVID-19, не получивших вакцинацию, уровень антител был наиболее низким, а после первой

вакцинации, независимо от наличия заболевания в анамнезе, он значимо повышался. При последующих повторных курсах вакцинации с интервалом в 6 месяцев уровень АТ демонстрировал умеренную тенденцию к нарастанию, однако приблизительно через 3 месяца после ревакцинации регистрировалось его статистически значимое снижение. Более того, при регулярном полугодовом режиме иммунизации кумулятивного нарастания титров АТ к SARS-CoV-2 не происходит, если перед очередным плановым введением препарата их концентрация стойко сохраняется на уровне, эквивалентном «гиперпродукции». Полученные результаты подтверждают высокую эффективность вакцинации против COVID-19 как фактора индукции мощного гуморального ответа, показатели которого статистически значимо превосходят уровень постинфекционного иммунитета у невакцинированных лиц. Тем не менее зафиксированные особенности долгосрочной динамики титров указывают на целесообразность перехода к индивидуализированным графикам прививок. Такой подход необходим для минимизации рисков иммунологического истощения либо, напротив, избыточной патологической активации иммунной системы.

Анализ способности к выработке антител в зависимости от возраста показал, что у пожилых пациентов уровень антител был несколько выше, чем у пациентов в возрасте до 60 лет, как в группе невакцинированных, так и в группе получивших прививку, хотя различия не были статистически значимыми. При этом во всех случаях он значительно превышал пороговое значение, иными словами, антителообразование у пациентов старшей возрастной группы оказалось на достаточно высоком уровне. Кроме того, нами была обнаружена сочетанная гиперпродукция специфических антител и высокая концентрация ЦИКн у пациентов старше 60 лет, что свидетельствует об избыточной активации гуморального иммунного ответа и позволяет рассматривать данную когорту как группу повышенного риска развития системных аутоиммунных реакций в постковидном периоде. Известно, что именно низкомолекулярные ЦИК обладают наибольшей патогенностью, поскольку в отличие от крупных иммунных комплексов, которые быстро поглощаются макрофагами и выводятся из

кровотока, ЦИКн длительно циркулируют в кровяном русле. Они способны проникать через эндотелий, откладываться в базальных мембранах сосудов и тканей и запускать классический путь активации комплемента, провоцируя аутоагрессию [5]. Достоверно более высокий уровень ЦИКн у невакцинированных пожилых, доказывает, что «дикий» штамм вируса вызывает более грубую и опасную дисрегуляцию иммунитета, чем контролируемый вакцинальный антиген.

Полученные нами данные о высоком уровне антителообразования у лиц старше 60 лет согласуются с результатами исследований К. К. Тихомировой и соавт., где также была продемонстрирована относительно сильная корреляционная связь между возрастом пациентов и риском развития коронавирусной инфекции, сохраняющаяся несмотря на проведение ревакцинации. Примечательно, что в группе лиц старшей возрастной группы данный риск был достоверно выше по сравнению с когортами молодого и среднего возраста [17]. Однако высокие титры циркулирующих антител не обеспечивают абсолютной протективности у пожилых пациентов, что подтверждают результаты исследования D. A. Collier и соавт. [50]. Описанный феномен, вероятно, объясняется качественными особенностями иммунного ответа в условиях возрастной инволюции иммунной системы, в частности, снижением авидности антител и дисфункцией Т-клеточного звена.

Обнаруженное нами снижение приблизительно в 1,5 раза титра антител к SARS-CoV-2 у дважды переболевших пациентов относительно группы однократно болевших указывает на неэффективность реагирования на инфекцию COVID-19 у повторно болевших. Подобное явление, стабильное как для вакцинированных, так и для невакцинированных лиц без гематологических патологий, свидетельствует о стойкой дисфункции гуморального звена. Различия остальных исследованных показателей, включая параметры клеточного иммунитета и уровень ЦИК, значимо не различались в выделенных подгруппах, что позволяет предположить наличие пока не установленных генетически детерминированных особенностей иммунного реагирования, предрасполагающих к повторному инфицированию.

У пациентов с онкогематологической патологией характер динамики уровней суммарных антител к вирусу SARS-CoV-2 как после перенесенного

заболевания, так и после вакцинации имеет статистически значимые различия по сравнению с лицами без заболеваний системы крови. У 37,5% онкогематологических больных уровень суммарных противовирусных АТ оставался неизменным на протяжении всего периода наблюдения, что в 7,1 раз превышает аналогичный показатель в группе лиц без заболеваний системы крови. Гуморальный противовирусный ответ у пациентов с онкогематологическими заболеваниями дестабилизирован: процессы как снижения, так и компенсаторного прироста титров суммарных АТ у них имеют более выраженную динамику, чем у лиц контрольной группы, что свидетельствует об истощении иммунных механизмов на фоне опухолевого процесса и агрессивной противоопухолевой терапии.

Выраженная вариабельность и разнонаправленность динамики уровней суммарных противовирусных АТ у больных гемобластозами представляют собой сложный, многофакторный процесс. Ведущими причинами такой гетерогенности гуморального ответа выступают как биологические особенности непрерывной эволюции циркулирующих штаммов SARS-CoV-2, так и супрессивное действие различных протоколов противоопухолевой терапии. С одной стороны, персистирующая антигенная эволюция вируса SARS-CoV-2 и закономерная смена его геновариантов напрямую влияют на стабильность и долгосрочность сохранения постинфекционного и поствакцинального пула АТ. Появление новых штаммов с множественными мутациями в структуре поверхностных антигенов приводит к феномену «ускользания» вируса из-под иммунного надзора. В условиях, когда структура вирусных эпитопов меняется, сформированные ранее к предковым вариантам патогена антитела частично теряют свою аффинность и нейтрализующую способность. У иммунокомпрометированных лиц это инициирует быструю деградацию существующего пула АТ, что объясняет высокую долю больных со снижением титров суммарных АТ. В то же время повторный контакт с измененным штаммом SARS-CoV-2 у части пациентов способен вызвать выраженную компенсаторную активацию остаточных клонов В-лимфоцитов памяти, приводя к резкому скачку уровней суммарных АТ. С другой

стороны, критическое значение в формировании и поддержании пула АТ к SARS-CoV-2 имеет и агрессивное противоопухолевое лечение. Применяемые в онкогематологии схемы терапии обладают мощным миело- и лимфотоксическим действием, блокируя ключевые этапы антителообразования. Стандартная цитостатическая химиотерапия неселективно угнетает пролиферацию активированных пулов лимфоцитов, что критически нарушает как первичный иммунный ответ на SARS-CoV-2, так и анамнестический ответ на введение вакцины, попутно ускоряя катаболизм уже циркулирующих иммуноглобулинов. Таргетная терапия мкАТ, в частности, анти-CD20 препаратами вызывает длительное истощение В-клеточного звена, что практически полностью блокирует дифференцировку В-лимфоцитов в плазматические клетки. Использование глюкокортикостероидов в составе высокодозных режимов оказывает супрессивный эффект на Т-хелперный комплекс, нарушая процессы презентации антигена SARS-CoV-2 и взаимодействия Т- и В-клеток, необходимого для полноценного созревания аффинности антител и формирования стойких клеток памяти. Таким образом, если у лиц без заболеваний системы крови динамика суммарных антител к SARS-CoV-2 после вакцинации или перенесенного COVID-19 подчиняется классическим законам развития и угасания противовирусного иммунитета, то у онкогематологических больных этот процесс глубоко деформирован. Высокая доля лиц с неизменным уровнем АТ наглядно иллюстрирует феномен «иммунного паралича», описанный в литературе [87]. Данное состояние гипореактивности, развивающееся на фоне медикаментозной иммуносупрессии, патогенетически объясняет неспособность иммунной системы к адекватному бустированию титров АТ даже после повторного контакта с антигеном. Это согласуется с обнаруженным нами общим снижением уровня антител в группе повторно болевших Зафиксированный амплитудный характер изменений (резкие падения или скачки уровней АТ) отражает глубокую дестабилизацию гуморального иммунитета. Истощенная иммунная система онкогематологических больных теряет способность к плавному, физиологическому поддержанию гомеостаза в условиях антигенного воздействия.

Защитный уровень АТ по разным подгруппам достигается примерно с одинаковой частотой как у здоровых, так и в общей группе онкогематологических пациентов. Использование схем терапии, включающих моноклональные антитела, ассоциировано с более низким уровнем антителоообразования. Известно, что гуморальный иммунитет, опосредованный В-лимфоцитами, играет важную роль в защите от тяжелых форм COVID-19. Даратумумаб, являющийся мкАТ против CD38, эффективно используется для терапии множественной миеломы и некоторых вариантов В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний, однако применение этого препарата приводит к быстрому истощению гамма-глобулинов и NK-клеток, что негативно сказывается на продукции АТ [64].

При анализе состояния гуморального иммунитета пациентов в зависимости от вида специфического лечения нами установлена явная гетерогенность ответа. Негативная динамика в виде падения уровня нейтрализующих АТ превалировала у лиц, получавших схемы с включением даратумумаба (44,4%). Данный факт патогенетически обоснован, поскольку анти-CD38 терапия напрямую истощает пул плазматических клеток, являющихся главными продуцентами антител. В то же время в группе пациентов, получавших классическую химиотерапию, без моноклональных анти CD38 АТ, аналогичное снижение антителообразования встречалось реже – в 15,0% случаев. Несмотря на пограничный характер статистической значимости при сравнении этих подгрупп, выявленная закономерность наглядно демонстрирует более глубокий иммуносупрессивный эффект анти-CD38 терапии на постинфекционный иммунитет. Негативное влияние терапии даратумумабом на выраженность образования АТ к вирусу SARS-CoV-2 у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями необходимо учитывать при планировании вакцинации и очередных курсов лечения этой категории больных.

Также нами было установлено, что агрессивные режимы полихимиотерапии (Hyper-CVAD, CHOEP-21) способны маскировать клинические проявления COVID-19, обусловливая латентное течение инфекции, но не препятствуют формированию выраженной долговременной гиперпродукции специфических

антител (более 5000 BAU/мл), что свидетельствует о функциональной сохранности плазмоцитов и антигенпрезентирующих клеток у части пациентов.

При ретроспективном анализе частоты развития инфекционных эпизодов в зависимости от вида противоопухолевой терапии на основании анализа историй болезни не отмечено случаев инфицирования SARS-CoV-2 в группе стандартной ПХТ, что контрастирует с известным фактом глубокой ятрогенной иммуносупрессии, индуцированной цитостатическим лечением. Очевидно, что данный феномен имеет мультифакториальную природу. Во-первых, определяющее значение вносит социально-эпидемиологический фактор: исходно высокий риск инфекционных осложнений у больных В-ХЛЛ диктует необходимость строгого соблюдения режима профилактической самоизоляции, а также госпитализации пациентов в специализированные асептические условия, что минимизирует контакт с потенциальными источниками инфекции. Во-вторых, нельзя исключить неспецифический эффект противоопухолевой терапии, способной за счет блокады клеточного цикла ограничить внутриклеточную репликацию вируса или нивелировать проявления системного воспаления. Кроме того, отсутствие зарегистрированных случаев инфицирования может быть обусловлено математическими характеристиками исследуемой когорты. Относительно небольшой объем выборки пациентов, получавших полихимиотерапию (n = 28), снижает статистическую вероятность регистрации спорадических случаев инфицирования в данной подгруппе. Для окончательной верификации влияния ПХТ на заболеваемость COVID-19 требуется дальнейшее накопление клинического материала и расширение объема анализируемых групп.

В отличие от цитостатических режимов, применение современных таргетных препаратов сопряжено с иными механизмами взаимодействия с вирусными агентами и иммунной системой пациента. На основании ретроспективного анализа медицинских карт показано, что использование ибрутиниба у больных В-ХЛЛ ассоциировано с более благоприятным клиническим течением новой коронавирусной инфекции. Данный факт согласуется с данными литературы, указывающими на иммуномодулирующие

свойства ингибиторов ВТК, особенно при длительном приеме данного класса препаратов. Способность ибрутиниба блокировать ВТК-зависимую активацию сигнального пути NF-kB и NLRP3-инфламмасомы в альвеолярных макрофагах ограничивает избыточную продукцию провоспалительных цитокинов, в первую очередь IL-6, IL-1β и TNF-α [144; 153]. Это позволяет эффективно предотвратить развитие цитокинового шторма, минимизировать риск повреждения легких и снизить частоту развития тяжелого острого респираторного дистресс-синдрома при инфицировании SARS-CoV-2.

Таким образом, постковидный период характеризуется выраженным дисбалансом субпопуляций лимфоцитов, а также ростом уровня низкомолекулярных ЦИК, особенно у лиц старше 60 лет; при этом генетическая предрасположенность (наличие аллелей *HLA-A*11*) достоверно повышает риск тяжелого течения коронавирусной инфекции. Вакцинация демонстрирует более высокую эффективность в индукции протективного гуморального ответа по сравнению с перенесенной инфекцией, включая пациентов с онкогематологической патологией. При этом повторные эпизоды инфицирования вирусом SARS-CoV-2 ассоциированы с последующим снижением титра специфических антител. Характер гуморального ответа у лиц с В-ЛПЗ детерминирован спецификой проводимого лечения: применение даратумумаба ассоциировано с угнетением синтеза антител к SARS-CoV-2, в то время как терапия ибрутинибом, напротив, ассоциирована со снижением частоты инфицирования.

ВЫВОДЫ

1. Вакцинация оказывает схожий протективный эффект как у пациентов онкогематологического профиля, так и лиц без заболеваний системы крови: у вакцинированных защитный уровень антител к вирусу SARS-CoV-2 р
е
г
и 2. Установлено влияние противоопухолевой терапии на способность к а
антителообразованию:
т - применение даратумумаба у больных множественной миеломой р
ассоциировано со снижением уровня антител к SARS-CoV-2 чаще, чем при использовании других схем противоопухолевой терапии (44% vs. 15%, p <0,05);
р - применение ибрутиниба у больных В-ХЛЛ ассоциировано со снижением у
частоты инфицирования SARS-CoV-2, по сравнению с пациентами, не н
получавшими специфического лечения (8,3% vs. 33,3%, p <0,05).
т 3. Риск тяжелого течения COVID-19 у жителей Санкт-Петербурга а
ассоциирован с наличием группы аллелей *HLA-A*11* (p = 0,048). Установлено н
снижение частоты *HLA-A*01* у лиц, перенесших COVID-19 в легкой форме, по сравнению с группой со среднетяжелым / тяжелым течением заболевания (p = 0,04) и
и контрольной группой (p = 0,02), что позволяет рассматривать данный генетический маркер как фактор предрасположенности к более тяжелому к
клиническому течению заболевания.
, 4. Уровень низкомолекулярных ЦИК повышен у онкогематологических з
пациентов и лиц без заболеваний системы крови, перенесших COVID-19, в 2,1 и 2,9 раза соответственно относительно референсных значений (p <0,01).
р 5. Среднетяжелое/тяжелое течение COVID-19 у лиц без о
онкогематологических заболеваний характеризуется повышением содержания а
активированных CD3+HLA-DR+ Т-лимфоцитов и Treg-клеток относительно р
референсных значений (7,8% vs. 3,9% и 4,0% vs. 1,9%, соответственно, p <0,01).

ч

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам без онкогематологических заболеваний, перенесшим новую коронавирусную инфекцию, рекомендуется проведение комлексной оценки состояния иммунной системы, при этом ключевыми маркерами персистирующих нарушений следует считать нарастание относительного содержания активированных Т-лимфоцитов CD3+HLA-DR+ (выше 7,8%) и Treg-клеток (выше 4,0%), повышение уровня ЦИКн (более чем в 2,7 раза относительно нормы).

2. У пациентов, перенесших COVID-19, экстремально высокий уровень ЦИКн (более 400 усл. ед.) рекомендуется рассматривать в качестве предиктора неблагоприятного течения постковидного периода и возможного развития аутоиммунных заболеваний, что требует динамического наблюдения профильными специалистами.

3. Для стратификации рисков пациентам, госпитализированным по поводу COVID-19, рекомендовано проведение молекулярно-генетического HLA-типирования I класса. Снижение частоты аллелей *HLA-A*01* и повышение *HLA-A*11* требует отнесения пациента к группе высокого риска неблагоприятного течения инфекции.

4. Рекомендована персонализация программ вакцинации и ревакцинации. Ввиду угасания поствакцинального титра АТ после 3-го месяца после вакцинации, лицам из групп риска (онкогематологические заболевания, соматическая патология, пожилой возраст) целесообразно проводить ревакцинацию, не дожидаясь стандартного 6-месячного интервала. Перед плановой ревакцинацией рекомендовано выполнять серологический скрининг и при наличии у пациента исходной «гиперпродукции» АТ (более 5000 BAU/мл) очередную вакцинацию целесообразно отложить ввиду достижения физиологического плато. Пациенты с повторными случаями COVID-19 требуют особого контроля в постковидном периоде вследствие снижения эффективности гуморального ответа в 1,5 раза.

5. При ведении онкогематологических пациентов рекомендуется дифференцированный подход с учетом характера противоопухолевого лечения.

Продолжение таргетной терапии ибрутинибом является патогенетически обоснованным ввиду его способности купировать избыточный синтез провоспалительных цитокинов и предотвращать развитие системного воспаления. Напротив, применение даратумумаба ассоциировано с глубоким подавлением антителогенеза (в 44,4% случаев), что диктует необходимость регулярного серологического мониторинга уровня антител к SARS-CoV-2 у данной категории пациентов.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Результаты настоящего исследования могут служить основой для дальнейшего изучения состояния иммунной системы у пациентов со злокачественными заболеваниями системы крови, перенесших коронавирусную инфекцию, а также определяют вектор развития для следующих научно-практических разработок:

Перспективным направлением является внедрение в алгоритмы диспансерного наблюдения реконвалесцентов COVID-19 комплексного исследования показателей клеточного и гуморального иммунитета (субпопуляционный состав лимфоцитов, уровень низкомолекулярных ЦИК). Расширение спектра исследуемых иммунологических параметров позволит раскрыть долгосрочные механизмы иммунного дисбаланса в постковидном периоде.

Выявленные региональные особенности иммуногенетического профиля (на примере популяции Санкт-Петербурга) обосновывают необходимость увеличения объема выборки и масштабирования исследования на другие популяции и этнические группы Российской Федерации, что позволит верифицировать маркерную роль группы аллелей *HLA-A*11* и *HLA-A*01* на общенациональном уровне.

Установленные закономерности долгосрочной динамики угасания поствакцинального и постинфекционного иммунитета определяют необходимость создания персонализированных математических моделей для расчета оптимальных сроков и схем ревакцинации.

Выявленная взаимосвязь между режимами противоопухолевой терапии и сохранностью гуморального ответа позволяет внедрить алгоритмы стратификации рисков у больных В-клеточными лимфопролиферативными заболеваниями. На основании полученных данных в дальнейшем возможна разработка клинических рекомендаций или иных учебных пособий по ведению пациентов с гемобластозами, перенесших коронавирусную инфекцию.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

В-ЛПЗ – В-клеточные злокачественные лимфопролиферативные заболевания

В-ХЛЛ – В-хронический лимфоцитарный лейкоз

ЛХ – лимфома Ходжкина

МДС – миелодиспластический синдром

мкАТ – моноклональные антитела

ММ – множественная миелома

НХЛ – неходжкинские лимфомы

ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз

ОМЛ – острый миелоидный лейкоз

ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром

ХМПЗ – хронические миелопролиферативные заболевания

ЦИКн – циркулирующие иммунные комплексы низкой молекулярной массы

ЦИКср – циркулирующие иммунные комплексы средней молекулярной массы

BCR – В-клеточный рецептор

BMX – костномозговая киназа Х-хромосомы

BTK – тирозинкиназа Брутона

IL-10 – интерлейкин-10

IL-1β – интерлейкин-1β

IL-6 – интерлейкин-6

IL-8 – интерлейкин-8

ITK – интерлейкин-2-индуцируемая Т-клеточная киназа

SARS-CoV-2 – коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2

TCR – Т-клеточный рецептор

TEC – тирозинкиназа, экспрессируемая в гепатоцеллюлярной карциноме

TNF-α – фактор некроза опухоли-α

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айтбаев, К.А. Постковидный синдром: частота, клинический спектр и проблемы для амбулаторной службы / К.А. Айтбаев, И.Т. Муркамилов, Ж.А. Муркамилова и др. // Практическая медицина. – 2021. – Т. 19, №5. – С. 15–20.

2. Бубнова, Л.Н. Особенности распределения групп аллелей HLA-A*, B*, DRB1* среди лиц, перенесших COVID-19 / Л.Н. Бубнова, И.Е. Павлова, А.С. Беркос и др. // Медицинская иммунология. – 2021. – Т. 23, №3. – С. 523–532.

3. Даниленко, А.А. COVID-19 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями / А.А. Даниленко, С.В. Шахтарина, Н.А. Фалалеева // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. — 2021. — Т. 14, №2. — С. 220–224.

4. Ефремова, Ю.С. Влияние ингибиторов тирозинкиназы Брутона на Т-лимфоциты и клетки микроокружения опухоли при В-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях / Ю.С. Ефремова, Т.В. Глазанова, Н.А. Романенко // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2026. – Т. 19, №3. – С. 320–326.

5. Жданова, Е.В. Роль циркулирующих иммунных комплексов в патогенезе постковидного суставного синдрома / Е.В. Жданова, Е.В. Рубцова // Acta Biomedica Scientifica. – 2025. – Т. 10, №5. – С. 69–76.

6. Зурочка, А.В. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях: монография / А.В. Зурочка, С.В. Хайдуков, И.В. Кудрявцев и др. – Екатеринбург: УрО РАН, 2018. – 720 с.

7. Иванова, И.А. Роль клеточного звена иммунитета в формировании иммунного ответа при коронавирусных инфекциях / И.А. Иванова, Н.Д. Омельченко, А.В. Филиппенко и др. // Медицинская иммунология. – 2021. – Т. 23, №6. – С. 1229–1238.

8. Кетлинский, С.А. Иммунология для врача / С.А. Кетлинский, Н.М. Калинина. – Санкт-Петербург: Гиппократ, 1998. – 156 с.

9. Кудрявцев, И.В. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шестицветного цитофлуориметрического анализа / И.В. Кудрявцев, А.И. Субботовская // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17, №1. – С. 19–26.

10. Кудрявцев, И.В. Фенотипическая характеристика цитотоксических Т-лимфоцитов: регуляторные и эффекторные молекулы / И.В. Кудрявцев, А.Г. Борисов, Е.В. Васильева и др. // Медицинская иммунология. – 2018. – Т. 20, №2. – С. 227–240.

11. Кузьмич, Е.В. Образование антител к вирусу SARS-COV-2 у пациентов с хроническими лимфопролиферативными заболеваниями / Е.В. Кузьмич, Т.В. Глазанова, И.Е. Павлова и др. // Вестник гематологии. – 2025. – Т.21, №3. – С. 22–26.

12. Мисюрина, Е.Н. Основные терапевтические подходы к ведению больных онкогематологического профиля с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) / Е.Н. Мисюрина, Е.А. Барях, Н.Ф. Фролова и др. // Онкогематология. – 2023. – Т. 18, №4. – С. 10–39.

13. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2024 году: Государственный доклад. — Москва: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2025. — 364 с.

14. Платонова, Т.А. Прогностические критерии развития тяжелых клинических форм COVID-19 у работников медицинской организации / Т.А. Платонова, Т.А. Семененко, А.А. Голубкова и др. // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2022. – Т. 11, №4. – С. 19–29.

15. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19): временные методические рекомендации: Версия 18 (26.10.2023) / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – Москва: Минздрав России, 2023. – 250 с.

16. Семенова, Е.В. Особенности гуморального иммунитета после перенесенного Covid-19 / Е.В. Семенова, В.В. Павлюк, М.А. Уварова и др. // Медицинская иммунология. – 2022. – Т. 24, №2. – С. 337–350.

17. Тихомирова, К.К. Необходима ли сегодня вакцинация против коронавирусной инфекции? / К.К. Тихомирова, С.М. Харит // Журнал инфектологии. – 2023. – Т. 15, №3. – С. 5–14.

18. Торшина, Ю.С. Иммуномодулирующие эффекты противоопухолевых препаратов — ингибиторов тирозинкиназы Брутона — и возможности их использования при аллергических и инфекционных заболеваниях / Ю.С. Торшина, Н.Б. Серебряная, Т.В. Глазанова и др. // Медицинская иммунология. – 2023. – Т. 25, №5. – С. 1253–1258.

19. Торшина, Ю.С. Инфекционные осложнения у больных хроническим лимфолейкозом при лечении ингибиторами тирозинкиназы брутона / Ю.С. Торшина, Н.Б. Серебряная // Медицинский академический журнал. – 2021. – Т. 21, №3. – С. 15–27.

20. Хайдуков, С.В. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» / С.В. Хайдуков, Л.А. Байдун, А.В. Зурочка и др. // Медицинская иммунология. – 2012. – Т. 14, №3. – С. 255–268.

21. Ahn, I.E. Atypical Pneumocystis jirovecii pneumonia in previously untreated patients with CLL on single-agent ibrutinib / I.E. Ahn, T. Jerussi, M. Farooqui et al. // Blood. – 2016. – Vol. 128, №15. – P. 1940–1943.

22. Aljuaid, A. Increased Activation Markers of Adaptive Immunity in Patients with Severe COVID-19 / A. Aljuaid // Journal of Clinical Medicine. – 2024. – Vol. 13, №19. – P. 5664.

23. Alwan, N.A. Defining long COVID: Going back to the start / N.A. Alwan, L. Johnson // Med. — 2021. — Vol. 2, iss. 5. — P. 501–504.

24. Aydillo, T. Shedding of Viable SARS-CoV-2 after Immunosuppressive Therapy for Cancer / T. Aydillo, A.S. Gonzalez-Reiche, S. Aslam et al. // The New England Journal Medicine. – 2020. – Vol. 383, №26. – P. 2586–2588.

25. Awan, F.T. Acalabrutinib monotherapy in patients with chronic lymphocytic leukemia who are intolerant to ibrutinib / F.T. Awan, A. Schuh, J.R. Brown et al. // Blood Adv. — 2019. — Vol. 3, №9. — P. 1553–1562.

26. Barahona-Correa, J.E. COVID-19 infection during blinatumomab therapy: Is safety a dilemma? / J.E. Barahona-Correa, C. Rueda-Ortiz, M.J. López et al. // SAGE Open Medical Case Reports. – 2023. – Vol. 11. – P. 2050313X221148548.

27. Barbui, T. Long-term follow-up of recovered MPN patients with COVID-19 / T. Barbui, A. Iurlo, A. Masciulli et al. // Blood Cancer Journal. – 2021. – Vol. 11. – P. 1–4.

28. Barf, T. Acalabrutinib (ACP-196): A covalent bruton tyrosine kinase inhibitor with a differentiated selectivity and in vivo potency profile / T. Barf, T. Covey, R. Izumi et al. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2017. — Vol. 363, №2. — P. 240–252.

29. Benoit, R.Y. Bruton's Tyrosine Kinase—Going Beyond the B Cell / R.Y. Benoit, S. Loshi, C.S. Moore // Immunology. — 2026. — Vol. 178, iss. 4. — P. 545–560.

30. Blennow, O. Outcome of infection with omicron SARS-CoV-2 variant in patients with hematological malignancies: An EPICOVIDEHA survey report/ O. Blennow, J. Salmanton-García, P. Nowak et al. // American Journal of Hematology. — 2022. — Vol. 97, iss. 8. — P. E312-E317.

31. Blez, D. Ibrutinib induces multiple functional defects in the neutrophil response against Aspergillus fumigatus / D. Blez, M. Blaize, C. Soussain et al. // Haematologica. — 2020. — Vol. 105, iss. 2. — P. 478–489.

32. Borczuk, A.C. The pathogenesis of coronavirus–19 disease / A.C. Borczuk, R.K. Yantiss // Journal of biomedical science. – 2022. – Vol. 29, №1. – P. 87.

33. Bose, P. Managing chronic lymphocytic leukemia in 2020: an update on recent clinical advances with a focus on BTK and BCL-2 inhibitors / P. Bose, V. Gandhi // Faculty Reviews. — 2021. — Vol. 10. — P. 22.

34. Brown, J.R. Resistance to Bruton Tyrosine Kinase Inhibitors / J.R. Brown // Hematology/Oncology Clinics of North America. — 2025. — Vol. 39, iss. 5. — P. 951–963.

35. Brown, J.R. Zanubrutinib or ibrutinib in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia / J.R. Brown, B. Eichhorst, P. Hillmen et al. // The New England Journal Medicine. – 2023. – Vol. 388, №4. – P. 319–332.

36. Burger, J.A. Bruton Tyrosine Kinase Inhibitors: Present and Future / J.A. Burger // Cancer Journal. – 2019. – Vol. 25, №6. – P. 386–393.

37. Burger, J.A. Targeting B cell receptor signalling in cancer: preclinical and clinical advances / J.A. Burger, A. Wiestner // Nature Reviews Cancer. — 2018. — Vol. 18, №3. — P. 148–167.

38. Byrd, J.C. Acalabrutinib (ACP–196) in relapsed chronic lymphocytic leukemia / J.C. Byrd, B. Harrington, S. O'Brien et al. // The New England Journal Medicine. – 2016. – Vol. 374, №4. – P. 323–332.

39. Byrd, J.C. Ibrutinib Treatment for First-Line and Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia: Final Analysis of the Pivotal Phase Ib/II PCYC-1102 Study / J.C. Byrd, R.R. Furman, S.E. Coutre et al. // Clinical Cancer Research. — 2020. — Vol. 26, iss. 15. — P. 3918–3927.

40. Caamaño, E. Risk factors for readmission of COVID-19 ICU survivors: A three-year follow up / E. Caamaño, L.V. Rodrigo, S. Garcia-Ramos et al. // Indian Journal of Medical Research. — 2025. — Vol. 161, iss. 2. — P. 190–198.

41. Cai, H. Sex difference and smoking predisposition in patients with COVID-19 / H. Cai // The Lancet Respiratory Medicine. – 2020. – Vol. 8, №4. – P. e20.

42. Castro-Santos, P. HLA-A*11:01 and HLA-C*04:01 are associated with severe COVID-19 / P. Castro-Santos, A. Rojas-Martinez, J.A. Riancho et al. // HLA. – 2023. – Vol. 102, №6. – P. 731–739.

43. Cattaneo, C. High mortality in fully vaccinated hematologic patients treated with anti-CD20 antibodies during the "Omicron wave" of COVID-19 pandemic / C. Cattaneo, L. Masina, C. Pagani et al. // Hematological Oncology. – 2023. – Vol. 41. – P. 205–207.

44. Cervantes-Díaz, R. Severity of SARS-CoV-2 infection is linked to double-negative (CD27- IgD-) B cell subset numbers / R. Cervantes-Díaz, V.A. Sosa-Hernández, J. Torres-Ruíz et al. // Inflammation Research. – 2022. – Vol. 71, №1. – P. 131–140.

45. Chattopadhyay, S. Tyrosine phosphorylation in Toll-like receptor signaling / S. Chattopadhyay, G.C. Sen // Cytokine & Growth Factor Reviews. – 2014. – Vol. 25, №5. – P. 533–541.

46. Chatzikonstantinou, T. COVID-19 severity and mortality in patients with CLL: an update of the international ERIC and Campus CLL study / T. Chatzikonstantinou, A. Kapetanakis, L. Scarfò et al. // Leukemia. — 2021. — Vol. 35, iss. 12. — P. 3444–3454.

47. Chen, N. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study / N. Chen, M. Zhou, X. Dong et al. // The Lancet. — 2020. — Vol. 395, iss. 10223. — P. 507–513.

48. Chen-Camaño, R. T-cell exhaustion in COVID-19: what do we know? / R. Chen-Camaño, R. DeAntonio, S. López-Vergès // Frontiers in Immunology. — 2025. — Vol. 16. — P. 1678149.

49. Ciuffreda, L. Reinfection rate and disease severity of the BA.5 Omicron SARS-CoV-2 lineage compared to previously circulating variants of concern in the Canary Islands (Spain) / L. Ciuffreda, J.M. Lorenzo-Salazar, D.G. de Artola et al. // Emerging Microbes & Infections. – 2023. – Vol. 12. – P. 2202281.

50. Collier, D.A. Sensitivity of SARS-CoV-2 B.1.1.7 to mRNA vaccine-elicited antibodies / D.A. Collier, A. De Marco, I. Ferreira et al. // Nature. – 2021. – Vol. 593, №7857. – P. 136–141.

51. Condom, M. The direct and indirect effects of COVID-19 pandemic in a real-life hematological setting / M. Condom, A. Mussetti, C. Maluquer et al. // Cancer Reports. – 2021. – Vol. 4, №4. – P. e1358.

52. Das Barshan, A. Efficacy of COVID-19 Vaccines in Patients with Hematological Malignancy Compared to Healthy Controls: A Systematic Review and Meta-analysis / A. Das Barshan, E.L.A. Matsumoto-Takahashi // JMA Journal. – 2024. – Vol. 7, №2. – P. 153–171.

53. de Porto, A.P. Btk inhibitor ibrutinib reduces inflammatory myeloid cell responses in the lung during murine pneumococcal pneumonia / A.P. de Porto, Z. Liu, R. de Beer et al. // Molecular Medicine. — 2019. — Vol. 25, iss. 1. — P. 3.

54. Dhawan, M. Updated Insights into the T Cell-Mediated Immune Response against SARS-CoV-2: A Step towards Efficient and Reliable Vaccines / M. Dhawan, A.A. Rabaan, M.M. Fawarah et al. // Vaccines. – 2023. – Vol. 11, №1. – P. 101.

55. Di Felice, G. Effect of cancer on outcome of COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis of studies of unvaccinated patients / G. Di Felice, G. Visci, F. Teglia et al. // eLife. – 2022. – Vol. 11. – P. e74634.

56. Di Vito, C. Natural Killer Cells in SARS-CoV-2 Infection: Pathophysiology and Therapeutic Implications / C. Di Vito, F. Calcaterra, N. Coianiz et al. // Frontiers in Immunology. – 2022. – Vol. 13. – P. 888248.

57. Dutta, D. NLRP3 inflammasome activation and SARS-CoV-2-mediated hyperinflammation, cytokine storm and neurological syndromes / D. Dutta, J. Liu, H. Xiong // International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology. – 2022. – Vol. 14, №3. – P. 138–160.

58. Estupiñán, H.Y. BTK gatekeeper residue variation combined with cysteine 481 substitution causes super-resistance to irreversible inhibitors acalabrutinib, ibrutinib and zanubrutinib / H.Y. Estupiñán, Q. Wang, A. Berglöf // Leukemia. — 2021. — Vol. 35, iss. 5. — P. 1317–1329.

59. Fiedler, I. Ibrutinib induces multiple functional defects in the neutrophil response against Aspergillus fumigatus / I. Fiedler, S. Leal, T. T. Nguyen et al. // Haematologica. — 2020. — Vol. 105, iss. 3. — P. 787–799.

60. Fiorcari, S. Ibrutinib interferes with innate immunity in chronic lymphocytic leukemia patients during COVID-19 infection / S. Fiorcari, C.G. Atene, R. Maffei et al. // Haematologica. – 2021. – Vol. 106, №8. – P. 2265–2268.

61. Fleischer, M. Cytokines (IL1β, IL6, TNFα) and serum cortisol levels may not constitute reliable biomarkers to identify individuals with post-acute sequelae of COVID-19 / M. Fleischer, F. Szepanowski, A.K. Mausberg et al. // Therapeutic Advances in Neurological Disorders. – 2024. – Vol. 17. – P. 17562864241229567.

62. Florence, J.M. Inhibiting Bruton's tyrosine kinase rescues mice from lethal influenza-induced acute lung injury / J.M. Florence, A. Krupa, L.M. Booshehri et al. // American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. – 2018. – Vol. 315, №1. – P. L52–L58.

63. Fontana, L. Respiratory virus infections of the stem cell transplant recipient and the hematologic malignancy patient / L. Fontana, L. Strasfeld // Infectious Disease Clinics of North America. – 2019. – Vol. 33, №2. – P. 523–544.

64. Frerichs, K.A. Effect of daratumumab on normal plasma cells, polyclonal immunoglobulin levels, and vaccination responses in extensively pre-treated multiple myeloma patients / K.A. Frerichs, P.W.C. Bosman, J.F. van Velzen et al. // Haematologica. – 2020. – Vol. 105, №6. – P. e302–e306.

65. García-García, D. Retrospective methodology to estimate daily infections from deaths (REMEDID) in COVID-19: the Spain case study / D. García-García, M. Vigo, E.S. Fonfría et al. // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11, №1. – P. 11274.

66. García-Suárez, J. Impact of hematologic malignancy and type of cancer therapy on COVID-19 severity and mortality: lessons from a large population-based registry study / J. García-Suárez, J. de la Cruz, Á. Cedillo et al. // Journal of Hematology & Oncology. – 2020. – Vol. 13, №1. – P. 133.

67. Ghez, D. Early-onset invasive aspergillosis and other fungal infections in patients treated with ibrutinib / D. Ghez, A. Calleja, C. Protin et al. // Blood. – 2018. – Vol. 131, №17. – P. 1955–1959.

68. Goldman, J.D. COVID-19 and Cancer: Special Considerations for Patients Receiving Immunotherapy and Immunosuppressive Cancer Therapies / J.D. Goldman, M.A. Gonzalez, M.M. Rüthrich et al. // American Society of Clinical Oncology Educational Book. – 2022. – Vol. 42. – P. 1–13.

69. Goldman, J.D. COVID-19 in immunocompromised populations: implications for prognosis and repurposing of immunotherapies / J.D. Goldman, P.C. Robinson, T.S. Uldrick et al. // Journal for Immunotherapy of Cancer. – 2021. — Vol. 9, №6. —– P. e002630.

70. Gomez, E.B. Pirtobrutinib preclinical characterization: a highly selective, non–covalent (reversible) BTK inhibitor / E.B. Gomez, K. Ebata, H.S. Randeria et al. // Blood. – 2023. – Vol. 142, №1. – P. 62–72.

71. Hansen, C.H. Assessment of protection against reinfection with SARS-CoV-2 among 4 million PCR-tested individuals in Denmark in 2020: a population-level observational study / C.H. Hansen, D. Michlmayr, S.M. Gubbels et al. // Lancet. – 2021. – Vol. 397, №10280. – P. 1204–1212.

72. Hardy, N. Mortality of COVID-19 in patients with hematological malignancies versus solid tumors: a systematic literature review and meta-analysis / N. Hardy, C.T.R. Vegivinti, M. Mehta et al. // Clinical and Experimental Medicine. – 2023. – Vol. 23, №6. – P. 1945–1959.

73. Harvey, W.T. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape / W.T. Harvey, A.M. Carabelli, B. Jackson et al. // Nature Reviews Microbiology. – 2021. – Vol. 19, №7. – P. 409–424.

74. Holl, E. An Update on Flow Cytometry Analysis of Hematological Malignancies: Focus on Standardization / E. Holl, M. Kapinsky, A. Larbi // Cancers. – 2025. – Vol. 17, №12. – P. 2045.

75. Huang, W. The Inflammatory Factors Associated with Disease Severity to Predict COVID-19 Progression / W. Huang, M. Li, G. Luo et al. // Journal Immunology. – 2021. – Vol. 206, №7. – P. 1597–608.

76. Ivan, O. Rosas. Tocilizumab in hospitalized patients with severe Covid-19 Pneumonia / O. Ivan Rosas, N. Brau, M. Waters et al. // The New England Journal of Medicine. – 2021. – Vol. 384. – P. 1503–1516.

77. Jin, D. Outcomes of COVID-19 in multiple myeloma patients treated with daratumumab / D. Jin, J. He, W. Wu et al. // Cancer Science. – 2024. – Vol. 115, №1. – P. 237–246.

78. Kala, P.S. Flow Cytometry Blood Cell Identification / P.S. Kala, M. Zubair // StatPearls [Electronic resource]. — Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024. — Update: September 11, 2024. — URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK608011/

79. Kamel, S. Ibrutinib inhibits collagen-mediated but not ADP-mediated platelet aggregation / S. Kamel, L. Horton, L. Ysebaert et al. // Leukemia. – 2015. – Vol. 29, №4. – P. 783–787.

80. Knochelmann, H.M. When worlds collide: Th17 and Treg cells in cancer and autoimmunity / H.M. Knochelmann, C.J. Dwyer, S.R. Bailey et al. // Cellular & Molecular Immunology. – 2018. – Vol. 15, №5. – P. 458–469.

81. Korobova, Z.R. T Cell Dynamics in COVID-19, Long COVID and Successful Recovery / Z.R. Korobova, N.A. Arsentieva, A.A. Butenko et al. // International Journal of Molecular Sciences. — 2025. — Vol. 26, iss. 15. — P. 7258.

82. Kurata, I. T follicular helper cell subsets: a potential key player in autoimmunity / I. Kurata, I. Matsumoto, T. Sumida // Immunology Medicine. — 2021. — Vol. 44, iss. 1. — P. 1–9.

83. Le Bert, N. Highly functional virus-specific cellular immune response in asymptomatic SARS-CoV-2 infection / N. Le Bert, H. E. Clapham, A. T. Tan et al. // Journal of Experimental Medicine. — 2021. — Vol. 218, iss. 5. — P. e20202617.

84. Lee, L.Y.W. COVID-19 prevalence and mortality in patients with cancer and the effect of primary tumour subtype and patient demographics: a prospective cohort study / L.Y.W. Lee, J. B. Cazier, T. Starkey et al. // The Lancet Oncology. — 2020. — Vol. 21, iss. 10. — P. 1309–1316.

85. Li, J. The long-term health outcomes, pathophysiological mechanisms and multidisciplinary management of long COVID / J. Li, Y. Zhou, J. Ma et al. // Signal Transduction and Targeted Therapy. — 2023. — Vol. 8, iss. 1. — P. 416.

86. Liang, S. SARS-CoV-2 spike protein induces IL-18-mediated cardiopulmonary inflammation via reduced mitophagy / S. Liang, C. Bao, Z. Yang et al. // Signal Transduction and Targeted Therapy. – 2023. – Vol. 8, №1. – P. 108.

87. Limmer, A. Patients with SARS-CoV-2-Induced Viral Sepsis Simultaneously Show Immune Activation, Impaired Immune Function and a Procoagulatory Disease State / A. Limmer, A. Engler, S. Kattner et al. // Vaccines. – 2023. – Vol. 11, №2. – P. 435.

88. Long, Q. The CD38+HLA-DR+ T cells with activation and exhaustion characteristics as predictors of severity and mortality in COVID-19 patients / Q. Long, S. Song, J. Xue et al. // Frontiers in Immunology. – 2025. – Vol. 16. – P. 1577803.

89. Martínez-López, J. COVID-19 Outcomes in Patients with Hematologic Malignancies in the Era of COVID-19 Vaccination and the Omicron Variant / J. Martínez-López, J. de la Cruz, R. Gil-Manso et al. // Cancers. – 2024. – Vol. 16, №2. – P. 379.

90. Martinez-Lopez, J. COVID-19 Severity and Survival over Time in Patients with Hematologic Malignancies: A Population-Based Registry Study / J. Martinez-Lopez, J. de la Cruz, R. Gil-Manso et al. // Cancers. – 2023. – Vol. 15. – P. 1497.

91. Mato, A.R. Drivers of treatment patterns in patients with chronic lymphocytic leukemia stopping ibrutinib or idelalisib therapies / A.R. Mato, J.C. Samp, G. Gauthier et al. // Cancer Biology & Therapy. – 2018. – Vol. 19, №7. – P. 636–643.

92. Mato, A.R. NX–2127–001, a first–in–human trial of NX–2127, a Bruton's tyrosine kinase–targeted protein degrader, in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia and B–cell malignancies / A.R. Mato, W.G. Wierda, A.Z. Ai et al. // Blood. – 2022. – Vol. 140, Suppl. 1. – P. 2329–2332.

93. Mato, A.R. Pirtobrutinib in relapsed or refractory B–cell malignancies (BRUIN): a phase 1/2 study / A.R. Mato, N.N. Shah, W. Jurczak et al. // The Lancet. – 2021. – Vol. 397, №10277. – P. 892–901.

94. McMullen, J.R. Ibrutinib increases the risk of atrial fibrillation, potentially through inhibition of cardiac PI3K-Akt signaling / J.R. McMullen, E.J.H. Boey, J.Y.Y. Ooi et al. // Blood. — 2014. — Vol. 124, №25. — P. 3829–3830.

95. Merad, M. The immunology and immunopathology of COVID-19 / M. Merad, C.A. Blish, F. Sallusto et al. // Science. – 2022. – Vol. 375, №6585. – P. 1122–1127.

96. Mhibik, M. Harnessing the Effects of BTKi on T Cells for Effective Immunotherapy against CLL / M. Mhibik, A. Wiestner, C. Sun // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – Vol. 21, №1. – P. 68.

97. Montoya, S. Kinase dead BTK mutations confer resistance to covalent and noncovalent BTK inhibitors but are susceptible to clinical stage BTK degraders / S. Montoya, J. Bourcier, M.C. Thompson et al. // Blood. – 2022. – Vol. 140, Suppl. 1. – P. 1811–1813.

98. Moore, S.C. Evolution of long-term vaccine-induced and hybrid immunity in healthcare workers after different COVID-19 vaccine regimens / S.C. Moore, B. Kronsteiner, S. Longet et al. // Med. – 2023. – Vol. 4, №3. – P. 191–215.e9.

99. Morishita, M. Prolonged SARS-CoV-2 infection associated with long-term corticosteroid use in a patient with impaired B-cell immunity / M. Morishita, M. Suzuki, A. Matsunaga et al. // Journal of Infection and Chemotherapy. – 2022. – Vol. 28. – P. 971–974.

100. Munir, T. Final analysis from RESONATE: Up to six years of follow-up on ibrutinib in patients with previously treated chronic lymphocytic leukemia or small lymphocytic lymphoma / T. Munir, J. R. Brown, S. O'Brien et al. // American Journal of Hematology. — 2019. — Vol. 94, iss. 12. — P. 1353–1363.

101. Nalbandian, A. Post-acute COVID-19 syndrome / A. Nalbandian, K. Sehgal, A. Gupta et al. // Nature Medicine. – 2021. – Vol. 27, №4. – P. 601–615.

102. Naranbhai, V. Immunogenicity and Reactogenicity of SARS-CoV-2 Vaccines in Patients with Cancer: The CANVAX Cohort Study / V. Naranbhai, C.A. Pernat, A. Gavralidis et al. // Journal of Clinical Oncology. – 2022. – Vol. 40. – P. 12–23.

103. Nawaratne, V. New Means and Challenges in the Targeting of BTK / V. Nawaratne, A.K. Sondhi, O. Abdel–Wahab, J. Taylor // Clinical Cancer Research. – 2024. – Vol. 30, №11. – P. 2333–2341.

104. Nguyen, N.N. SARS-CoV-2 reinfection and COVID-19 severity / N.N. Nguyen, L. Houhamdi, V.T. Hoang et al. // Emerging Microbes & Infections. – 2022. – Vol. 11, №1. – P. 894–901.

105. Ni, Q. Mechanisms of resistance to BTK inhibitors in B cell malignancies and emerging targeted strategies / Q. Ni, L. Rui // Molecular Therapy — Oncology. — 2026. — Vol. 34, iss. 3. — P. 101297.

106. Niemann, C.U. Patients with CLL have a lower risk of death from COVID-19 in the Omicron era / C.U. Niemann, C.B. da Cunha, M. Helleberg et al. // Blood. – 2022. – Vol. 140. – P. 445–450.

107. Nosari, A. Infectious complications in chronic lymphocytic leukemia / A. Nosari // Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases. — 2012. — Vol. 4, iss. 1. — P. e2012070.

108. O'Brien, S. Safety Analysis of Four Randomized Controlled Studies of Ibrutinib in Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma or Mantle Cell Lymphoma / S. O'Brien, P. Hillmen, S. Coutre et al. // Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia. – 2018. – Vol. 18, №10. – P. 648–657.e15.

109. Oh, S.J. Neutralizing antibody responses in vaccinated and unvaccinated individuals infected with Omicron BA.1 variant / S.J. Oh, S.W. O, Y. Choi et al. // Journal of Clinical Virology. – 2022. – Vol. 155. – P. 105253.

110. Oliva, S. Cardiovascular Challenges in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) Patients Undergoing Bruton Tyrosine Kinase (BTK) Inhibitor Therapy / S. Oliva, S. Molica // European Journal of Haematology. – 2026. – Vol. 116, №2. – P. 104–115.

111. Orologas-Stavrou, N. Peripheral Blood Immune Profiling of Convalescent Plasma Donors Reveals Alterations in Specific Immune Subpopulations Even at 2 Months Post SARS-CoV-2 Infection / N. Orologas-Stavrou, M. Politou, P. Rousakis et al. // Viruses. – 2020. – Vol. 13, №1. – P. 26.

112. Pagano, L. Breakthrough COVID-19 in vaccinated patients with hematologic malignancies: Results from the EPICOVIDEHA survey / L. Pagano, J. Salmanton-Garcia, F. Marchesi et al. // Blood. – 2022. – Vol. 140. – P. 2773–2787.

113. Pagano, L. COVID-19 in vaccinated adult patients with hematological malignancies: Preliminary results from EPICOVIDEHA / L. Pagano, J. Salmanton-Garcia, F. Marchesi et al. // Blood. – 2022. – Vol. 139. – P. 1588–1592.

114. Pagano, L. COVID-19 infection in adult patients with hematological malignancies: a European Hematology Association Survey (EPICOVIDEHA) / L. Pagano, J. Salmanton-García, F. Marchesi et al. // Journal of Hematology & Oncology. – 2021. – Vol. 14, №1. – P. 168.

115. Pal, S. Bruton's tyrosine kinase in B cells and malignancies / S. Pal, F. Dammeijer, R.W. Hendriks // Molecular Cancer. – 2018. – Vol. 17, №1. – P. 57.

116. Palma, M. BTK Inhibitors in Chronic Lymphocytic Leukemia: Biological Activity and Immune Effects / M. Palma, T.A. Mulder, A. Österborg // Front. Immunol. — 2021. — Vol. 12. — P. 686768.

117. Paul, S. Treating leukemia in the time of COVID-19 / S. Paul, C.R. Rausch, N. Jain et al. // Acta Haematologica. – 2021. – Vol. 144, №2. – P. 132–145.

118. Phetsouphanh, C. Immunological dysfunction persists for 8 months following initial mild-to-moderate SARS-CoV-2 infection / C. Phetsouphanh, D.R. Darley, D.B. Wilson et al. // Nature Immunology. – 2022. – Vol. 23, №2. – P. 210–216.

119. Piñana, J.L. Booster effect after SARS-CoV-2 vaccination in immunocompromised hematology patients with prior COVID-19 / J.L. Piñana, R. Garcia-Sanz, R. Martino et al. // Blood Advances. – 2022. – Vol. 6. – P. 848–853.

120. Piñana, J.L. One-year breakthrough SARS-CoV-2 infection and correlates of protection in fully vaccinated hematological patients / J.L. Piñana, L. Vazquez, M. Calabuig et al. // Blood Cancer Journal. – 2023. – Vol. 13, №1. – P. 8.

121. Pinato, D.J. Prevalence and impact of COVID-19 sequelae on treatment and survival of patients with cancer who recovered from SARS-CoV-2 infection / D.J. Pinato, J. Tabernero, B. Bower et al. // The Lancet Oncology. – 2021. – Vol. 22. – P. 1669–1680.

122. Pleyer, C. Reconstitution of humoral immunity and decreased risk of infections in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with Bruton tyrosine kinase inhibitors / C. Pleyer, C. Sun, S. Desai et al. // Leukemia & Lymphoma. – 2020. – Vol. 61, №10. – P. 2375–2382.

123. Ponader, S. Bruton's tyrosine kinase: from X-linked agammaglobulinemia toward targeted therapy for B-cell malignancies / S. Ponader, J.A. Burger // Journal of Clinical Oncology. – 2014. – Vol. 32, №17. – P. 1830–1839.

124. Poorolajal, J. The global pandemics are getting more frequent and severe / J. Poorolajal // Journal of Research in Health Sciences. – 2021. – Vol. 21, №1. – P. e00502.

125. Quinquenel, A. Prevalence of BTK and PLCG2 mutations in a real–life CLL cohort still on ibrutinib after 3 years: a FILO group study / A. Quinquenel, L.–M. Fornecker, R. Letestu et al. // Blood. — 2019. — Vol. 134, №7. – P. 641–644.

126. Ren, X. COVID-19 immune features revealed by a large-scale single-cell transcriptome atlas / X. Ren, W. Wen, X. Fan et al. // Cell. – 2021. – Vol. 184, №7. – P. 1895–1913.

127. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Feb 28, 2020 / World Health Organization. — Geneva: WHO, 2020. — 40 p. — URL: who.int

128. Rezaei, M. The Possible Role of Bruton Tyrosine Kinase Inhibitors in the Treatment of COVID-19: A Review / M. Rezaei, S. Barati, A. Babamahmoodi et al. // Current Therapeutic Research, Clinical and Experimental. — 2022. — Vol. 96. — P. 100658.

129. Risnik, D. The effect of ibrutinib on neutrophil and γδ T cell functions / D. Risnik, E.E. Elías, I. Keitelman et al. // Leukemia & Lymphoma. – 2020. – Vol. 61, №10. – P. 2409–2418.

130. Robbins, D.W. Discovery and preclinical Pharmacology of NX-2127, an orally bioavailable degrader of bruton’s tyrosine kinase with Immunomodulatory activity for the treatment of patients with B cell malignancies / D.W. Robbins, M.A. Noviski, Y.S. Tan et al. // Journal of Medicinal Chemistry. — 2024. — Vol. 67, iss. 4. — P. 2321–2336.

131. Roschewski, M. Inhibition of Bruton tyrosine kinase in patients with severe COVID-19 / M. Roschewski, M.S. Lionakis, J.P. Sharman et al. // Science Immunology. — 2020. — Vol. 5, iss. 48. — P. eabd0110.

132. Ruchlemer, R. Ibrutinib-associated invasive fungal diseases in patients with chronic lymphocytic leukaemia and non-Hodgkin lymphoma: An observational study / R. Ruchlemer, R. Ben-Ami, M. Bar-Meir et al. // Mycoses. – 2019. – Vol. 62, №12. – P. 1140–1147.

133. Sapir, T. COVID-19 and the Immune Response: A Multi-Phasic Approach to the Treatment of COVID-19 / T. Sapir, Z. Averch, B. Lerman et al. // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23, №15. – P. 8606.

134. Scheinberg, P. Efficacy and safety of acalabrutinib with best supportive care versus best supportive care in patients with COVID-19 requiring hospitalization / P. Scheinberg, M.R. Khoshnevis, P.A. Robinson et al. // ImmunoHorizons. — 2025. — Vol. 9, iss. 7. — P. vlaf023.

135. Sekine, T. Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19 / T. Sekine, A. Perez-Potti, O. Rivera-Ballesteros et al. // Cell. – 2020. – Vol. 183, №1. – P. 158–168.e14.

136. Selliah, N. Flow cytometry method validation protocols / N. Selliah, V. Nash, S. Eck et al. // Current Protocols. – 2023. – Vol. 3. – P. e868.

137. Seymour, J.F. Detailed safety profile of acalabrutinib vs ibrutinib in previously treated chronic lymphocytic leukemia in the ELEVATE-RR trial / J.F. Seymour, J.C. Byrd, P. Ghia et al. // Blood. — 2023. — Vol. 142, №8. — P. 687–699.

138. Sharman, J.P. Acalabrutinib with or without obinutuzumab versus chlorambucil and obinutuzmab for treatment-naive chronic lymphocytic leukaemia (ELEVATE TN): a randomised, controlled, phase 3 trial / J.P. Sharman, M. Egyed, W. Jurczak et al. // Lancet. – 2020. – Vol. 395, №10232. – P. 1278–1291.

139. Sosa-Hernández, V.A. B Cell Subsets as Severity-Associated Signatures in COVID-19 Patients / V.A. Sosa-Hernández, J. Torres-Ruíz, R. Cervantes-Díaz et al. // Frontiers in Immunology. – 2020. – Vol. 11. – P. 611004.

140. Strumiliene, E. Clinical and Immunological Recovery Trajectories in Severe COVID-19 Survivors: A 12-Month Prospective Follow-Up Study / E. Strumiliene, L. Malinauskiene, J. Urboniene et al. // Viruses. – 2025. – Vol. 17, №12. – P. 1610.

141. Tam, C.S. A randomized phase 3 trial of zanubrutinib vs ibrutinib in symptomatic Waldenström macroglobulinemia: the ASPEN study / C.S. Tam, S. Opat, S. D'Sa et al. // Blood. – 2020. – Vol. 136, №18. – P. 2038–2050.

142. Tillman, B.F. Systematic review of infectious events with the BTK inhibitor ibrutinib in the treatment of haematologic malignancies / B.F. Tillman, J.M. Pauff, G.

Satyanarayana et al. // European Journal of Haematology. — 2018. — Vol. 100, №. 4. — P. 325–334.

143. Townsend, L. Prolonged elevation of IL-6 and CCL2 concentrations in convalescent COVID-19 patients is associated with prolonged symptom recovery / L. Townsend, H. Fogarty, A. Dyer et al. // Frontiers in Immunology. – 2021. – Vol. 12. – P. 688782.

144. Treon, S.P. The BTK inhibitor ibrutinib may protect against pulmonary injury in COVID-19-infected patients / S.P. Treon, J.J. Castillo, A.P. Skarbnik et al. // Blood. — 2020. — Vol. 135, №21. — P. 1912–1915.

145. Tyagi, S. Linking COVID-19 and cancer: Underlying mechanism / S. Tyagi, N. Tyagi, A. Singh et al. // Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease. — 2025. — Vol. 1871, iss. 1. — P. 167563.

146. Várnai, C. Mortality Among Adults With Cancer Undergoing Chemotherapy or Immunotherapy and Infected With COVID-19 / C. Várnai, C. Palles, R. Arnold et al. // JAMA Network Open. — 2022. — Vol. 5, iss. 2. — P. e220130.

147. Vetrie, D. The gene involved in X-linked agammaglobulinaemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinases / D. Vetrie, I. Vorechovský, P. Sideras et al. // Nature. — 1993. — Vol. 361, no. 6409. — P. 226–233.

148. Volkow-Fernández, P. Molecular Characterization of Persistent SARS-CoV-2 Infections in Immunocompromised Patients / P. Volkow-Fernández, M. Villanueva-Reza, S. Ávila-Ríos // Viruses. — 2026. — Vol. 18, iss. 2. — P. 189.

149. Volmering, S. The Neutrophil Btk Signalosome Regulates Integrin Activation during Sterile Inflammation / S. Volmering, H. Block, M. Boras et al. // Immunity. — 2016. — Vol. 44, iss. 1. — P. 73–87.

150. Wang, L. T cell immune memory after covid-19 and vaccination / L. Wang, A. Nicols, L. Turtle et al. // BMJ Medicine. — 2023. — Vol. 2, iss. 1. — P. e000468.

151. Wang, X. The role of IL-6 in coronavirus, especially in COVID-19 / X. Wang, G. Tang, Y. Liu et al. // Frontiers in Pharmacology. — 2022. — Vol. 13. — P. 1033674.

152. Wang, Y. Next-generation Bruton tyrosine kinase inhibitors and degraders in the treatment of B-cell malignancies: advances and challenges / Y. Wang, Y. Zhang, J. Liu et al. // Annals of Hematology. — 2025. — Vol. 104, iss. 8. — P. 3929–3941.

153. Weber, A.N. Targeting the NLRP3 Inflammasome via BTK / A.N. Weber // Frontiers in Cell and Developmental Biology. – 2021. – Vol. 9. – P. 630479.

154. Wen, T. Inhibitors targeting Bruton’s tyrosine kinase in cancers: drug development advances / T. Wen, J. Wang, Y. Shi et al. // Leukemia. — 2021. — Vol. 35, iss. 2. — P. 312–332.

155. Westblade, L.F. SARS-CoV-2 Viral Load Predicts Mortality in Patients with and without Cancer Who Are Hospitalized with COVID-19 / L.F. Westblade, G. Brar, L.C. Pinheiro et al. // Cancer Cell. – 2020. – Vol. 38. – P. 661–671.e2.

156. Wherry, E.J. T cell exhaustion / E.J. Wherry // Nature Immunology. – 2011. – Vol. 12, №6. – P. 492–499.

157. Wu, Z. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention / Z. Wu, J.M. McGoogan // JAMA. – 2020. — Vol. 323, №13. — P. 1239–1242.

158. Xia, S. T-cell expression of Bruton's tyrosine kinase promotes autoreactive T-cell activation and exacerbates aplastic anemia / S. Xia, X. Liu, X. Cao et al. // Cellular & Molecular Immunology. – 2020. – Vol. 17, №10. – P. 1042–1052.

159. Yang, Y. The characterization of CD8+ T-cell responses in COVID-19 / Y. Yang, H. Miller, M.G. Byazrova et al. // Emerging Microbes & Infections. – 2024. – Vol. 13, №1. – P. 2287118.

160. Yazdy, M. Toxicities and outcomes of acalabrutinib-treated patients with chronic lymphocytic leukemia: a retrospective analysis of real world patients / M. Yazdy, A. Mato, L. Roeker et al. // Blood. — 2019. — Vol. 134, suppl. 1. — P. 4311.

161. Zappasodi, P. Secondary infections worsen the outcome of COVID-19 in patients with hematological malignancies: a report from the ITA-HEMA-COV / P. Zappasodi, C. Cattaneo, V. Ferretti et al. // Hematological Oncology. – 2022. – Vol. 40, №5. – P. 846–856.

162. Zhao, B. Alterations in Phenotypes and Responses of T Cells Within 6 Months of Recovery from COVID-19: A Cohort Study / B. Zhao, M. Zhong, Q. Yang et al. // Virologica Sinica. – 2021. – Vol. 36, №5. – P. 859–868.

163. Zhou, D. The characteristics of TCR CDR3 repertoire in COVID-19 patients and SARS-CoV-2 vaccine recipients / D. Zhou, Y. Luo, Q. Ma et al. // Virulence. – 2024. – Vol. 15, №1. – P. 2421987.

164. Zhu, S. Multifaceted Immunomodulatory Effects of the BTK Inhibitors Ibrutinib and Acalabrutinib on Different Immune Cell Subsets - Beyond B Lymphocytes / S. Zhu, S. Gokhale, J. Jung et al. // Frontiers in Cell and Developmental Biology. — 2021. — Vol. 9. — P. 727531.