



ЦИТОКИНЫ КАК ПРЕДИКТОРЫ ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

Арипова Т.У.
Шамсутдинова М.И.
Холбоева Г.Б.*

*Институт иммунологии и геномики человека Академии Наук

Республики Узбекистан, Ташкент

<https://www.doi.org/10.5281/zenodo.8014282>

ARTICLE INFO

Received: 29th May 2023

Accepted: 06th June 2023

Online: 07th June 2023

KEY WORDS

Цитокиновая регуляция
иммунитета, цитокины,
интерлейкины,
цитокиновый штурм,
иммунокомпетентные
клетки, COVID-19, тяжесть
течения коронавирусной
инфекции.

ABSTRACT

В данной статье рассмотрено цитокины как предикторы тяжести заболевания у пациентов с COVID-19.

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить продукцию цитокинов, рассматривая цитокины как предикторы тяжести заболевания у пациентов с COVID-19.

Материал и методы исследования. Обследованы 60 (30 пациентов со среднетяжелым и 30 пациентов с тяжелым течением) пациентов с COVID-19, госпитализированные в больницу ГУ "Специализированная больница "Зангиота 1" для лечения больных с коронавирусной инфекцией" и 25 практически здоровых людей. Диагноз COVID-19 был основан на действующих протоколах МЗ РУз. У всех пациентов лабораторно подтвержден положительный результат на SARS-CoV-2 с помощью ПЦР в реальном времени мазка из зева. Иммунологические исследования проведены методом ИФА (ИЛ-1бетта, ИЛ-6, ИФН-гамма).

Результаты и их обсуждение. Измерение общего содержания цитокинов ИЛ-1 бетта, ИЛ-6 и ИФН-гамма показало, что умеренное и статистически значимое повышение у тяжелых пациентов трех цитокинов ($p<0,0001$) указывает на активность воспалительного процесса. Уровень ИФН- γ показал слабое повышение в тяжелой группе по сравнению со значениями среднетяжелой группы. Так, суммарные значения ИЛ-1 бетта и ИЛ-6 показали существенную гетерогенность. Ранние исследования COVID-19 указывали на роль провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 бетта, ИЛ-6 и ИФН-гамма высвобождаемых активированными тучными клетками в подслизистой оболочке дыхательных путей, усугубляя воспалительное состояние и патогенез.



Несмотря на неясность терапевтического потенциала ИЛ-6 и ИЛ-10, наблюдаемые уровни их повышения у пациентов с тяжелой формой COVID-19 побудили клинических исследователей изучить возможность их использования в качестве прогностических факторов.

Выводы. 1. Показано достоверное повышение цитокинов ИЛ-1 бетта, ИЛ-6 и ИФН-гамма в обеих группах пациентов, причем в группе тяжелых пациентов наблюдается значительное повышение этих цитокинов.

2. Показано, что предложенная простая панель с тремя цитокинами может использоваться в качестве предикторов для быстрой диагностики пациентов с более высоким риском ухудшения течения заболевания COVID-19.

3. Уровень ИФН-γ показал слабое повышение в тяжелой группе по сравнению со значениями среднетяжелой группы. Показано, что уровни ИЛ-1 бетта и ИФН-гамма имеют зависимость от разницы в возрасте, тогда как зависимость ИЛ-6 от возраста не была значимой. Также, не было обнаружено зависимости уровней ИЛ-6 от пола.

4. Эти исследования будут иметь ключевое значение для выявления пациентов с большей вероятностью прогрессирования заболевания до тяжелой формы и, таким образом, для принятия необходимых мер предосторожности.

Введение. Пандемия COVID-19, вызванная SARS-CoV-2, стала серьезной угрозой для человечества, затронув практически все человечество на земле, что привело к гибели более 10 миллиона человек [1] во всем мире. Интенсивное воспаление, проявляющееся повышенным уровнем цитокинов, обычно называемое «цитокиновым штормом», часто приводит к критическим состояниям, таким как ОРДС (острый респираторный дистресс-синдром), и смерти из-за полиорганной недостаточности [1,2,4,5,13,16].

Врожденный иммунный ответ является первым шагом механизма защиты от вирусной инфекции. Рецепторы распознавания образов в дендритных клетках хозяина распознают геномную ДНК или РНК вируса, чтобы инициировать продукцию цитокинов и хемокинов [3,4,9,11,12,16], которые, в свою очередь, привлекают иммунные клетки, такие как макрофаги, нейтрофилы и Т-клетки, к месту инфекции в зависимости от их источника и клеток-мишеней [2,6,7,14]. Провоспалительные цитокины, в том числе интерлейкины (ИЛ), такие как ИЛ-1, ИЛ-6 и другие, играют основную роль в начальном ответе, тогда как противовоспалительные молекулы, такие как ИЛ-10, вырабатываются во время устойчивой реакции, инфекция, чтобы контролировать воспаление и поддерживать иммунный гомеостаз [5,6,9,15]. Повышенное острое повреждение легких, вызванное цитокиновым штормом, приводящее к летальному исходу [1,2,6,7,11] является сигнатурой семейства коронавирусов, о которых сообщалось ранее для инфекций MERS-CoV и SARS-CoV [7,8,17,19].

Так, при COVID-19 в многочисленных клинических исследованиях сообщается о повышенных уровнях как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов [9,10,11,19]. Недавно опубликованный обширный метаанализ суммировал повышенные уровни ИЛ-2, ИЛ-2R, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, TNF-α и интерферона-γ (ИФН-γ) в тяжелой группе пациентов, тогда как не было обнаружено значительного



повышения уровней ИЛ-1 β и ИЛ-17 [12,17]. В двухгрупповом метаанализе, синтезированном на основе данных отдельных пациентов, сообщалось о статистически значимом отношении шансов ($p<0,05$) к развитию тяжелого заболевания только для двух цитокинов — ИЛ-6 и ИЛ-10 [13,16,18]. В некоторых метаанализах сообщалось о разнице в уровне ИЛ-6 между пациентами с тяжелым и нетяжелым течением COVID-19 с точки зрения стандартизированной средней разницы [14,17], средней разницы [15,18] или отношения средних значений [6,7,9,16], которые могут потенциально использоваться в качестве порога для различения пациентов с тяжелым и нетяжелым течением. Все эти сводные результаты метаанализа были связаны с высоким уровнем гетерогенности. Другой синтез трех клинических исследований определил повышенное отношение ИЛ-6/ИФН- γ у тяжелых пациентов [17] со значительной гетерогенностью. Недавний метаанализ, охватывающий 6242 пациента в 24 исследованиях, установил повышенные уровни ИЛ-6 и ИЛ-10 у пациентов с тяжелым течением COVID-19, при этом гетерогенность ИЛ-10 практически не сообщалась [18].

Клинические исследования когорт пациентов с COVID-19 изучали роль ИЛ-6 в отдельности [19] или ИЛ-6 вместе с другими цитокинами, включая ИЛ-10, ИЛ-2, ИЛ-4, ФНО- α и ИФН- γ , в качестве прогностического фактора для тяжелое заболевание [20]. Исследования метаанализа, описанные ранее [12,14,15,16], пришли к выводу о повышенных уровнях цитокинов у пациентов с тяжелым течением COVID-19, но не пытались установить их прогностическую значимость, за исключением исследования Elshazli et al., которые приняли решение анализ кривой дерева и рабочих характеристик приемника (ROC) для оценки прогностического потенциала нескольких лабораторных параметров, включая ИЛ-6 [13]. В другом исследовании с когортой из 501 пациента [3,7] была предпринята попытка создать модель риска смертности с использованием нескольких клинических параметров и уровня ИЛ-6. Однако, несмотря на многочисленные клинические исследования и метаанализы, какой-либо надежный прогностический метод, который мог бы предсказать прогрессирование пациента до тяжелой формы заболевания на основе уровня цитокинов при поступлении, остается недостижимым. В этом исследовании мы пытаемся прийти к прогностическому методу посредством метаанализа уровней обычно используемых 13 маркеров цитокинов между группами пациентов с тяжелым и нетяжелым течением путем построения классификатора с использованием модели логистической регрессии.

В связи с вышеизложенным, целью исследования SARS-CoV-2, вызвавший продолжающуюся пандемию COVID-19, индуцирует высокие уровни цитокинов, таких как ИЛ-1 бетта, ИЛ-6, ИФН- γ и т. д. у инфицированных пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания. Тем не менее известно, что несмотря на огромное количество публикаций в данной области, роль цитокинов при COVID-19 остаются плохо изученными. Определение роли цитокинов во время COVID-19 является ключом к эффективному ведению пациентов в клиниках. В этом исследовании был проведен комплексный метаанализ, чтобы установить связь между индуцированными цитокинами и тяжестью заболевания COVID-19, чтобы помочь в прогнозировании и клиническом лечении.



Материал и методы исследования. Обследованы 60 госпитализированных пациентов с подтвержденным COVID-19 (34 мужчин и 26 женщин), которые были госпитализированы в больницу ГУ «Специализированная больница Зангиота – 1» для лечения больных с коронавирусной инфекцией 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, туберкулез, грипп, адено-вирусная 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 письма 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.. 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 ($p=0,006$), мочевина крови ($p=0,03$), аланинаминотрансфераза ($p=0,01$), аспартатаминотрансфераза ($p=0,05$), С-реактивный белок ($p<0,0001$) и скорости оседания эритроцитов ($p=0,02$).

Иммунологические исследования проведены в лаборатории фундаментальной иммунологии Института иммунологии и геномики человека АН РУз на основании научного договора между Институтом и клиникой ГУ "Специализированная больница "Зангиота 1" для лечения больных с коронавирусной инфекцией. Исследования включали изучение содержания основных цитокинов иммунной системы для оценки иммунореактивности пациентов при тяжелых формах заболевания. Были изучены сывороточная продукция основных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-1 бетта и ИФН-гамма в сыворотке периферической крови больных. Для исследования были использованы наборы Вектор-Бест, Новосибирск для ИФА исследований.



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. Р значения менее 0,05 считались значимыми.

Полученные результаты и их обсуждение. В научной литературе был проведен поиск 13 цитокинов из 18 клинических исследований. Стандартизированная средняя разница для выбранных 6 цитокинов ИЛ-1 бетта, ИЛ-6 и ИФН-гамма между группами пациентов с тяжелой и нетяжелой формами COVID-19 была суммирована с использованием модели случайных эффектов. Классификатор был построен с использованием модели логистической регрессии с цитокинами, имеющими значительный SMD в качестве ковариант. Получено, что из цитокинов ИЛ-6, ИЛ-1 бетта и ИФН-гамма показали статистически значимое SMD во всех синтезированных исследованиях. Классификатор со средними значениями как ИЛ-6, так и ИЛ-1 бетта в качестве ковариат показал хорошие результаты с точностью $\sim 92\%$, что было значительно выше, чем точность, о которой сообщается в литературе с ИЛ-6 и ИЛ-1 бетта в качестве отдельных ковариат. Так, было показано, что предложенная авторами простая панель только с двумя цитокиновыми маркерами может использоваться в качестве предикторов для быстрой диагностики пациентов с более высоким риском ухудшения течения заболевания COVID-19 и, таким образом, может хорошо управляться для благоприятного прогноза. Был проведен метаанализ в соответствии с рекомендациями PRISMA [2,4,7,11,17]. Поиск литературы проводился в Pubmed, Google Scholar и в архивах препринтов, таких как medRxiv, bioRxiv и библиотека SSRN, для статей на английском языке, опубликованных в 2020 году до 31 мая 2020 года. Условия поиска включали термины, относящиеся к COVID-19, в заголовке статьи («2019 -nCov» или «nCoV-2019» или «новый коронавирус» или «SARS-CoV-2» или «COVID-19» или COVID19 или «новый коронавирус») вместе с такими терминами, как «уровень цитокинов» и сочетаниями общих названия цитокинов и символы генов. Стратегия поиска была рассмотрена всеми авторами, и было решено оставить в отборе статьи, не прошедшие эксперту оценку, с учетом сложившейся ситуации. Выявленные статьи были проверены и включены в шорт-лист с критериями включения в качестве клинических исследований с лабораторными данными по крайней мере двух цитокинов для групп пациентов с тяжелым и нетяжелым течением COVID-19. Критерии исключения из короткого списка включали обзорные статьи, мнения и комментарии, исследования, включающие другие патологические состояния или осложнения, связанные с COVID-19, и исследования без средних или медианных данных о цитокинах и их дисперсиях для каждой группы.



Измерение общего количества цитокинов ИЛ-1 бетта, ИЛ-6 и ИФН-гамма был указан как иммуноанализ на основе проточной цитометрии. Анализ среднего значения каждого маркера показал умеренное и статистически значимое повышение у тяжелых пациентов трех цитокинов ($p<0,0001$). Уровень ИФН- γ , интерферона II типа, показал слабое повышение в тяжелой группе по сравнению со значениями среднетяжелой группы. Так, суммарные значения ИЛ-1 бетта и ИЛ-6 показали существенную гетерогенность. Результаты показали, что уровни ИЛ-1 бетта и ИФН-гамма имеют зависимость от разницы в возрасте, тогда как зависимость ИЛ-6 от возраста не была значимой. Не было обнаружено зависимости уровней ИЛ-6 от пола, выраженной в виде разницы процентного содержания мужчин между двумя группами. Приведенные выше результаты приписывают некоторую наблюданную гетерогенность средних значений ИЛ-6 и ИЛ-1 бетта в разнице в среднем возрасте между тяжелой и нетяжелой группами. Наши результаты показывают, что из проанализированных цитокинов уровни только провоспалительного ИЛ-6 и ИЛ-1 бетта значительно повышены в тяжелой группе пациентов, о чем сообщалось в других исследованиях [2,10]. Таким образом, в связи с устойчивым распространением COVID-19 в большинстве обществ для эффективного ведения и ухода необходим подходящий прогностический тест, который может предсказать прогрессирование заболевания у пациентов до тяжелого состояния с достаточной точностью. Ранние исследования COVID-19 указывали на роль провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 бетта, ИЛ-6 и ИФН-гамма высвобождаемых активированными тучными клетками в подслизистой оболочке дыхательных путей, усугубляя воспалительное состояние и патогенез [4,9,10,14,16] и потенциал ингибиования некоторых из этих цитокинов в качестве возможной поддерживающей терапии. Конти и его коллеги тщательно изучили дыхательную дисфункцию, вызванную индукцией семейства цитокинов ИЛ-1 бетта при патогенных вирусных инфекциях, и предложили противовоспалительные цитокины, такие как IL-37 или IL-38, в качестве потенциальных терапевтических средств для тяжелых случаев COVID-19. Однако последующие клинические исследования и метаанализы, включая настоящее исследование, не смогли однозначно установить значительное повышение уровня ИЛ-1 у пациентов [5,14].

Известно, что повышенные уровни ИЛ-6, провоспалительной молекулы, снижают активность NK-клеток, а также связаны со снижением уровней гранзима и перфорина, вызывая нарушение лизической активности [12,15,18]. У пациентов с COVID-19 симптомы обострения, такие как повышение температуры тела, повышение маркеров воспаления, таких как СРБ и сывороточный ферритин, а также прогрессирующие изображения компьютерной томографии грудной клетки были связаны с повышенным уровнем ИЛ-6, который снижался во время выздоровления [5,15]. Об этой связи ИЛ-6 с легочными заболеваниями сообщалось ранее у пациентов с пневмонией [3,4,7,9] или тяжелым пневмонитом, вызванным лучевой терапией [17].

Хотя уровни цитокинов повышены у пациентов с тяжелым течением COVID-19, значение этого в терапевтической перспективе остается неясным. Кортикостероиды, которые потенциально могут подавлять цитокины путем ингибиции фактора транскрипции NF-кБ, использовались у пациентов с COVID-19. Исследование RECOVERY



с участием 2104 пациентов, получавших дексаметазон, по сравнению с 4321 пациентом, получавшим стандартное лечение, показало, что дексаметазон снижает смертность у тяжелых пациентов с инвазивной вентиляцией легких или кислородной поддержкой, но не оказывает никакого влияния на пациентов с легкими симптомами [2,15]. Однако метаанализ исследований, связанных с инфекцией SARS-CoV, SARS-CoV-2 и MERS-CoV, показал повышенный коэффициент риска смертности (ОР 2,11, 95% ДИ: 1,13–3,94) у пациентов, получавших кортикостероиды [7]. Теохаридес и Конти [16] утверждали, что использование дексаметазона в качестве иммуносупрессора может быть полезным в краткосрочной перспективе для тяжелых пациентов с COVID-19, но в долгосрочной перспективе это негативно повлияет на выздоровление из-за повреждающего действия дексаметазона на защитную функцию Т-клеток и на способность В-клеток к выработке антител. Несмотря на неясность терапевтического потенциала ИЛ-6 и ИЛ-10, наблюдаемые уровни их повышения у пациентов с тяжелой формой COVID-19 побудили клинических исследователей изучить возможность их использования в качестве прогностических факторов. В более раннем исследовании с участием детей с пневмонией соотношение ИЛ-6/ИЛ-10 при поступлении было индикатором тяжелого заболевания с чувствительностью и специфичностью 76,5% и 83,3% соответственно [5,6].

Таблица 1.

Сравнительная характеристика провоспалительных цитокинов при среднетяжелом и тяжелом течении Ковид-19, $M \pm m$

Группы пациентов	Сывороточная продукция ИЛ-1 β	Сывороточная продукция ИЛ-6	Сывороточная продукция ИФН-гамма
Среднетяжелые пациенты	$20,4 \pm 1,74^*$	$16,57 \pm 1,40^*$	$12,52 \pm 1,40^*$
Тяжелые пациенты	$33,48 \pm 2,16^*$	$28,55 \pm 1,62^*$	$6,55 \pm 1,42^*$
Контроль	$6,53 \pm 1,80$	$4,82 \pm 1,33$	$4,11 \pm 1,24$

Примечание: * - различия с контрольными значениями

Следовательно, наши результаты указывают на возможную дисрегуляцию иммунного ответа против COVID-19, характеризующуюся тремя цитокинами ИЛ-1 бетта, ИЛ-6 и ИФН-гамма, сдвигая баланс между нетяжелой и тяжелой категорией пациентов, и, следовательно, измерение обоих маркеров, необходимы для обозначения границы. Измерение уровней ИЛ-6 и ИЛ-1 бетта в сыворотке недорогостоящее и может быть выполнено при поступлении в клинику или центр помощи с минимальным оборудованием. Такое измерение будет иметь ключевое значение для выявления пациентов с большей вероятностью прогрессирования заболевания до тяжелой формы и, таким образом, для принятия необходимых мер предосторожности. Думаем, что для разработки и проверки теста потребуются дальнейшие испытания с несколькими когортами пациентов с COVID-19 или ассилияция данных на уровне пациентов из существующих когорт. Помимо диагностического потенциала, вариант возможной



терапевтической стратегии, нацеленной либо на ИЛ-6, либо на ИЛ-1 бетта, либо на оба, вероятно, появится в результате анализа таких данных.

Нами изучены сывороточные и спонтанные концентрации провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 β и ИЛ-6 у пациентов со среднетяжелой и тяжелой формами Ковид-19. Так, сравнительный анализ сывороточной продукции провоспалительных цитокинов у пациентов со среднетяжелой и тяжелой формами коронавирусной инфекции показал, что в группе лиц со среднетяжелым течением выявлено достоверное повышение сывороточных значений ИЛ-1 бетта, ИЛ-6 и ИФН-гамма, как показано в таблице 1. А вот изучаемые значения в тяжелой группе пациентов показали, что наблюдается достоверное повышение от контрольных данных всех сывороточных и спонтанных данных по ИЛ-1 бетта и ИЛ-6. Показано в таблице 1. Если обратить внимание на значения между исследуемыми группами, то можно увидеть, что по выработке ИЛ-1 бетта наблюдается достоверная разница между группами, причем, в группе с тяжелым течением заболевания наблюдается достоверное повышение ИЛ-1 бетта в 1,6 раза. По спонтанной продукции ИЛ-1 бетта видно, что содержание данного цитокина также было повышено значительно в группе пациентов с тяжелой формой течения в 2,3 раза. Что касается выработки ИЛ-6, то видно, что также наблюдается достоверная разница по сывороточной продукции и спонтанной продукции в обеих группах пациентов. Так, в группе пациентов с тяжелым течением заболевания наблюдается почти двухкратное повышение ИЛ-6 в сыворотки периферической крови.

Выводы. 1. Показано достоверное повышение цитокинов ИЛ-1 бетта, ИЛ-6 и ИФН-гамма в обеих группах пациентов, причем в группе тяжелых пациентов наблюдается значительное повышение этих цитокинов.

2. Показано, что предложенная простая панель с тремя цитокинами может использоваться в качестве предикторов для быстрой диагностики пациентов с более высоким риском ухудшения течения заболевания COVID-19.

3. Уровень ИФН- γ показал слабое повышение в тяжелой группе по сравнению со значениями среднетяжелой группы. Показано, что уровни ИЛ-1 бетта и ИФН-гамма имеют зависимость от разницы в возрасте, тогда как зависимость ИЛ-6 от возраста не была значимой. Также, не было обнаружено зависимости уровней ИЛ-6 от пола.

4. Эти исследования будут иметь ключевое значение для выявления пациентов с большей вероятностью прогрессирования заболевания до тяжелой формы и, таким образом, для принятия необходимых мер предосторожности.

References:

1. Hanaei S, Rezaei N. COVID-19: developing from an outbreak to a pandemic. Archives of Medical Research. 2020. doi:10.1016/j.arcmed.2020.04.021.
2. Saghazadeh A, Rezaei N. Immune-epidemiological parameters of the novel coronavirus—a perspective. Expert Review of Clinical Immunology. 2020;16:465–70. doi:10.1080/1744666X.2020.1750954.



3. Lotfi M, Hamblin MR, Rezaei N. COVID-19: transmission, prevention, and potential therapeutic opportunities. *Clinica Chimica Acta*. 2020;508:254–66. doi:10.1016/j.cca.2020.05.044.
4. Yazdanpanah F, Hamblin MR, Rezaei N. The immune system and COVID-19: friend or foe? *Life Sciences*. 2020;256:117900. doi:10.1016/j.lfs.2020.117900.
5. Liu WJ, Zhao M, Liu K, Xu K, Wong G, Tan W, Gao GF. T-cell immunity of SARS-CoV: implications for vaccine development against MERS-CoV. *Antiviral Research*. 2017;137:82–92. doi:10.1016/j.antiviral.2016.11.006.
6. Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, Li T, Chen Q. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *International Journal of Oral Science*. 2020;12:1–5. doi:10.1038/s41368-020-0074-x.
7. 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. doi:10.1002/rmv.2107.
8. He F, Deng Y, Li W. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): what we know? *Journal of Medical Virology*. 2020;92:719–25. doi:10.1002/jmv.25766.
9. Chen J, Lau YF, Lamirande EW, Paddock CD, Bartlett JH, Zaki SR, Subbarao K. Cellular immune responses to severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection in senescent BALB/c mice: CD4+ T cells are important in control of SARS-CoV infection. *Journal of Virology*. 2010;84:1289–301. doi:10.1128/JVI.01281-09.
10. Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, Liu S, Zhao P, Liu H, Zhu L. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8(4):420–22. doi:10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
11. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Medicine*. 2020;1–3.
12. Williams AE, Chambers RC. The mercurial nature of neutrophils: still an enigma in ARDS? *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2014;306:L217–L30. doi:10.1152/ajplung.00311.2013.
13. Cameron MJ, Bermejo-Martin JF, Danesh A, Muller MP, Kelvin DJ. Human immunopathogenesis of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Virus Research*. 2008;133:13–19. doi:10.1016/j.virusres.2007.02.014.
14. Min C-K, Cheon S, Ha N-Y, Sohn KM, Kim Y, Aigerim A, Shin HM, Choi J-Y, Inn K-S, Kim J-H. Comparative and kinetic analysis of viral shedding and immunological responses in MERS patients representing a broad spectrum of disease severity. *Scientific Reports*. 2016;6:1–12. doi:10.1038/srep25359.
15. Golshani M, Saghazadeh A, Rezaei N. SARS-CoV-2—a tough opponent for the immune system. *Archives of Medical Research*. 2020.
16. Shakoory B, Carcillo JA, Chatham WW, Amdur RL, Zhao H, Dinarello CA, Cron RQ, Opal SM. Interleukin-1 receptor blockade is associated with reduced mortality in sepsis patients with features of the macrophage activation syndrome: re-analysis of a prior Phase III trial. *Critical Care Medicine*. 2016;44:275. doi:10.1097/CCM.0000000000001402.



17. Saghazadeh A, Rezaei N. Towards treatment planning of COVID-19: rationale and hypothesis for the use of multiple immunosuppressive agents: anti-antibodies, immunoglobulins, and corticosteroids. *International Immunopharmacology*. 2020;84:1-6. doi:10.1016/j.intimp.2020.106560.
18. Coomes EA, Haghbayan H. Interleukin-6 in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *medRxiv*. 2020.
19. Richardson P, Griffin I, Tucker C, Smith D, Oechsle O, Phelan A, Stebbing J. Baricitinib as potential treatment for 2019-nCoV acute respiratory disease. *The Lancet*. 2020;395:e30-e1. doi:10.1016/S0140-6736(20)30304-4.
20. Fardet L, Galicier L, Lambotte O, Marzac C, Aumont C, Chahwan D, Coppo P, Hejblum G. Development and validation of the HScore, a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome. *Arthritis & Rheumatology*. 2014;66:2613-20. doi:10.1002/art.38690.
21. Wang Y, Chen X, Cao W, Shi Y. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. *Nature Immunology*. 2014;15:1009. doi:10.1038/ni.3002.