

Роль тучных клеток и их протеаз в поражении легких у пациентов с COVID-19

А.В.Будневский¹, С.Н.Авдеев², Е.С.Овсянников¹, В.В.Шишкина¹, Д.И.Есауленко¹, А.А.Филин¹, И.А.Савушкина¹ ✉, И.М.Первеева³, Н.Г.Алексеева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н.Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 394036, Россия, Воронеж, ул. Студенческая, 10

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет): 119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

³ Бюджетное учреждение здравоохранения Воронежской области «Воронежская областная клиническая больница № 1»: 394066, Воронеж, Московский проспект, 151

Резюме

В период пандемии новой коронавирусной инфекции (НКИ) COVID-19 (*COroNaVirus Disease 2019*), вызванной вирусом SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome-related CoronaVirus 2*), перед наукой и общественным здравоохранением поставлены сложные задачи. Проблема лечения COVID-19 по-прежнему актуальна, в связи с этим необходимо детально изучать патогенез COVID-19, в т. ч. участие в нем тучных клеток (ТК) и их специфических протеаз. **Целью** исследования явилось уточнение роли протеаз ТК – химазы, триптазы и карбоксипептидазы А3 (СРА3) – в развитии поражения легких у пациентов с COVID-19. **Материалы и методы.** В исследование включены образцы аутопсийного материала легких, полученные от пациентов ($n = 30$), умерших после COVID-19 тяжелого течения, и пациентов ($n = 9$) контрольной группы с последующей подготовкой гистологических препаратов, анализом протеазного профиля и дегрануляционной активности ТК. Также проводился анализ некоторых демографических и клинико-лабораторных показателей. **Результаты.** У пациентов с COVID-19 среднее количество триптаза-позитивных ТК без признаков дегрануляции и общее количество СРА3-позитивных ТК было статистически значимо выше, а фрагментов триптаза- и СРА3-позитивных ТК – ниже. Установлены отрицательные корреляционные связи между количеством триптаза-позитивных ТК и содержанием эритроцитов крови в общем анализе крови (ОАК). Установлена отрицательная корреляция количества недегранулирующих триптаза-позитивных ТК с содержанием гемоглобина по результатам ОАК. Установлены положительные корреляции триптаза-позитивных ТК с содержанием лейкоцитов и эозинофилов в ОАК и отрицательные – между количеством СРА3-позитивных клеток и содержанием тромбоцитов. Установлена прямая корреляция между количеством совместно прилежащих, а также фрагментов триптаза-позитивных ТК с показателем скорости оседания эритроцитов (СОЭ). Обнаружена отрицательная корреляция между количеством СРА3-позитивных ТК без признаков дегрануляции и уровнем С-реактивного белка крови. У пациентов с COVID-19 обнаружена сниженная дегрануляционная активность триптаза-позитивных ТК наряду с повышенным представительством СРА3-позитивных. Отмечены некоторые возрастные тенденции и связи с лабораторными показателями. Рассматривается потенциальное участие ТК в развитии анемии и тромбоцитопении, установлены связи триптаза-позитивных ТК с уровнем лейкоцитов и эозинофилов периферической крови, а также СОЭ. **Заключение.** Полученные результаты весьма противоречивы. Многие аспекты участия ТК и их протеаз в патогенезе COVID-19 остаются неясными, что обуславливает необходимость проведения исследований на более крупных когортах пациентов.

Ключевые слова: тучные клетки, COVID-19, поражение легких, химаза, триптаза, карбоксипептидаза А3.

Конфликт интересов. Конфликт интересов авторами не заявлен.

Финансирование. Спонсорская и финансовая поддержка работы отсутствовала.

Этическая экспертиза. Протокол исследования от 17.11.21 № 8 одобрен Локальным этическим комитетом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н.Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации. От пациентов получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

© Будневский А.В. и соавт., 2023

Для цитирования: Будневский А.В., Авдеев С.Н., Овсянников Е.С., Шишкина В.В., Есауленко Д.И., Филин А.А., Савушкина И.А., Первеева И.М., Алексеева Н.Г. Роль тучных клеток и их протеаз в поражении легких у пациентов с COVID-19. *Пульмонология*. 2023; 33 (1): 17–26. DOI: 10.18093/0869-0189-2023-33-1-17-26

The role of mast cells and their proteases in lung damage associated with COVID-19

Andrey V. Budnevsky¹, Sergey N. Avdeev², Evgeniy S. Ovsyannikov¹, Viktoriya V. Shishkina¹, Dmitry I. Esaulenko¹, Andrey A. Filin¹, Inessa A. Savushkina¹ ✉, Inna M. Perveeva⁴, Nadezhda G. Alekseeva¹

¹ State Budgetary Institution of Higher Professional Education “Voronezh State Medical University named after N.N.Burdenko”, Ministry of Public Health of the Russian Federation: Studencheskaya 10, Voronezh, 394622, Russia

² Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M.Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University): ul. Trubetskaya 8, build. 2, Moscow, 119991, Russia

³ Budgetary healthcare institution of the Voronezh region “Voronezh Regional Clinical Hospital No.1”: Moskovskiy prosp. 151, Voronezh, 394066, Russia

Abstract

The new coronavirus infection COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) caused by SARS-CoV-2, has posed scientific and public health challenges. The problem of treating COVID-19 still remains, and the pathogenesis of COVID-19 needs to be studied in detail, including the involvement of mast cells (MCs) and their specific proteases. **The aim** of this study was to characterize the role of mast cell proteases chymase, tryptase, and carboxypeptidase A3 (CPA3) in the lung damage associated with COVID-19. **Methods.** The study included postmortem lung biopsies from 30 patients who died of severe COVID-19, and biopsies from 9 control group patients. Histological preparations were made and protease profile and degranulation activity of MCs were analyzed. In addition, some demographic, clinical, and laboratory parameters were analyzed. **Results.** The average number of tryptase-positive MCs without evidence of degranulation and the total number of CPA3-positive MCs were statistically significantly higher in patients with COVID-19, and the number of tryptase-positive and CPA3-positive MCs fragments was lower compared with controls. Negative correlations were established between the numbers of tryptase-positive MCs and red blood cell count. Negative correlations were found between non-granulating tryptase-positive MCs and hemoglobin levels. Positive correlations were noted between tryptase-positive MCs and the leukocytes and eosinophils counts, and negative correlations were noted between the number of CPA3-positive cells and the platelet count. A positive correlation was found between the number of adjoining MCs, as well as fragments of tryptase-positive MCs, and the erythrocyte sedimentation rate (ESR). A negative correlation was also observed between the number of non-degranulated CPA3-positive MCs and the blood level of C-reactive protein. In patients with COVID-19, reduced degranulation activity of tryptase-positive MCs was found along with increased representation of CPA3-positive MCs. Several trends and associations with laboratory test results were noted. The potential involvement of MCs in the development of anemia and thrombocytopenia is considered. Associations were established between tryptase-positive MCs and the peripheral blood counts of leukocytes and eosinophils, as well as ESR. **Conclusion.** The results obtained are highly contradictory. Since many aspects of the involvement of MCs and their proteases in COVID-19 pathogenesis are still unknown, studies with larger cohorts of patients are needed.

Key words: mast cells, COVID-19, lung damage, chymase, tryptase, carboxypeptidase A3.

Conflict of interest. The authors report that there is no conflict of interest.

Funding. There was no sponsorship or financial support for the article.

Ethical review. The study protocol No.8 was approved by the Local Ethics Committee of State Budgetary Institution of Higher Professional Education "Voronezh State Medical University named after N.N.Burdenko", Ministry of Public Health of the Russian Federation, on November 17, 2021. Written informed voluntary consents were obtained.

© Budnevsky A.V. et al., 2023

For citation: Budnevsky A.V., Avdeev S.N., Ovsyannikov E.S., Shishkina V.V., Esaulenko D.I., Filin A.A., Savushkina I.A., Perveeva I.M., Alekseeva N.G. The role of mast cells and their proteases in lung damage associated with COVID-19. *Pul'monologiya*. 2023; 33 (1): 17–26 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2023-33-1-17-26

Новая коронавирусная инфекция (НКИ) COVID-19 (*CoronaVirus Disease 2019*), вызванная вирусом SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome-related CoronaVirus 2*), впервые зарегистрирована в декабре 2019 г. в Ухане (Китай). После объявления пандемии COVID-19 перед наукой и общественным здравоохранением встали сложные задачи. Известно, что при воздействии вируса может наблюдаться как бессимптомное, так и тяжелое течение заболевания с развитием острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и полиорганной недостаточностью вплоть до летального исхода [1]. Критическая форма COVID-19 является разновидностью «цитокинового шторма», который характеризуется гиперактивацией Т-клеток, макрофагов и натуральных киллеров с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов и хемокинов [1, 2].

Тучные клетки (ТК) – это иммунные клетки миелоидного ряда, представленные по всему организму, которые синтезируют большое количество цитокинов, хемокинов и других медиаторов и регулируют функции иммунных клеток (макрофагов, гранулоцитов, Т-клеток, В-клеток и натуральных киллеров) [3]. ТК вовлечены в патофизиологию аллергических реакций, иммунного ответа, воспаления, желудочно-кишечных расстройств, многих видов злокачественных новообразований и некоторых сердечно-сосудистых заболеваний [4, 5]. Уже известна важная роль ТК в патогенезе бронхиальной астмы (БА), рассматривается также их участие в патогенезе хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [6]. Кроме того, появляется все больше данных о роли ТК в поражении легких при COVID-19 [3, 7–9].

ТК выделяются из гранул или секретируются *de novo* биологически активными веществами – гистамином, гепарином, протеазами (β -триптаза, химаза, карбоксипептидаза А3 (CPA3), цитокинами (интерлейкины (IL)-6, IL-1, IL-31, IL-33 и фактор некроза опухоли- α), простагландинами и лейкотриенами, факторами роста и др. [10], некоторые из которых усугубляют воспаление при COVID-19 [11].

Известно, что экспрессируемая ТК триптаза играет роль в инфицировании организма SARS-CoV-2 [12], а химаза участвует в активном гидролизе ангиотензина I в ангиотензин II, являясь участником развития легочной гипертензии [13].

Таким образом, имеется много предпосылок для растущего интереса к биологии ТК и роли их медиаторов, в т. ч. специфических ферментов, в патогенезе НКИ COVID-19. Учитывая актуальность разработки новых методов лечения данного заболевания [14], можно рассматривать ТК как потенциальную мишень для воздействия патогенетической терапии [9].

Целью исследования явилось уточнение роли протеаз ТК – химазы, триптазы и CPA3 в развитии поражения легких у пациентов с COVID-19.

Материалы и методы

В исследование были включены пациенты ($n = 30$: 15 (50 %) мужчин, 15 (50 %) женщин; средний возраст – $67,2 \pm 11,7$ года) с установленным диагнозом COVID-19 тяжелого и крайне тяжелого течения, подтвержденным методом полимеразной цепной реакции, с развитием двусторонней вирусной внебольничной пневмонии, ОРДС (при установлении диагноза

ОРДС использовались диагностические критерии «Берлинская дефиниция» ОРДС – *The ARDS Definition Task Force* [15, 16], получавших лечение в отделениях для лечения COVID-19 в период с сентября 2021 по март 2022 г. и умерших в результате COVID-19.

Забор аутопсийного материала легких у умерших больных основной группы осуществлялся на базах патологоанатомических отделений стационаров. В контрольную группу были включены пациенты ($n = 9$: 4 (44 %) мужчины, 5 (56 %) женщин; средний возраст – $63,42 \pm 10,80$ года), умершие от внешних причин; забор аутопсийного материала легких в этом случае осуществлялся на базе бюро судебно-медицинской экспертизы.

В исследование не включались пациенты с хроническими заболеваниями органов дыхания (БА, ХОБЛ, хронический бронхит, профессиональные заболевания легких) и другими (кроме COVID-19) инфекционными заболеваниями легких (пневмонии другой этиологии, туберкулез и др.), тромбозом легочной артерии, онкологическими, в т. ч. онкогематологическими заболеваниями, гепатитом, циррозом печени.

Демографические показатели и наличие сопутствующих заболеваний представлены в табл. 1.

Аутопсийный материал подвергался фиксации в 10%-ном нейтральном забуференном формалине и заливке в парафин с последующим изготовлением срезов толщиной 5 мкм для окрашивания гематоксилином и эозином и красителем Гимза и ультратонких срезов толщиной 2 мкм для иммуногистохимического анализа. Иммуногистохимическое окрашивание выполнялось по стандартному протоколу [17], при этом выявлялись триптаза, химаза и СРАЗ ТК. Идентификация протеаз проводилась с помощью первичных мышинных антител *Anti-Mast Cell Tryptase antibody* (клон AA1, #ab2378; разведение 1 : 4 000), *Anti-Mast Cell Chymase antibody* (#ab233103; разведение 1 : 1 000) и *Anti-CРАЗ* (#ab251685; разведение 1 : 1 000). В качестве вторичных антител применялись козы и антикроличьи антитела #AS-R1-HRP, которые визуализировались *ImmPAC-TM DAB Peroxidase Substrat Kit* (#SK-4105) по протоколу, указанному в инструкции. Ядра контрастировались гематоксилином Майера, после чего срезы помещались в монтажную среду. Состояние активации ТК оценивались по количественному представителю триптаза-, химаза- и СРАЗ-позитивных ТК [18–20].

Микропрепараты анализировались с помощью микроскопа *Zeiss Axio Imager.A2* (*Carl Zeiss*, Германия) с системой фотодокументирования изображений и цифровой камерой *Camera Axiocam 506 color* (*Carl Zeiss*, Германия). Обработка изображений осуществлялась в программе ZEN 2.3. ТК подсчитывались при помощи объектива $\times 40$ с анализом ≥ 50 полей зрения. При анализе микропрепаратов подсчитывалось общее число ТК с распределением по степени дегрануляции. Также проводился количественный анализ протеазного профиля (триптаза, химаза, СРАЗ) на 1 мм².

Анализ препаратов осуществлялся на базе Научно-исследовательского института экспериментальной

Таблица 1
Демографическая характеристика пациентов и наличие сопутствующих заболеваний

Table 1
Demographic characteristics of patients and their comorbidities

Показатель	Основная группа	Контрольная группа
Число пациентов, n (%):	30 (100)	9 (100)
Пол, n (%):		
• мужчины	15 (50)	4 (44)
• женщины	15 (50)	5 (56)
Возраст, годы	$67,2 \pm 11,7$	$63,42 \pm 10,8$
ПЦР SARS-CoV-2 «+», n (%)	30 (100)	0 (0)
Двусторонняя пневмония, n (%)	30 (100)	0 (0)
ОРДС, n (%)	30 (100)	0 (0)
Сахарный диабет 2-го типа, n (%)	8 (27)	2 (22)
Гипертоническая болезнь, n (%)	26 (87)	8 (89)
Хроническая ишемическая болезнь сердца, n (%)	4 (13)	1 (11)
Ишемический инсульт, n (%)	2 (7)	1 (11)
ХСН, n (%)	11 (37)	3 (33)
Стадия* ХСН, n (%):		
• I	2 (7)	1 (11)
• IIА	9 (30)	2 (22)
• IIБ	0 (0)	0 (0)
• III	0 (0)	0 (0)
Ожирение, n (%)	13 (43)	4 (44)
Степень ожирения, n (%):		
• I	4 (13)	1 (11)
• II	3 (10)	1 (11)
• III	6 (20)	2 (22)
Хроническая болезнь почек, n (%)	2 (7)	1 (11)

Примечание: ПЦР – полимеразная цепная реакция; ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; стадии хронической сердечной недостаточности указаны по классификации Д.Н. Стажеско и В.Х. Василенко.

Note: * stages of chronic heart failure were classified according to D.N. Stazhesko and V.Kh. Vasilenko.

биологии и медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н.Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

У пациентов основной группы при поступлении в стационар и как минимум однократно в динамике выполнялись стандартный общий (ОАК) и биохимический анализы крови с определением уровня креатинина, мочевины, глюкозы, аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, общего билирубина и С-реактивного белка (СРБ).

Результаты подвергались статистической обработке с помощью программы *Statgraphics Centurion XV*. Нормальность распределения данных оценивалась с помощью нормализованных коэффициентов эксцес-

са и асимметрии, а также критерия Шапиро–Уилка. Количественные данные при нормальном распределении представлены в виде $M \pm \sigma$, где M – выборочное среднее, σ – стандартное отклонение, при ненормальном – в виде $Me (V_{0,25}; V_{0,75})$, где Me – медиана, $V_{0,25}$ и $V_{0,75}$ – верхний и нижний квартили соответственно. Корреляционный анализ в основной группе производился с использованием коэффициента корреляции Спирмена. Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты

В ходе исследования определено среднее количество триптаза-позитивных, химаза-позитивных, СРАЗ-позитивных ТК на 1 мм² в группах COVID-19 и контроля. Кроме того, в каждой группе были оценены количество триптаза-, химаза- и СРАЗ-позитивных ТК с признаками дегрануляции, без дегрануляции, фрагментов ТК, а также совместных прилежаний ТК. Результаты численно представлены в табл. 2, графически – на рис. 1–3.

В тканях легких у пациентов с COVID-19 обнаружено обширное представительство ТК с различным протеазным профилем и дегрануляционной активностью (рис. 4–6).

Статистически значимых различий в общем количестве триптаза-позитивных ТК, так же, как и химаза-позитивных ТК, у пациентов исследуемых групп

не обнаружено. Однако стоит отметить статистически значимое различие на уровне, близком к абсолютному, в среднем количестве триптаза-позитивных ТК без признаков дегрануляции на 1 мм² между группой пациентов с COVID-19 и контролем ($p < 0,0001$). В группе пациентов с COVID-19 количество триптаза-позитивных ТК с признаками дегрануляции было меньше такового в группе контроля, но статистически значимых различий не установлено. Однако фрагменты триптаза-позитивных ТК в статистически значимо меньшем количестве были представлены у пациентов с COVID-19 ($p = 0,0001$). В совокупности эти данные могут свидетельствовать о сниженной дегрануляционной активности триптаза-позитивных ТК у пациентов с COVID-19.

Среди химаза-позитивных ТК дегранулированные ТК и фрагменты ТК в легких пациентов с COVID-19 представлены в меньшей степени, чем в контроле, однако без статистически значимых различий. Химаза-позитивные ТК без признаков дегрануляции более широко представлены в основной группе по сравнению с контролем ($p = 0,0455$).

Иные результаты получены относительно активности СРАЗ-позитивных ТК в исследуемом материале. Обнаружено статистически значимо большее общее количество СРАЗ-позитивных ТК на 1 мм² в основной группе по сравнению с таковым в группе контроля и меньшее количество фрагментов ТК ($p = 0,0411$ и $0,0355$ соответственно).

Таблица 2
Протеазный профиль (триптаза, химаза, карбоксипептидаза-А3) и секреторная активность тучных клеток в тканях легких у пациентов основной и контрольной групп

Table 2
Protease profile (trypsin, chymase, carboxypeptidase-A3) and secretory activity of mast cells in lung tissues of patients from the main and control groups

Показатель	Основная группа (n = 30)	Контрольная группа (n = 9)	p-value
Среднее количество триптаза-позитивных ТК на 1 мм ²			
ТК без признаков дегрануляции	11,54 (8,57; 18,13)	2,0 (1,78; 2,44)	0,0000
Дегранулированные ТК	12,74 (9,2; 31,6)	19,78 (15,78; 26,2)	0,2501
Фрагменты ТК	1,14 (0,0; 3,56)	7,56 (5,78; 10,22)	0,0001
Совместное прилежание ТК	0,635 (0,0; 1,6)	1,33 (0,89; 1,78)	0,1383
Всего	27,265 (21,2; 42,35)	28,0 (24,0; 35,11)	0,8545
Среднее количество химаза-позитивных ТК на 1 мм ²			
ТК без признаков дегрануляции	2,07 (1,18; 2,82)	1,11 (0,89; 1,11)	0,0455
Дегранулированные ТК	2,705 (1,62; 4,2)	4,44 (2,0; 5,33)	0,4138
Фрагменты ТК	0,56 (0,0; 1,04)	0,67 (0,44; 0,89)	0,6201
Совместное прилежание ТК	0,0 (0,0; 0,34)	0,44 (0,44; 0,89)	0,1044
Всего	4,93 (3,8; 9,2)	5,56 (3,56; 6,44)	0,8807
Среднее количество СРАЗ-позитивных ТК на 1 мм ²			
ТК без признаков дегрануляции	5,07 (4,36; 6,86)	4,025 (2,935; 6,035)	0,1032
Дегранулированные ТК	2,465 (1,15; 4,62)	1,52 (0,86; 3,105)	0,2442
Фрагменты ТК	0,0 (0,0; 1,15)	1,44 (0,85; 2,58)	0,0355
Совместное прилежание ТК	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,9197
Всего	7,795 (6,88; 10,56)	6,02 (5,36; 8,085)	0,0411

Примечание: СРАЗ – карбоксипептидаза А3; ТК – тучные клетки.

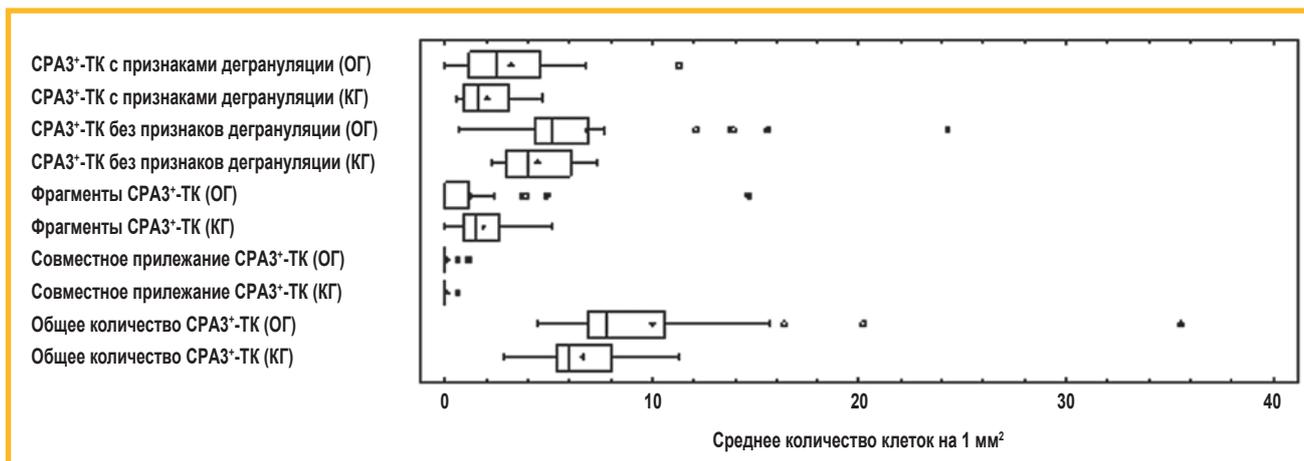


Рис. 1. Секреторная активность СРА3-позитивных тучных клеток в тканях легких пациентов основной и контрольной групп (диаграмма *Box-and-Whisker Plot*)

Примечание: СРА3 – карбоксипептидаза А3; ТК – тучные клетки; ОГ – основная группа; КГ – контрольная группа.

Figure 1. Secretory activity of SPAS-positive mast cells in lung tissues of patients from the main and control groups (*Box-and-Whisker Plot*)

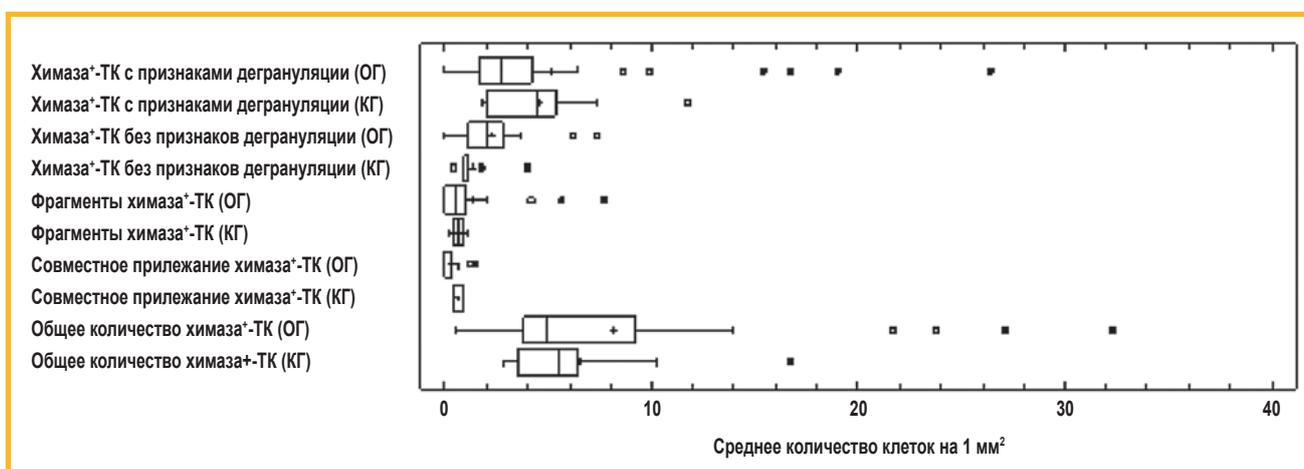


Рис. 2. Секреторная активность химаза-позитивных тучных клеток в тканях легких пациентов основной и контрольной групп (диаграмма *Box-and-Whisker Plot*)

Примечание: ТК – тучные клетки; ОГ – основная группа; КГ – контрольная группа.

Figure 2. Secretory activity of chymase-positive mast cells in lung tissues of patients from the main and control groups (*Box-and-Whisker Plot*)

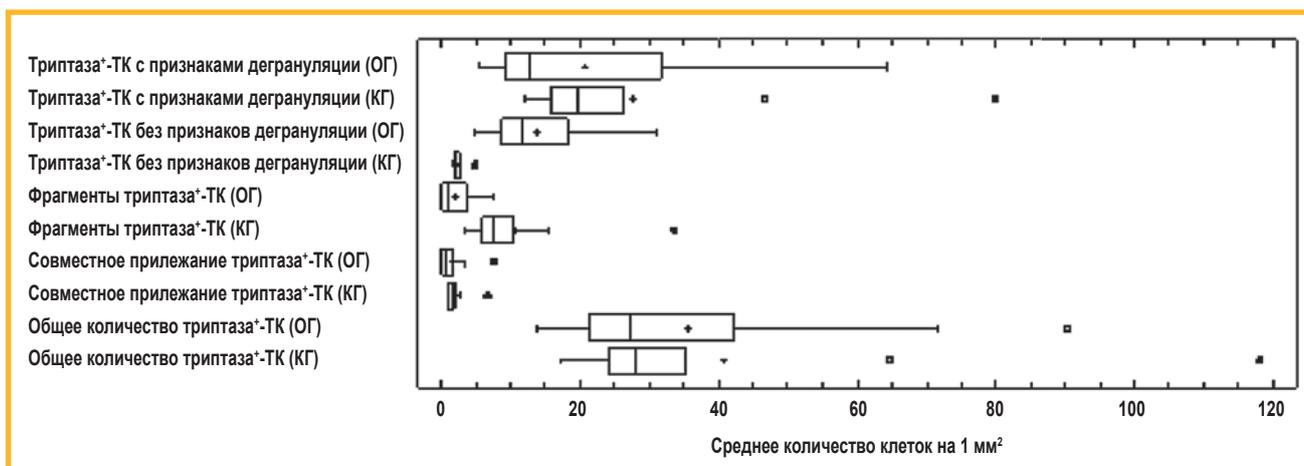


Рис. 3. Секреторная активность триптаза-позитивных тучных клеток в тканях легких пациентов основной и контрольной групп (диаграмма *Box-and-Whisker Plot*)

Примечание: ТК – тучные клетки; ОГ – основная группа; КГ – контрольная группа.

Figure 3. Secretory activity of tryptase-positive mast cells in lung tissues of patients from the main and control groups (*Box-and-Whisker Plot*)

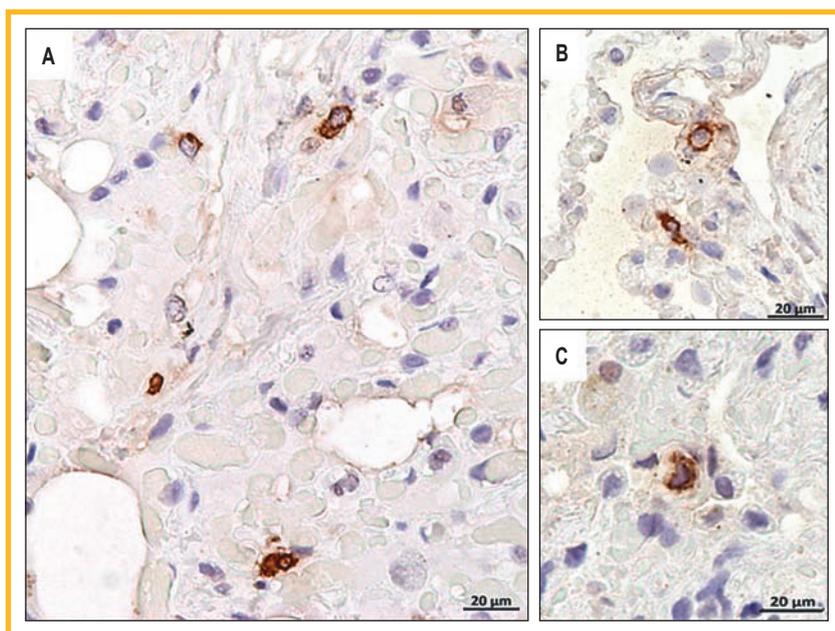


Рис. 4. Иммуногистохимическая реакция с антителами к триптазе (*Anti-Mast Cell Tryptase antibody*; клон AA1, #ab2378; разведение 1 : 4 000), ядра докрашены гематоксилином Майера. А – неравномерное распределение триптаза-позитивных тучных клеток в легочной паренхиме, количество гранул в цитоплазме клеток меняется в зависимости от их функциональной активности; В, С – тучные клетки, содержащие гранулы триптазы в состоянии дегрануляции (гранул мало, отдельные гранулы находятся за пределами цитоплазмы тучных клеток)

Figure 4. Immunohistochemical reaction with Anti-Mast Cell Tryptase antibodies (clone AA1, #ab2378; dilution 1 : 4,000). The nuclei were stained with Mayer's hematoxylin. A, uneven distribution of tryptase-positive mast cells in the lung parenchyma. The number of granules in the cytoplasm of cells depended on their functional activity; B, C, mast cells containing tryptase granules in a state of degranulation: there are few granules, some granules are outside the mast cells

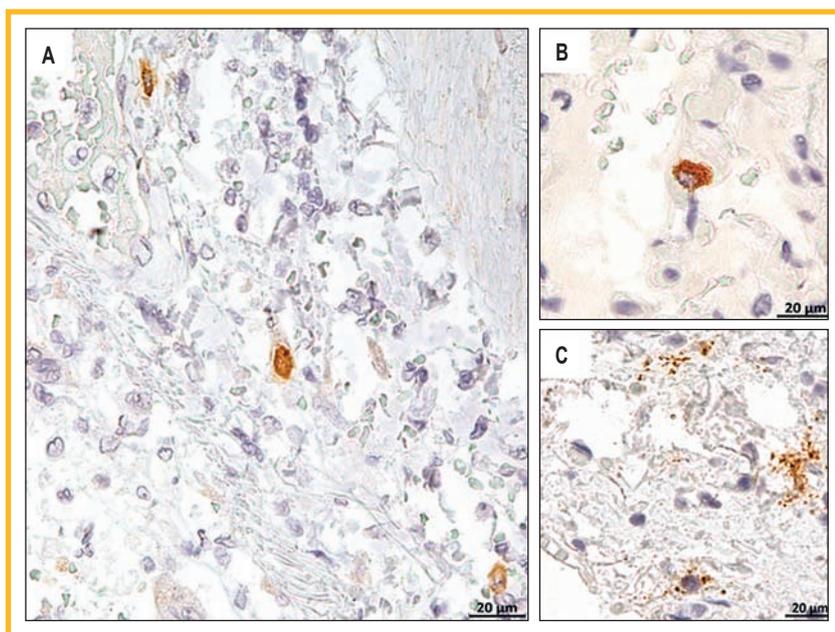


Рис. 5. Иммуногистохимическая реакция с антителами к химазе (*Anti-Mast Cell Chymase antibody*; #ab233103; разведение 1 : 1 000), ядра докрашены гематоксилином Майера. А – общий вид тучных клеток с положительной экспрессией в легочной ткани; В – тучная клетка с гранулами химазы принадлежит эндотелиоциту; С – выраженная дегрануляция (гранулы с химазой «рассыпаны» в межклеточном матриксе)

Figure 5. Immunohistochemical reaction with Anti-Mast Cell Chymase antibodies; #ab233103; dilution 1 : 1,000; the nuclei were stained with Mayer's hematoxylin. A, general view of mast cells with positive expression in the lung tissue; B, a mast cell with chymase granules that belongs to an endotheliocyte; C, pronounced degranulation: granules with chymase are scattered in the intercellular matrix

Кроме того, в основной группе проанализированы корреляционные связи и установлена зависимость количества триптаза-, химаза- или СРА3-позитивных клеток и некоторых демографических и клинико-лабораторных показателей. Общее количество СРА3-позитивных ТК на 1 мм² было достоверно выше у пациентов более старшего возраста ($r = 0,6205$; $p = 0,0253$), такая же связь наблюдалась для недегранулированных СРА3-позитивных ТК ($r = 0,550$; $p = 0,0473$), совместно прилежащих ($r = 0,5863$; $p = 0,0345$) и фрагментов ($r = 0,6108$; $p = 0,0277$) триптаза-позитивных ТК.

Обнаружены сильные отрицательные корреляционные связи общего количества триптаза-позитивных ТК ($r = -0,8207$; $p = 0,0138$), а также количества триптаза-позитивных ТК с признаками дегрануляции

($r = -0,77200$; $p = 0206$) с содержанием эритроцитов крови по результатам последнего ОАК, выполненного пациенту незадолго до летального исхода. Вместе с тем количество триптаза-позитивных ТК без признаков дегрануляции отрицательно коррелирует с содержанием гемоглобина в ОАК, выполненном пациенту незадолго до летального исхода ($r = -0,7697$; $p = 0,0209$).

Триптаза-позитивные ТК в аутопсийном материале легких проявили себя и в корреляциях с лейкоцитами крови. Среднее количество на 1 мм² как отдельно лежащих ($r = 0,6659$; $p = 0,0457$), так и совместно прилежащих триптаза-позитивных ТК ($r = 0,7779$; $p = 0,0196$) положительно коррелировало с содержанием лейкоцитов по результатам ОАК, выполненном пациенту незадолго до летального исхода. Также количество как отдельно лежащих ($r = 0,7652$;

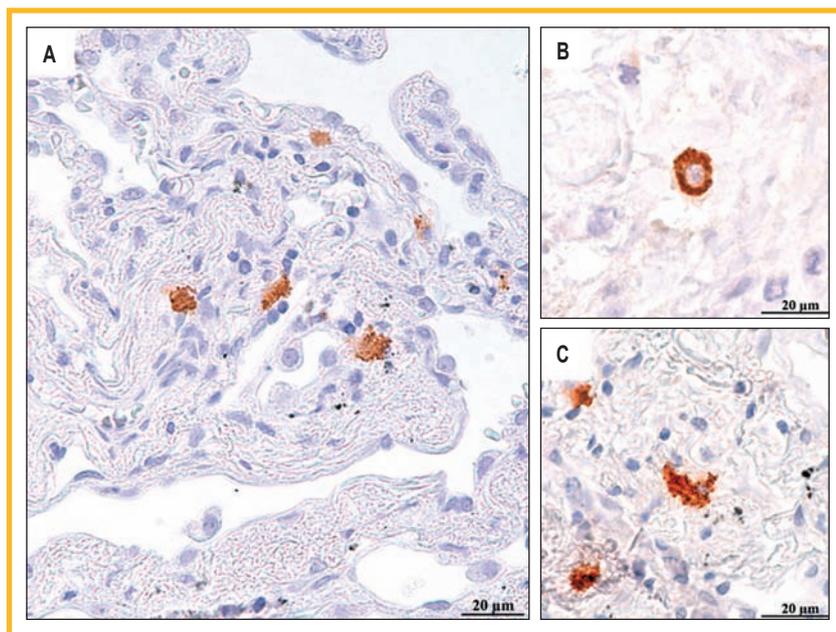


Рис. 6. Иммуногистохимическая реакция с антителами к карбоксипептидазе (Anti-CPA3; #ab251685; разведение 1 : 1 000), ядра докрашены гематоксилином Майера. А – тучные клетки в легочной ткани с гранулами карбоксипептидазы с разной выраженностью дегрануляции; В – гранулы в цитоплазме без признаков дегрануляции; С – выделение гранул карбоксипептидазы тучными клетками

Figure 6. Immunohistochemical reaction with anti-carboxypeptidase antibodies (Anti-CPA3; #ab251685; dilution 1 : 1,000). The nuclei were stained with Mayer's hematoxylin. A, mast cells in the lung tissue with granules of carboxypeptidase with different degree of degranulation; B, granules in the cytoplasm, without signs of degranulation; C, release of carboxypeptidase granules by mast cells

$p = 0,0217$), так и совместно прилежащих триптаза-положительных ТК ($r = 0,8180$; $p = 0,0141$) положительно коррелировало с содержанием эозинофилов по результатам ОАК.

Обнаружены отрицательные корреляционные связи общего количества CPA3-положительных клеток ($r = -0,6727$; $p = 0,0436$) и CPA3-положительных клеток без признаков дегрануляции ($r = -0,7091$; $p = 0,0334$) с содержанием тромбоцитов по результатам ОАК, выполненном незадолго до летального исхода.

Установлена прямая корреляция между количеством совместно прилежащих триптаза-положительных ТК, а также фрагментов триптаза-положительных ТК со скоростью оседания эритроцитов (СОЭ) ($r = 0,8180$; $p = 0,0141$ и $r = 0,7652$; $p = 0,0217$ соответственно).

Кроме того, в исследовании продемонстрирована сильная отрицательная корреляция количества триптаза-положительных ТК без признаков дегрануляции с уровнем креатинина крови ($r = -0,7173$; $p = 0,0314$). Такие же данные получены для фрагментов CPA3-положительных ТК ($r = -0,7038$; $p = 0,0347$).

Наконец, обнаружена сильная отрицательная корреляция между количеством CPA3-положительных ТК без признаков дегрануляции и уровнем важнейшего маркера воспаления – СРБ крови ($r = -0,7333$; $p = 0,0278$).

С другими показателями ОАК и биохимического анализа крови, определенными у пациентов, достоверные корреляционные связи показателей ТК не установлены.

Обсуждение

Ранее были представлены результаты анализа количества ТК различных биологических сред у пациентов с COVID-19. *J.S.Motta Junior et al.* выявлена повышенная плотность периваскулярных и септальных ТК, экспрессирующих IL-4, в аутопсийном материале легких от пациентов с COVID-19 по сравнению с таковой в контроле и образцах легких, полученных от пациентов с H1N1 [21]. Однако анализ протеаз-

ного профиля ТК в данном исследовании не проводился.

В исследовании *Z.Zhou et al.* обнаружено повышенное количество активированных ТК в жидкости бронхоальвеолярного лаважа у пациентов с COVID-19 по сравнению с контрольными образцами здоровых лиц [22]. Сообщается также об увеличенном содержании протеаз ТК в сыворотке крови у пациентов с COVID-19. *S.Gebremeskel et al.* обнаружены более высокие уровни химазы, β -триптазы и CPA3 в сыворотке крови у пациентов с COVID-19 по сравнению с контрольной группой, что указывает на системную активацию ТК у этих пациентов [23]. Эти данные согласуются с результатами, полученными *J.Tan et al.* Показано, что у пациентов с тяжелым течением COVID-19 повышен уровень химазы плазмы [24]. *R.Soria-Castro et al.*, независимо от *S.Gebremeskel et al.*, также обнаружено увеличенное содержание CPA3 в сыворотке крови у пациентов с COVID-19 [25], что согласуется с полученными в настоящем исследовании результатами о статистически значимо большем общем количестве CPA3-положительных ТК на 1 мм² в аутопсийном материале легких, полученном от пациентов с COVID-19 по сравнению с таковым в группе контроля, что может свидетельствовать об участии данной протеазы ТК в патогенезе НКИ COVID-19.

Статистически значимых различий в общем количестве триптаза-положительных ТК в исследуемых группах не обнаружено, а анализ дегрануляционной активности может свидетельствовать о сниженной дегрануляционной активности триптаза-положительных ТК у пациентов с COVID-19. Однако *S.Gebremeskel et al.* в легких у пациентов с COVID-19 обнаружена повышенная экспрессия генов *TPSB2* (*Tryptase beta-2*) и *TPSAB1* (*Tryptase Alpha/Beta-1*), которые кодируют триптазу ТК, что предполагает активацию ТК в легких у этих пациентов [23].

Обнаруженные сильные отрицательные корреляционные связи общего количества триптаза-положительных ТК, а также количества триптаза-положительных

ТК с признаками дегрануляции с содержанием эритроцитов крови могут формировать гипотезу о потенциальной связи ТК и продуктов их дегрануляции, а именно – триптазы, с развитием анемии. Имеются данные о развитии анемии у пациентов с синдромом активации ТК [26], однако она имеет многофакторное происхождение, потому механизмы установленной связи для пациентов с COVID-19 еще предстоит выяснить. Вместе с тем отрицательная корреляция количества триптаза-позитивных ТК без признаков дегрануляции с содержанием гемоглобина вызывает некоторое противоречие.

Триптаза-позитивные ТК в аутопсийном материале легких проявили себя и в положительных корреляциях с содержанием лейкоцитов и эозинофилов в крови. Полученные результаты согласуются с уже существующими данными о влиянии триптазы ТК на статус активации эозинофилов с индуцированием высвобождения эозинофильной пероксидазы и β -гексозаминидазы из эозинофилов периферической крови [27].

Обнаруженные отрицательные корреляционные связи общего количества СРАЗ-позитивных клеток и СРАЗ-позитивных клеток без признаков дегрануляции с содержанием тромбоцитов в ОАК вызывают предположение об участии ТК в развитии тромбоцитопении. Ранее сообщалось о способности ТК синтезировать фактор активации тромбоцитов, играющий важную роль в легочном микротромбозе у пациентов с COVID-19. Вместе с тем доказана связь тромбоцитопении с развитием неблагоприятных исходов у пациентов с тяжелым течением COVID-19 [28, 29].

Обращает на себя внимание установленная сильная отрицательная корреляция между количеством СРАЗ-позитивных ТК без признаков дегрануляции и уровнем СРБ крови. R.Soria-Castro et al. установлена положительная корреляция между уровнем СРАЗ сыворотки крови пациентов с COVID-19 и показателем СРБ [25], что может свидетельствовать об участии данной протеазы ТК в патогенезе НКИ COVID-19.

Заключение

Таким образом, полученные результаты весьма противоречивы – у пациентов с COVID-19 обнаружена сниженная дегрануляционная активность триптаза-позитивных ТК наряду с повышенным представителем СРАЗ-позитивных ТК. Отмечены некоторые возрастные тенденции и обнаружены связи с лабораторными показателями. Рассматривается потенциальное участие ТК в развитии анемии и тромбоцитопении, установлены связи триптаза-позитивных ТК с уровнем лейкоцитов и эозинофилов периферической крови, а также СОЭ. При этом требуется дальнейшее уточнение противоречий обратной связи СРАЗ-позитивных ТК с уровнями креатинина и СРБ. Имеются различные исследования количества ТК и их протеаз в сыворотке крови, жидкости бронхоальвеолярного лаважа в аутопсийном материале легких пациентов с COVID-19 [21, 22, 24, 25]. Однако многие аспекты участия ТК и их протеаз в патогенезе COVID-19 оста-

ются неясными, что обуславливает необходимость проведения исследований на более крупных когортах пациентов, результаты которых помогут заполнить существующие пробелы и откроют возможности использования уже имеющихся или разработки новых препаратов, способных влиять на данное звено патогенеза и улучшать исходы заболевания.

Литература

1. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Временные методические рекомендации: Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 15 (22.02.2022). Доступно на: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attachements/000/059/392/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0_COVID-19_V15.pdf [Дата обращения: 15.07.22].
2. Theoharides T.C. Potential association of mast cells with coronavirus disease 2019. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2021; 126 (3): 217–218. DOI: 10.1016/j.anaai.2020.11.003.
3. Afrin L.B., Weinstock L.B., Molderings G.J. COVID-19 hyperinflammation and post-COVID-19 illness may be rooted in MCs activation syndrome. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 100: 327–332. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.09.016.
4. Krystel-Whittemore M., Dileepan K.N., Wood J.G. Mast cell: a multi-functional master cell. *Front. Immunol.* 2016; 6: 620. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00620.
5. Atiakshin D.A., Shishkina V.V., Esaulenko D.I. et al. Mast cells as the target of the biological effects of molecular hydrogen in the specific tissue microenvironment. *Int. J. Biomed.* 2022; 12 (2): 183–187. DOI: 10.21103/Article12(2)_RA2.
6. Jing H., Liu L., Zhou J., Yao H. Inhibition of C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10) protects mice from cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease. *Med. Sci. Monit.* 2018; 24: 5748–5753. DOI: 10.12659/MSM.909864.
7. Budnevsky A.V., Ovsyannikov E.S., Shishkina V.V. et al. Possible unexplored aspects of COVID-19 pathogenesis: the role of Carboxypeptidase A3. *Int. J. Biomed.* 2022; 12 (2): 179–182. DOI: 10.21103/Article12(2)_RA1.
8. Nagashima S., Dutra A.A., Arantes M.P. et al. COVID-19 and lung mast cells: the kallikrein-kinin activation pathway. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23 (3): 1714. DOI: 10.3390/ijms23031714.
9. Lam H.Y., Tergaonkar V., Kumar A.P., Ahn K.S. Mast cells: Therapeutic targets for COVID-19 and beyond. *IUBMB Life.* 2021; 73 (11): 1278–1292. DOI: 10.1002/iub.2552.
10. Elieh Ali Komi D., Wöhrl S., Bielory L. Mast cell biology at molecular level: a comprehensive review. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2020; 58 (3): 342–365. DOI: 10.1007/s12016-019-08769-2.
11. Kempuraj D., Selvakumar G.P., Ahmed M.E. et al. COVID-19, mast cells, cytokine storm, psychological stress, and neuroinflammation. *Neuroscientist.* 2020; 26 (5-6): 402–414. DOI: 10.1177/1073858420941476.
12. Theoharides T.C. COVID-19, pulmonary mast cells, cytokine storms, and beneficial actions of luteolin. *Biofactors.* 2020; 46 (3): 306–308. DOI: 10.1002/biof.1633.
13. Kosanovic D., Luitel H., Dahal B.K. et al. Chymase: a multifunctional player in pulmonary hypertension associated with lung fibrosis. *Eur. Respir. J.* 2015; 46 (4): 1084–1094. DOI: 10.1183/09031936.00018215.
14. Banin I.N., Budnevsky A.V., Grechkin V.I. et al. The experience of surfactant therapy in severe COVID-19 pneumonia: a case report. *Int. J. Biomed.* 2021; 11 (2): 177–180. DOI: 10.21103/Article11(2)_CR1.
15. Ярошецкий А.И., Грицан А.И., Авдеев С.Н. и др. Диагностика и интенсивная терапия острого респираторного дистресс-синдрома (Клинические рекомендации Общероссийской общественной организации «Федерация анестезиологов и реаниматологов»). *Анестезиология и реаниматология.* 2020; (2): 5–39. DOI: 10.17116/anaesthesiology20200215.
16. ARDS Definition Task Force, Ranieri V.M., Rubenfeld G.D. et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin definition. *JAMA.* 2012; 307 (23): 2526–2533. DOI: 10.1001/jama.2012.5669.
17. Buchwalow I.B., Boecker W. *Immunohistochemistry: basics and methods.* Berlin: Springer; 2010.

18. Atiakshin D., Buchwalow I., SamoiloVA V., Tiemann M. Tryptase as a polyfunctional component of mast cells. *Histochem. Cell Biol.* 2018; 149 (5): 461–477. DOI: 10.1007/s00418-018-1659-8.
19. Atiakshin D., Buchwalow I., Tiemann M. Mast cell chymase: morphofunctional characteristics. *Histochem. Cell Biol.* 2019; 152 (4): 253–269. DOI: 10.1007/s00418-019-01803-6.
20. Шишкина В.В., Клочкова С.В., Алексеева Н.Т. и др. Триптазный профиль популяции тучных клеток кожи крыс при раневом процессе. *Журнал анатомии и гистопатологии.* 2020; 9 (4): 84–89. DOI: 10.18499/2225-7357-2020-9-4-84-89.
21. Motta Junior J.D.S., Miggiolaro A.F.R.D.S., Nagashima S. et al. Mast cells in alveolar septa of COVID-19 patients: a pathogenic pathway that may link interstitial edema to immunothrombosis. *Front. Immunol.* 2020; 11: 574862. DOI: 10.3389/fimmu.2020.574862.
22. Zhou Z., Ren L., Zhang L. et al. Heightened Innate Immune responses in the respiratory tract of COVID-19 patients. *Cell Host Microbe.* 2020; 27 (6): 883–890.e2. DOI: 10.1016/j.chom.2020.04.017.
23. Gebremeskel S., Schanin J., Coyle K.M. et al. Mast cell and eosinophil activation are associated with COVID-19 and TLR-mediated viral inflammation: Implications for an Anti-Siglec-8 antibody. *Front. Immunol.* 2021; 12: 650331. DOI: 10.3389/fimmu.2021.650331.
24. Tan J., Anderson D.E., Rathore A.P.S. et al. Signatures of mast cell activation are associated with severe COVID-19. *MedRxiv.* 2021; 2021.05.31.21255594. DOI: 10.1101/2021.05.31.21255594.
25. Soria-Castro R., Meneses-Preza Y.G., Rodríguez-Lopez G.M. et al. Severe COVID-19 is marked by dysregulated serum levels of carboxypeptidase A3 and serotonin. *J. Leukoc. Biol.* 2021; 110 (3): 425–431. DOI: 10.1002/JLB.4HI0221-087R.
26. Afrin L.B. Presentation, diagnosis, and management of mast cell activation syndrome. In: Murray D.B., ed. *Mast cells: Phenotypic features, biological functions and role in immunity.* Hauppauge: Nova Science Publishers; 2013: 155–232. Available at: <https://www.jillcarnahan.com/downloads/MCAS-Afrin.pdf> [Accessed: July 10, 2022].
27. Vliagoftis H., Lacy P., Luy B. et al. Mast cell tryptase activates peripheral blood eosinophils to release granule-associated enzymes. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2004; 135 (3): 196–204. DOI: 10.1159/000081304.
28. Lippi G., Plebani M., Henry B.M. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: a meta-analysis. *Clin. Chim. Acta.* 2020; 506: 145–148. DOI: 10.1016/j.cca.2020.03.022.
29. Zhao X., Wang K., Zuo P. et al. Early decrease in blood platelet count is associated with poor prognosis in COVID-19 patients—indications for predictive, preventive, and personalized medical approach. *EPMA J.* 2020; 11 (2): 139–145. DOI: 10.1007/s13167-020-00208-z.

Поступила: 23.07.22

Принята к печати: 04.10.22

References

1. Ministry of Health of the Russian Federation. [The Temporary Guidelines: Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)]. Version 15 (February 22, 2022). Available at: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attachments/000/059/392/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0_COVID-19_V15.pdf [Accessed: July 15, 2022] (in Russian).
2. Theoharides T.C. Potential association of mast cells with coronavirus disease 2019. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2021; 126 (3): 217–218. DOI: 10.1016/j.anai.2020.11.003.
3. Afrin L.B., Weinstock L.B., Molderings G.J. COVID-19 hyperinflammation and post-COVID-19 illness may be rooted in MCs activation syndrome. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 100: 327–332. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.09.016.
4. Krystel-Whittemore M., Dileepan K.N., Wood J.G. Mast cell: a multi-functional master cell. *Front. Immunol.* 2016; 6: 620. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00620.
5. Atiakshin D.A., Shishkina V.V., Esaulenko D.I. et al. Mast cells as the target of the biological effects of molecular hydrogen in the specific tissue microenvironment. *Int. J. Biomed.* 2022; 12 (2): 183–187. DOI: 10.21103/Article12(2)_RA2.
6. Jing H., Liu L., Zhou J., Yao H. Inhibition of C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10) protects mice from cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease. *Med. Sci. Monit.* 2018; 24: 5748–5753. DOI: 10.12659/MSM.909864.
7. Budnevsky A.V., Ovsyannikov E.S., Shishkina V.V. et al. Possible unexplored aspects of COVID-19 pathogenesis: the role of Carboxypeptidase A3. *Int. J. Biomed.* 2022; 12 (2): 179–182. DOI: 10.21103/Article12(2)_RA1.
8. Nagashima S., Dutra A.A., Arantes M.P. et al. COVID-19 and lung mast cells: the kallikrein-kinin activation pathway. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23 (3): 1714. DOI: 10.3390/ijms23031714.
9. Lam H.Y., Tergaonkar V., Kumar A.P., Ahn K.S. Mast cells: Therapeutic targets for COVID-19 and beyond. *IUBMB Life.* 2021; 73 (11): 1278–1292. DOI: 10.1002/iub.2552.
10. Elieh Ali Komi D., Wöhrl S., Bielory L. Mast cell biology at molecular level: a comprehensive review. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2020; 58 (3): 342–365. DOI: 10.1007/s12016-019-08769-2.
11. Kempuraj D., Selvakumar G.P., Ahmed M.E. et al. COVID-19, mast cells, cytokine storm, psychological stress, and neuroinflammation. *Neuroscientist.* 2020; 26 (5-6): 402–414. DOI: 10.1177/1073858420941476.
12. Theoharides T.C. COVID-19, pulmonary mast cells, cytokine storms, and beneficial actions of luteolin. *Biofactors.* 2020; 46 (3): 306–308. DOI: 10.1002/biof.1633.
13. Kosanovic D., Luitel H., Dahal B.K. et al. Chymase: a multifunctional player in pulmonary hypertension associated with lung fibrosis. *Eur. Respir. J.* 2015; 46 (4): 1084–1094. DOI: 10.1183/09031936.00018215.
14. Banin I.N., Budnevsky A.V., Grechkin V.I. et al. The experience of surfactant therapy in severe COVID-19 pneumonia: a case report. *Int. J. Biomed.* 2021; 11 (2): 177–180. DOI: 10.21103/Article11(2)_CR1.
15. Yaroshetsky A.I., Gritsan A.I., Avdeev S.N. et al. [Diagnostics and intensive therapy of acute respiratory distress syndrome (Clinical guidelines of the Federation of Anesthesiologists and Reanimatologists of Russia)]. *Anesteziologiya i reanimatologiya.* 2020; (2): 5–39. DOI: 10.17116/anaesthesiology20200215 (in Russian).
16. ARDS Definition Task Force, Ranieri V.M., Rubenfeld G.D. et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin definition. *JAMA.* 2012; 307 (23): 2526–2533. DOI: 10.1001/jama.2012.5669.
17. Buchwalow I.B., Boecker W. *Immunohistochemistry: basics and methods.* Berlin: Springer; 2010.
18. Atiakshin D., Buchwalow I., SamoiloVA V., Tiemann M. Tryptase as a polyfunctional component of mast cells. *Histochem. Cell Biol.* 2018; 149 (5): 461–477. DOI: 10.1007/s00418-018-1659-8.
19. Atiakshin D., Buchwalow I., Tiemann M. Mast cell chymase: morphofunctional characteristics. *Histochem. Cell Biol.* 2019; 152 (4): 253–269. DOI: 10.1007/s00418-019-01803-6.
20. Shishkina V.V., Klochkova S.V., Alekseeva N.T. et al. [Tryptase profile of rat skin mast cell population during wound healing]. *Zhurnal anatomii i gistopatologii.* 2020; 9 (4): 84–89. DOI: 10.18499/2225-7357-2020-9-4-84-89 (in Russian).
21. Motta Junior J.D.S., Miggiolaro A.F.R.D.S., Nagashima S. et al. Mast cells in alveolar septa of COVID-19 patients: a pathogenic pathway that may link interstitial edema to immunothrombosis. *Front. Immunol.* 2020; 11: 574862. DOI: 10.3389/fimmu.2020.574862.
22. Zhou Z., Ren L., Zhang L. et al. Heightened Innate Immune responses in the respiratory tract of COVID-19 patients. *Cell Host Microbe.* 2020; 27 (6): 883–890.e2. DOI: 10.1016/j.chom.2020.04.017.
23. Gebremeskel S., Schanin J., Coyle K.M. et al. Mast cell and eosinophil activation are associated with COVID-19 and TLR-mediated viral inflammation: Implications for an Anti-Siglec-8 antibody. *Front. Immunol.* 2021; 12: 650331. DOI: 10.3389/fimmu.2021.650331.
24. Tan J., Anderson D.E., Rathore A.P.S. et al. Signatures of mast cell activation are associated with severe COVID-19. *MedRxiv.* 2021; 2021.05.31.21255594. DOI: 10.1101/2021.05.31.21255594.
25. Soria-Castro R., Meneses-Preza Y.G., Rodríguez-Lopez G.M. et al. Severe COVID-19 is marked by dysregulated serum levels of carboxypeptidase A3 and serotonin. *J. Leukoc. Biol.* 2021; 110 (3): 425–431. DOI: 10.1002/JLB.4HI0221-087R.
26. Afrin L.B. Presentation, diagnosis, and management of mast cell activation syndrome. In: Murray D.B., ed. *Mast cells: Phenotypic features, biological functions and role in immunity.* Hauppauge: Nova Science Publishers; 2013: 155–232. Available at: <https://www.jillcarnahan.com/downloads/MCAS-Afrin.pdf> [Accessed: July 10, 2022].
27. Vliagoftis H., Lacy P., Luy B. et al. Mast cell tryptase activates peripheral blood eosinophils to release granule-associated enzymes. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2004; 135 (3): 196–204. DOI: 10.1159/000081304.
28. Lippi G., Plebani M., Henry B.M. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: a meta-analysis. *Clin. Chim. Acta.* 2020; 506: 145–148. DOI: 10.1016/j.cca.2020.03.022.

ta-analysis. *Clin. Chim. Acta.* 2020; 506: 145–148. DOI: 10.1016/j.cca.2020.03.022.

29. Zhao X., Wang K., Zuo P. et al. Early decrease in blood platelet count is associated with poor prognosis in COVID-19 patients—indications

for predictive, preventive, and personalized medical approach. *EPMA J.* 2020; 11 (2): 139–145. DOI: 10.1007/s13167-020-00208-z.

Received: July 23, 2022

Accepted for publication: October 04, 2022

Информация об авторах / Authors Information

Будневский Андрей Валериевич — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой факультетской терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н.Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (473) 263-81-30; e-mail: budnev@list.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000000211712746>)

Andrey V. Budnevsky, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Department of Faculty Therapy, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Ministry of Health of the Russian Federation; tel.: (473) 263-81-30; e-mail: budnev@list.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000000211712746>)

Авдеев Сергей Николаевич — д. м. н., профессор, академик Российской академии наук, заведующий кафедрой пульмонологии Института клинической медицины имени Н.В.Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет); тел.: (495) 708-35-76; e-mail: serg_avdeev@list.ru (SPIN-код: 1645-5524; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5999-2150>)

Sergey N. Avdeev, Doctor of Medicine, Professor, Academician of Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Pulmonology, N.V.Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M.Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University); tel.: (495) 708-35-76; e-mail: serg_avdeev@list.ru (SPIN-code: 1645-5524; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5999-2150>)

Овсянников Евгений Сергеевич — д. м. н., профессор кафедры факультетской терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н.Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (473) 263-81-30; e-mail: ovses@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8545-6255>)

Evgeniy S. Ovsyannikov, Doctor of Medicine, Professor, Department of Faculty Therapy, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Ministry of Health of the Russian Federation; tel.: (473) 263-81-30; e-mail: ovses@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8545-6255>)

Шишкина Виктория Викторовна — к. м. н., директор Научно-исследовательского института экспериментальной биологии и медицины, доцент кафедры гистологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н.Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (473) 243-76-88; e-mail: 4128069@gmail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9185-4578>)

Viktoria V. Shishkina, Candidate of Medicine, Director of the Research Institute of Experimental Biology and Medicine, Associate Professor, Department of Histology, State Budgetary Institution of Higher Professional Education “Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko”, Ministry of Public Health of the Russian Federation; tel.: (473) 243-76-88; e-mail: 4128069@gmail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9185-4578>)

Есауленко Дмитрий Игоревич — к. м. н., старший научный сотрудник Научно-исследовательского института экспериментальной биологии и медицины Федерального государственного бюджетного образовательного

ного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н.Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (473) 243-76-88; e-mail: desaulenko79@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6148-8834>)

Dmitry I. Esaulenko, Candidate of Medicine, Senior Researcher, Research Institute of Experimental Biology and Medicine, State Budgetary Institution of Higher Professional Education “Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko”, Ministry of Public Health of the Russian Federation; tel.: (473) 243-76-88; e-mail: desaulenko79@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6148-8834>)

Филин Андрей Анатольевич — к. м. н., заведующий кафедрой патологической анатомии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н.Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (473) 253-98-51; e-mail: filinan@ya.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1670-3694>)

Andrey A. Filin, Candidate of Medicine, Head of the Department of Pathological Anatomy, State Budgetary Institution of Higher Professional Education “Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko”, Ministry of Public Health of the Russian Federation; tel.: (473) 253-98-51; e-mail: filinan@ya.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1670-3694>)

Савушкина Инесса Алексеевна — ассистент кафедры факультетской терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н.Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (473) 263-81-30; e-mail: savushkina@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6988-1369>)

Inessa A. Savushkina, Assistant, Department of Faculty Therapy, State Budgetary Institution of Higher Professional Education “Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko”, Ministry of Public Health of the Russian Federation; tel.: (473) 263-81-30; e-mail: savushkina@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6988-1369>)

Первеева Инна Михайловна — к. м. н., врач-пульмонолог Бюджетного учреждения здравоохранения Воронежской области «Воронежская областная клиническая больница № 1»; тел.: (473) 257-96-22; e-mail: perveeva.inna@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5712-9302>)

Inna M. Perveeva, Candidate of Medicine, Pulmonologist, Budgetary health-care institution of the Voronezh region “Voronezh Regional Clinical Hospital No.1”; tel.: (473) 257-96-22; e-mail: perveeva.inna@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5712-9302>)

Алексеева Надежда Геннадиевна — клинический ординатор кафедры факультетской терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н.Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (473) 263-81-30; e-mail: nadya.alekseva@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3357-9384>)

Nadezhda G. Alekseeva, Clinical Resident, Department of Faculty Therapy, State Budgetary Institution of Higher Professional Education “Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko”, Ministry of Public Health of the Russian Federation; tel.: (473) 263-81-30; e-mail: nadya.alekseva@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3357-9384>)

Участие авторов

Будневский А.В. — научное консультирование, редактирование текста
Авдеев С.Н. — научное консультирование, редактирование текста
Овсянников Е.С. — статистическая обработка материала, редактирование текста, разработка материалов и методов
Шишкина В.В. — разработка материалов и методов, анализ препаратов, научное консультирование
Есауленко Д.И. — анализ препаратов, научное консультирование
Филин А.А. — анализ препаратов, научное консультирование
Савушкина И.А. — сбор материала, написание текста, разработка материалов и методов, подготовка к публикации
Первеева И.М. — сбор материала, редактирование текста
Алексеева Н.Г. — анализ препаратов, сбор материала
 Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Authors Contribution

Budnevsky A.V. — scientific consulting and editing
Avdeev S.N. — scientific consulting and editing
Ovsyannikov E.S. — statistical processing of data, text editing, development of materials and methods.
Shishkina V.V. — development of materials and methods, histological analysis, scientific consulting
Esaulenko D.I. — histological analysis, scientific consulting.
Filin A.A. — histological analysis, scientific consulting.
Savushkina I.A. — data collecting and processing, text writing, development of materials and methods, preparation for publication
Perveeva I.M. — data collecting, editing
Alekseeva N.G. — collecting the materials, histological analysis
 All the authors made a significant contribution to the search and analytical work and preparation of the article, read and approved the final version before publication.