



ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19: КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Арипова Т.У.
Исмаилова А.А.
Холбоева Г.Б.
Убайдуллаев С.А.
Розумбетов Р.
Акбаров У.

Институт иммунологии и геномики человека Академии Наук
Республики Узбекистан, Ташкент *..Зангиота-2
<https://doi.org/10.5281/zenodo.8014047>

ARTICLE INFO

Qabul qilindi: 01-June 2023 yil
Ma'qullandi: 05-June 2023 yil
Nashr qilindi: 07-June 2023 yil

KEY WORDS

клеточный иммунитет,
иммунофенотипирование
лимфоцитов, COVID-19,
коронавирусная инфекция, Т-
лимфоциты, тяжесть
течения.

ABSTRACT

В данной статье рассмотрено иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови у пациентов с COVID-19: клинико-иммунологическая характеристика.

РЕЗЮМЕ

Проведены исследования по изучению особенностей иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови пациентов с тяжелым течением COVID-19. Выявлена лимфопения общего Т-пула лимфоцитов, также и основных субпопуляций Т-лимфоцитов, исследование которых имеет решающее значение и может дать новое понимание механизмов иммунной системы, а также иммунопатогенеза вируса. В текущем исследовании продемонстрированы лимфопения с подавлением экспрессии CD4+ и CD8+ Т-клеток, ИРИ, содержание НК-клеток особенно в группе пациентов с тяжелым течением заболевания. Аналогичным образом ранее наблюдалось снижение частоты иммунных клеток у пациентов с пневмонией, вызванной SARS-CoV и MERS-CoV. Лимфопения возникает у 84% пораженных пациентов, а частота снижения количества CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток, НК-клеток и В-клеток составляет 100%, 87%, 55% и 76% соответственно. Показано, что как CD4+, так и CD8+ Т-лимфоциты служат восприимчивыми мишенями для SARS-CoV-2. Показано, что процент апоптотических клеток значительно выше у пациентов с COVID-19 в тяжелых случаях. Так, частота иммунных клеток может быть использована в качестве потенциального индикатора и биомаркера для прогнозирования тяжести и прогноза у пациентов с COVID-19. Результаты могут помочь объяснить иммунопатогенез SARS-CoV-2 и

разработку новых биомаркеров и терапевтических стратегий для этого заболевания.

Актуальность. Коронавирусные инфекции представляют собой большое семейство РНК-вирусов, вызывающих обычную простуду и тяжелые респираторные заболевания, такие как тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС) в 2002–2003 гг. и ближневосточный респираторный синдром (БВРС) в 2012 г. Новый представитель человеческого коронавируса был недавно признан в декабре 2019 года в Ухане, провинция Хубэй, Китай, официально классифицирован как коронавирус SARS-2 (SARS-CoV-2) Международным комитетом по классификации вирусов [1,2,4,8].

SARS-CoV-2 — это новый тип коронавирусов, ранее не идентифицированный у людей [1,2,3,5]. 12 января 2020 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) назвала последний вирус причиной новой коронавирусной инфекционной болезни 2019 г. (COVID-19). В настоящее время случаи заражения COVID-19 зарегистрированы во многих странах мира [5,8,9,11]. Вспышка была объявлена ВОЗ 31 января чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение, а затем 11 марта — пандемией [6,7,9,11]. Уже известно, что клинические симптомы COVID-19 включают лихорадку, одышку, сухой кашель, мышечную боль, утомляемость, диарею и пневмонию [9,10,14,17]. У пациентов с тяжелыми клиническими проявлениями пневмония, вызванная вирусом, приводит не только к тяжелому острому респираторному синдрому, но и к полиорганной недостаточности и, в конечном итоге, к смерти [11,14,16,20,21]. Эффективные индикаторы тяжести течения заболевания, исхода болезни и терапевтического ответа еще до конца не изучены.

Исследования показали, что количество лимфоцитов периферической крови значительно снижается у большинства пациентов с COVID-19 [1,2,14,18]. В то время как защитный противовирусный иммунитет зависит от активации CD8 + Т-клеток и уничтожения инфицированных клеток, увеличение количества и функции Т-лимфоцитов у пациентов с COVID-19, что необходимо для эффективного выздоровления пациентов [11,14,15,17,20]. Так было показано, что помимо лимфопении у пациентов с COVID-19 также наблюдался синдром высвобождения цитокинов, особенно в тяжелых случаях [13,17], что ясно указывает на то, что в развитии COVID - 19 участвуют иммунные компоненты хозяина. Как синдром высвобождения цитокинов, так и лимфопения могут свидетельствовать о плохом прогнозе заболевания, что также было показано в тяжелых случаях пандемии гриппа 2009 года [11,14]. Интересно, что у тяжелых пациентов с исходным SARS-CoV также были очевидны лимфопения и синдром высвобождения цитокинов [13,15]. Известно, что эти характеристики у пациентов с COVID-19 коррелируют с тяжестью течения заболевания, нарушением регуляции иммунного ответа и повышенной смертностью [7,11,15,17,22]. Тем не менее, факторы, которые могут вызывать лимфопению и активацию цитокиновой регуляции иммунитета у пациентов с COVID-19, остаются не до конца изученными. Следовательно, в данном исследовании нами представили клинические данные, основные критерии иммунофенотипирования, включая Т-хелперы, цитотоксические Т-клетки, НК-клетки, В-клетки у пациентов с COVID-19. Надеемся, что эти результаты станут важным шагом в определении иммунопатогенеза заболевания и состояния иммунного ответа у пациентов с COVID-19.

Материал и методы исследования. Обследованы 60 госпитализированных пациентов с подтвержденным COVID-19 (34 мужчин и 26 женщин), которые были госпитализированы в больницу Зангиота – 1 и 25 практически здоровых аналогичного пола и возраста для сравнения результатов иммунофенотипирования. Диагноз COVID-19 был основан на действующих протоколах Министерства Здравоохранения РУз с использованием комбинации клинических симптомов, оценки тяжести течения заболевания, компьютерной томографии (КТ) и лабораторных данных. У всех пациентов был лабораторно подтвержден положительный результат на SARS-CoV-2 с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-PCR) образцов мазка из зева.

Критерием исключения для здоровой контрольной группы была активная респираторная инфекция, инфицирование другими инфекционными агентами (ВИЧ, сифилис, туберкулез, грипп, аденовирусная инфекция и другие респираторные вирусные инфекции), тяжелые системные заболевания, злокачественные новообразования и другие хронические заболевания, включая гематологические нарушения, кахексию, активное кровотечение, недостаточность питания, сердечно-сосудистые, почечные, нарушение функции легких и печени. Письменные согласия об информированном согласии были получены от всех здоровых лиц.

В исследовании включили 30 пациентов со среднетяжелой и 30 пациентов с тяжелой формами течения заболевания, что было основано на клинических протоколах диагностики и терапии коронавирусной инфекции, опубликованных Министерством Здравоохранения РУз.

Тяжелые пациенты были определены в соответствии со следующими критериями: частота дыхания ≥ 24 раз/мин; пульсоксиметр насыщения кислородом (SpO_2) $\leq 85\%$ в покое; парциальное давление кислорода (PaO_2) < 60 мм рт.ст..

Иммунологические исследования включали: частота и количество CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток, CD19+ В-клеток, CD16+/CD56+ NK-клеток измеряли методом проточной цитометрии с использованием человеческих моноклональных антител - CD4-фикоэритрина (PE; Cytognos), анти-CD8-флуоресцеинизотиоцианата (FITC; eBioscience), анти-CD16-PE (BD Biosciences), анти-CD19-PE (BD Biosciences), анти-CD56-PE (Immunostep) и CD95+ антитела в соответствии с инструкциями производителя. Для каждого образца также использовали соответствующие отрицательные контроли, соответствующие изотипу, чтобы вычесть фоновое окрашивание. После инкубации 100 мкл цельной крови с соответствующим количеством различных моноклональных антител (при 4°C в течение 30 мин в темноте) проводили лизис эритроцитов (RBC) с помощью набора RBC Lysis Solution на основе протокола производителя (Eskanteb Asia). Получение данных методом проточной цитометрии выполняли на системе проточного цитометра BD Accury C6. Для подсчета событий и результатов использовали программное обеспечение Flowjo (Treestar).

Весь статистический анализ и подготовка графиков были выполнены с использованием программного обеспечения GraphPad Prism версии 8.0 (GraphPad Software Inc.). Категориальные переменные были представлены как частоты или проценты, а непрерывные переменные были показаны как средние значения \pm стандартное отклонение или медианы с межквартильными диапазонами (IQR).

Параметрический двусторонний t -критерий Стьюдента и непараметрический U -критерий Манна-Уитни надлежащим образом использовались для расчета средней разницы между группами. Категориальные переменные сравнивались с использованием точного критерия Фишера. P значения менее 0,05 считались значимыми.

Полученные результаты и их обсуждение. В данном разделе представлены клинические и иммунологические данные пациентов с COVID-19, находящихся на стационарном лечении в Зангиота – 1. Всего в исследование был включен 60 пациентов со средним возрастом 56 лет. Все пациенты, инфицированные SARS-CoV-2, были подтверждены ОТ-ПЦР с образцом мазка из зева. Большинство пациентов имели следующие сопутствующие заболевания: сахарный диабет, артериальная гипертензия и хронические сердечно-сосудистые заболевания. Пациенты были разделены на среднетяжелую и тяжелую стадии тяжести течения заболевания на основании нескольких критериев, включая частоту дыхания, SpO_2 , PaO_2 , $PaCO_2$. Хотя средний возраст пациентов с тяжелой клинической стадией был больше, чем с среднетяжелой стадией, разница не была статистически значимой ($p=0,1$). По сравнению со среднетяжелыми случаями доля некоторых сопутствующих заболеваний была выше в тяжелых случаях, но разница не была статистически значимой. Клинические признаки и симптомы не отличались в среднетяжелых и тяжелых случаях, за исключением лихорадки, которая была более заметной у тяжелых пациентов. Как и ожидалось, КТ грудной клетки показала, что у пациентов с тяжелой клинической стадией вовлечение легких в большей степени, чем у пациентов со среднетяжелой формой ($p = 0,04$).

Значительные различия наблюдались в лабораторных данных пациентов с COVID-19, инфицированных на среднетяжелой и тяжелой стадиях, включая количество тромбоцитов ($p<0,0001$), общий процент лимфоцитов ($p<0,0001$), процент нейтрофилов ($p<0,0001$), процент моноцитов ($p=0,0003$), протромбиновое время ($p=0,0004$), альбумин ($p=0,0008$), общий билирубин ($p<0,0001$), лактатдегидрогеназа ($p=0,006$), мочевины крови ($p=0,03$), аланинаминотрансфераза ($p=0,01$), аспаратаминотрансфераза ($p=0,05$), С-реактивный белок ($p<0,0001$) и скорости оседания эритроцитов ($p=0,02$).

Имунофенотипирование лимфоцитов показало, что частота субпопуляций лимфоцитов периферической крови была исследована как в группах с COVID-19, так и в контрольной группе с использованием метода проточной цитометрии. Как нами и ожидалось, процент лимфоцитов был значительно достоверно ниже у пациентов с COVID-19, чем в контрольной группе ($p<0,0001$). Результаты иммунофенотипирования показали значительное снижение процентного содержания $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов у пациентов с COVID-19 по сравнению с контрольной группой ($p<0,0001$ и $p=0,01$ соответственно). Частота $CD16^+$ NK-клеток и $CD56^+$ NK-клетки статистически не различались в группах пациентов и контрольной группе ($p=0,5$, $p=0,3$ и $p=0,05$ соответственно). Из-за значительного снижения $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов процент $CD19^+$ В-клеток у пациентов с COVID-19 оказался выше, чем в контрольной группе, что было статистически значимым ($p=0,04$). Мы не смогли рассчитать абсолютное количество субпопуляции лимфоцитов периферической крови для нашей нормальной группы, но было обнаружено 90 клеток/мкл для NK и 147 клеток/мкл для $CD19^+$ В-

клетки у пациентов с COVID-19, которые были ниже их нормального диапазона в здоровой популяции. Наблюдались существенные различия в соотношении CD4+/CD8+ между группами пациентов и контрольной группой, что подтверждает подавление числа лимфоцитов и причем значительное подавление субпопуляции CD4+ у пациентов с COVID-19. Частота субпопуляций лимфоцитов при среднетяжелой и тяжелой клинической стадии у пациентов с COVID-19 показало наличие достоверных изменений по следующим иммунологическим маркерам при тяжелой стадии болезни: достоверное подавление CD3+ общего пула Т-лимфоцитов, значительное подавление CD4+ Т-хелперов/индукторов, одинаковые значения по CD8+ Т-цитотоксических лимфоцитов, значительное снижение CD16+/56+ натуральных киллеров, естественно снижение иммунорегуляторного индекса (ИРИ). В связи с важностью лимфопении при тяжелых формах COVID-19 и возможности прогнозирования лимфопении, мы суммируем проанализированные данные у пациентов с COVID-19 в зависимости от тяжести процесса. Так, процентное и абсолютное количество лимфоцитов было заметно снижено у пациентов с COVID-19 на тяжелой клинической стадии даже по сравнению с пациентами на среднетяжелой стадии заболевания ($p=0,0001$ и $p=0,001$, соответственно). Кроме того, частота и абсолютное количество CD4+ Т-лимфоцитов и CD8+ Т-лимфоцитов также были значительно снижены у тяжелых пациентов по сравнению с другими случаями ($p<0,0001$, $p<0,0001$, соответственно). Процент CD16+ и CD56+ NK-клеток был одинаковым в обеих группах пациентов ($p=0,7$ и $p=0,5$, соответственно), но абсолютные количества CD16+ и CD56+ NK-клеток были немного повышены. Как и ожидалось, и за счет снижения частоты CD4+ и CD8+ Т-клетки у тяжелых пациентов, процент CD19+ В-клеток был немного повышен в тяжелых случаях, чем у других пациентов, но при этом абсолютное количество не различалось между группами ($p=0,5$). И как мы уже писали, наблюдалась существенная разница в соотношении CD4+/CD8+ между изучаемыми группами пациентов, причем при тяжелом течении отмечалось значительное подавление иммунорегуляторного индекса.

Важным аспектом изучения иммунофенотипирования является исследование маркера апоптоза CD95+ на проточной цитофлуориметрии. Так, нами исследован апоптоз лимфоцитов на фоне тяжелого течения COVID-19, который оценивали и сравнивали с контрольной группой с использованием метода обнаружения аннексина V-FITC/PI на основе проточной цитофлуориметрии. Наши результаты показали, что процент апоптотических клеток был заметно достоверно увеличен у пациентов с COVID-19 по сравнению с контрольной группой ($p<0,0001$). Кроме того, частота апоптотических клеток была значительно выше у пациентов с тяжелым течением COVID-19 по сравнению даже со среднетяжелым течением заболевания, что подтверждает достоверную интенсивную лимфопению в тяжелых случаях заболевания ($p=0,04$). Наши исследования показали, что процентное содержание в норме CD95+ составило $22,3\pm 1,02\%$, при среднетяжелом течении - $31,5\pm 2,1\%$, а при тяжелом течении заболевания - $35,8\pm 1,6\%$, как видно, все значения между исследуемыми группами оказались достоверно различимыми, что имеет важное диагностическое и прогностическое значение. Полученные результаты оказались достоверно различимыми, что отражает важность проведенных исследований, результаты

которых были сопоставимы с клиническим течением заболевания.

Мы знаем, что заражение коронавирусом может вызывать длительные реакции цитокинов и хемокинов, что приводит к иммунным дефектам и смерти некоторых пациентов. Противовирусный иммунитет хозяина к этому вирусу зависит от взаимодействия между врожденным и адаптивным иммунным ответом, и все компоненты иммунной системы хозяина, включая CD4+ Т-клетки, CD8+ Т-клетки, NK-клетки и В-клетки, играют жизненно важную роль в успешной противовирусной защите и элиминации вируса.

Таким образом, у пациентов с COVID-19 выявлена лимфопения, знание структуры субпопуляций лимфоцитов имеет решающее значение и может дать новое понимание механизмов иммунной системы, а также иммунопатогенеза вируса. Следовательно, в текущем исследовании мы продемонстрировали, что у большинства инфицированных пациентов наблюдается лимфопения при поступлении в больницу, а частота CD4+ и CD8+ Т-клеток заметно подавлена у пациентов с COVID-19. Важно отметить, что количество CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток и NK-клеток было в большей степени снижено у больных в тяжелой клинической стадии. Так, заболеваемость COVID-19 и ее развитие зависят от взаимодействия между вирусом и иммунным ответом инфицированных пациентов. Установлено, что Т-клетки непосредственно убивают инфицированные вирусом клетки, чтобы уничтожить вирус и вызвать выработку цитокинов, которые повышают противовирусный иммунитет Т-клеток и других иммунных клеток, таких как В-клетки, NK-клетки и макрофаги. Как и у многих других вирусов, у этого патогена реализована защитная функция как гуморального, так и клеточного иммунитета. Хотя лимфоциты, и особенно Т-клетки, необходимы для противовирусного иммунного ответа, несколько исследований показали, что пациенты с COVID-19 страдают лимфопенией, а количество лимфоцитов у большинства пациентов значительно снижено. Основываясь на этих выводах, исследователи предполагают, что SARS-CoV-2 поражает лимфоциты, особенно Т-клетки, а затем в ходе болезни возникают дефекты в иммунной системе. В этом исследовании была проведена проточная цитометрия для определения частоты субпопуляций лимфоцитов в периферической крови пациентов с COVID-19. Хотя было обнаружено заметное снижение CD4+ и CD8+ Т-клеток пациентов с COVID-19 не было существенной разницы в процентном содержании NK-клеток по сравнению с нормальной группой. В различных публикациях указывалось, что количество CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клетки, В-клетки и NK-клетки в периферической крови пациентов с COVID-19 имели более низкий уровень, чем у контрольной группы. Аналогичным образом ранее наблюдалось снижение частоты иммунных клеток у пациентов с пневмонией, вызванной SARS-CoV и MERS-CoV. Отчеты о субпопуляции лимфоцитов при SARS-CoV показали, что лимфопения возникает у 84% пораженных пациентов, а частота снижения количества CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток, NK-клеток и В-клеток составляет 100%, 87%, 55% и 76% соответственно. Однако, на многие вопросы, мы еще не смогли найти ответы. До сих пор остается выяснить, какие факторы способствуют снижению лимфоцитов у пациентов с COVID-19. Так, некоторые авторы предположили прямую цитотоксическую активность SARS-CoV-2 в отношении Т-клеток, чтобы прояснить истощение лимфоцитов, о котором сообщалось в тяжелых случаях COVID-19

[5,9,12,13,22]. Другие исследования показали, что факторы хозяина, включая старение, диабет, гипертонию, сердечно-сосудистые, цереброваскулярные и хронические заболевания, также могут вызывать лимфопению в этих случаях, а также могут быть вызваны присоединением вируса или косвенно иммунными повреждениями медиаторов воспаления. Кроме того, механизмы делеции Т-клеток могут быть связаны с прямой цитопатической инвазией SRAS-CoV-2, о которой ранее сообщалось и которая была подтверждена при инфекции MERS-CoV [1,4,5,9,15,17,20].

Так, у пациентов с тяжелым течением COVID-19 наблюдалось значительное снижение количества лимфоцитов, что согласуется с другими отчетами о COVID-19. Дальнейшая оценка субпопуляций лимфоцитов также показала, что количество всех субпопуляций лимфоцитов, включая CD4+ Т-клетки, CD8+ Т-клетки, CD16+ и CD56+ NK-клетки, было значительно ниже у тяжелых пациентов по сравнению с пациентами с более легкими случаями, которые согласуется с результатами предыдущих исследований SARS-CoV и SARS-CoV-2. Следовательно, лимфоциты и их субпопуляции могут быть потенциальными предикторами клинической эффективности и тяжести заболевания при COVID-19. У пациентов с COVID-19 соотношение CD4+/CD8+ было ниже в зависимости от степени тяжести течения заболевания. Показано, что как CD4+, так и CD8+ Т-лимфоциты служат восприимчивыми мишенями для SARS-CoV-2. Наши результаты также показали, что процент апоптотических клеток значительно выше у пациентов с COVID-19, чем у контрольной группы, которая была более очевидной в тяжелых случаях. Выработка аутоантител, вызванная вирусной инфекцией, может способствовать апоптозу и ингибированию роста гемопоэтических клеток, что также может снижать образование и дифференцировку Т-клеток и других лимфоцитов. Исходя из предыдущих данных, SARS-CoV-2 может обладать способностью индуцировать внутренний и внешний пути апоптоза и стимулировать апоптоз Т-клеток, как это также наблюдалось в случаях MERS-CoV [5,9,11,17,19]. В заключение мы оценили клинические и лабораторные особенности COVID-19 и их связь с изменениями субпопуляции лимфоцитов. Наши результаты показали, что снижение числа CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток и NK-клеток коррелирует с течением и тяжестью заболевания у пациентов с COVID-19. Частота иммунных клеток может быть использована в качестве потенциального индикатора и биомаркера для прогнозирования тяжести и прогноза у пациентов с COVID-19. Результаты могут помочь объяснить иммунопатогенез SARS-CoV-2 и разработку новых биомаркеров и терапевтических стратегий для этого заболевания.

Список использованной литературы:

1. de Groot RJ, Baker SC, Baric RS, et al. Commentary: Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): announcement of the coronavirus study group. *J Virol.* 2013; 87(14): 7790- 7792.
2. Kuiken T, Fouchier RA, Schutten M, et al. Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome. *The Lancet.* 2003; 362(9380): 263- 270.
3. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet.* 2020; 395(10223): 497- 506.
4. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020; 579(7798): 265- 269.

5. Zhang J, Dong X, Cao Y, et al. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy*. 2020; 75: 1730- 1741. Wiley Online.
6. Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020; 323(11): 1061- 1069.
7. Fei J, Fu L, Li Y, et al. Reduction of lymphocyte at early stage elevates severity and death risk of COVID-19 patients: a hospital-based case-cohort study [published online ahead of print April 6, 2020]. *medRxiv*. 2020.
8. Wang F, Nie J, Wang H, et al. Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 pneumonia. *The J Infect Dis*. 2020; 221(11): 1762- 1769.
9. He R, Lu Z, Zhang L, et al. The clinical course and its correlated immune status in COVID-19 pneumonia. *J Clin Virol*. 2020; 127:104361.
10. Daniel M. Lasser, Judith Chervenak, Robert M. Moore, Tianying Li, Clementine Knight, Hugo O. Teo, Yogangi Malhotra, Severity of COVID-19 Respiratory Complications during Pregnancy are Associated with Degree of Lymphopenia and Neutrophil to Lymphocyte Ratio on Presentation: A Multicenter Cohort Study, *American Journal of Perinatology*, 10.1055/s-0041-1732421, (2021).
11. Diao B, Wang C, Tan Y, et al. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Front Immunol*. 2020; 11(11): 827.
12. Zheng H-Y, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cellular & Mol Immunol*. 2020: 1- 3.
13. Bermejo-Martin JF, Almansa R, Menéndez R, Mendez R, Kelvin DJ, Torres A. Lymphopenic community acquired pneumonia as signature of severe COVID-19 infection. *J Infect*. 2020; 80: e23- e24.
14. Lee N, Hui D, Wu A, et al. A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med*. 2003; 348(20): 1986- 1994.
15. Ganji A, Farahani I, Khansarinejad B, Ghazavi A, Mosayebi G. Increased expression of CD8 marker on T-cells in COVID-19 patients. *Blood Cells Mol Dis*. 2020; 83:102437.
16. Rokni M, Ghasemi V, Tavakoli Z, Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: comparison with SARS and MERS. *Reviews in Medical Virology*, 2020.
17. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal*. 2020; 10: 102- 108.
18. Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*. 2020; 71: 762- 768.
19. He Z, Zhao C, Dong Q, et al. Effects of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus infection on peripheral blood lymphocytes and their subsets. *Int J Infect Dis*. 2005; 9(6): 323- 330.
20. Cui W, Fan Y, Wu W, Zhang F, Wang J, Ni A. Expression of lymphocytes and lymphocyte subsets in patients with severe acute respiratory syndrome. *Clin Infect Dis*. 2003; 37(6): 857- 859.
21. Chu H, Zhou J, Wong BHY, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus efficiently infects human primary T lymphocytes and activates the extrinsic and intrinsic apoptosis pathways. *The J Infect Dis*. 2016; 213(6): 904- 914.

22. Wen An, Ju-seop Kang, Qiuyang Wang, Tae-Eun Kim, Cardiac biomarkers and COVID-19: a systematic review and meta-analysis, *Journal of Infection and Public Health*, 10.1016/j.jiph.2021.07.016, (2021).



INNOVATIVE
ACADEMY