

UDC 616.98:612.017:[611.018.53:618.48]:57.086.13

А.М. Гольцев^{1*}, Б.Дж. Фуллер³, М.О. Бондарович¹, Н.М. Бабенко¹, Ю.О. Гаєвська¹,
І.А. Буряк², Т.Г. Дубрава¹, К.Є. Ямпольська¹, О.Д. Луценко¹, М.В. Останков¹

COVID-19 – потенційна мішень для кріобіології та кріомедицини

UDC 616.98:612.017:[611.018.53:618.48]:57.086.13

А.М. Goltsev^{1*}, B.J. Fuller³, M.O. Bondarovich¹, N.M. Babenko¹, Yu.O. Gaevska¹,
I.A. Buriak², T.G. Dubrava¹, K.Ye. Yampolska¹, O.D. Lutsenko¹, M.V. Ostankov¹

COVID-19 as a Potential Target for Cryobiology and Cryomedicine

Реферат: У огляді представлено дані щодо імунопатогенезу COVID-19 і підходів до його профілактики та лікування. Низька ефективність протівірусних засобів обумовлена здатністю вірусу SARS-CoV-2 до зміни власних структурних і функціональних характеристик. Існуючі стратегії лікування COVID-19 сфокусовані на застосуванні лікувальних засобів прямої протівірусної дії, модуляції вродженої імунної відповіді, пригніченні «цитокінового шторму» та застосуванні плазми реконвалесцентів. Дизрегуляція взаємодії систем вродженого та адаптивного імунітету обумовлює запуск аутоімунного процесу в організмі вірусносія, що потребує застосування альтернативних підходів до профілактики таких захворювань із використанням кріобіологічних технологій. Наведено результати вивчення імунобіологічної активності кріоконсервованого лейкоконцентрату кордової крові людини (кЛККЛ) і його компонентів за превентивного інтраназального введення. Ефективність застосування кЛККЛ пов'язана з можливістю перепрограмування генів, відповідальних за реалізацію імунних відповідей організму та індукцію «тренованого» імунітету. Така модифікація стану імунної системи може бути найбільш перспективною у забезпеченні захисту організму від вірусів, зокрема COVID-19.

Ключові слова: SARS-CoV-2, COVID-19, імунна система, кріоконсервований лейкоконцентрат кордової крові людини, протівірусний захист.

Abstract: The review presents data on immune pathogenesis of COVID-19 and approaches to its prevention and treatment. The low effectiveness of antiviral drugs is caused by the ability of SARS-CoV-2 virus to change its own structure and functions. Existing treatment strategies of COVID-19 are focused on applying the direct antiviral therapies, modulation of innate immune response, 'cytokine storm' suppression and use of convalescent plasma. Deregulated interaction between innate and adaptive immune systems determines the start of autoimmune process in the virus carrier body, that requires the use of alternative ways to prevent such diseases using cryobiological technologies. The results of studying the immune biological activity of cryopreserved human cord blood leukoconcentrate (cHCBL) and its components by preventive intranasal administration have been presented. The effectiveness of cHCBL is related to the possible reprogramming of the genes responsible for the implementation of the body's immune responses and induction of the 'trained' immunity. Such a modification of the immune system state can be the most promising in protecting the body against viruses, in particular COVID-19.

Key words: SARS-CoV-2, COVID-19, immune system, cryopreserved human cord blood leukoconcentrate, antiviral protection.

Сталість внутрішнього середовища організму людини ґрунтується на скоординованій, гармонійній взаємодії трьох його систем, які складають «нейро-імунно-ендокринний блок» – «золотий трикутник бодіомеостазу». Саме ці системи (в першу чергу – імунна) забезпечують захист організму людини від патогенної мікрофлори зовнішнього середовища. З кожним роком людство зптовхується з все більшою кількістю невідомих раніше інфекцій (вірусних та бактеріальних). До появи нових інфекцій причетні й антропогенні фактори, непередбачуване виникнення яких і загроза здоров'ю насе-

The human body internal environment stability is based on the coordinated, harmonious interaction of its three systems, referred as the 'golden triangle of body homeostasis', representing the 'neuro-immune-endocrine block'. These systems (first of all immune) provide the protection of a human body against pathogenic microflora of external environment. Every year, humanity faces an increasing number of previously unknown infections (viral and bacterial). Anthropogenic factors are also involved into emergence of new infections, the unpredictable occurrence of those and the threat to public health often lead scientists and physicians worldwide to a dead end.

¹ Відділ кріопатофізіології та імунології,

² Відділ кріомікробіології, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

³ Роял Фрі Шпиталь, Медична школа Університетського коледжу Лондона, Лондон, Велика Британія

¹ Department of Cryopathophysiology and Immunology,

² Department of Cryomicrobiology, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

³ Royal Free Hospital, University College London Medical School, London, United Kingdom

***Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:**

вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61016;
тел.: (+38 057) 373-74-35, факс: (+38 057) 373-59-52
електронна пошта: cryopato@gmail.com

***To whom correspondence should be addressed:**

23, Pereyaslavska str., Kharkiv, Ukraine 61016;
tel.: +380 57 373 7435, fax: +380 57 373 5952
e-mail: cryopato@gmail.com

Надійшла 10.03.2020

Прийнята до друку 23.04.2020

Received March, 10, 2020

Accepted April, 23, 2020

© 2020 A.N. Goltsev, et al. Published by the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

лення часто заводять у глухий кут вчених і медиків всіх країн світу.

Наприкінці 2019 р. населення світу зіткнулося з новим коронавірусним захворюванням (Coronavirus disease 2019, COVID-19), яке спричинене коронавірусом SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2). За три місяці вірус поширився по всьому світу та 11 березня 2020 р. за рішенням ВОЗ було оголошено пандемію COVID-19.

Прояви COVID-19 варіюють від безсимптомних до важких, оскільки супроводжуються системною поліорганною дисфункцією і високою летальністю [91]. Важкі наслідки експансії вірусу змушують задуматися людство над тим, як зупинити темпи розповсюдження пандемії.

Відомо, що успішне лікування будь-якого захворювання залежить від розуміння його патогенезу. Тому метою цього огляду було узагальнення сучасних відомостей щодо імунопатогенезу COVID-19, особливостей взаємодії систем вродженого та адаптивного імунітету, дизрегуляція яких обумовлює запуск в організмі вірусносія аутоімунного процесу, що потребує застосування альтернативних підходів до профілактики респіраторних захворювань із використанням кріобіологічних технологій.

SARS-CoV-2 належить до одноланцюгових лінійних РНК-вмісних вірусів сімейства β -коронавірусів [88], для яких характерна наявність глікопротеїдних пепломерів у вигляді відростків («сонячної корони») на білковій оболонці вірусу (капсиді). Тільки сім відомих коронавірусів можуть викликати респіраторні захворювання у людини. Три з них стали причиною великих спалахів пневмоній у XXI столітті: гострий респіраторний синдром – SARS-CoV (2002 р.), близькосхідний респіраторний синдром – MERS-CoV (2012 р.), гострий респіраторний синдром – SARS-CoV-2 (2019 р.). Новий коронавірус SARS-CoV-2 має достатню схожість за структурою з попереднім SARS-CoV (2002 р.) [43].

Геном SARS-CoV-2 містить 11 відкритих рамок зчитування (Open Reading Frame, ORF) – послідовностей нуклеотидів у складі РНК, що кодують 27 білків [43]. Перша ORF1 складає приблизно дві третини генома вірусу, кодуючи 16 неструктурних білків (nonstructural protein, nsp), які беруть участь у синтезі вірусної РНК. Решта третини генома кодує чотири структурні білки: шиповидний S-білок (S-глікопротеїни вірусу, якими він зв'язується з клітинами-мішенями господаря), оболонки (E), нуклеокапсиду (N) і мембрани (M), а також низки допоміжних білків,

At the end of 2019, the world's population was exposed to a new coronavirus disease (COVID-19) caused by the coronavirus SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2). In three months, the virus spread around the world and on March 11, 2020, the WHO declared a COVID-19 pandemic.

The COVID-19 manifestations range from asymptomatic to severe because they are accompanied by multiple organ failure and high mortality [91]. The severe consequences of the virus expansion are forcing humanity to think about the way to stop the pandemic spreading.

Successful treatment of any disease is known to depend on understanding its pathogenesis. Therefore, the purpose of this review was to summarize current data on the immune pathogenesis of COVID-19, the peculiarities of the interaction of innate and adaptive immune systems, deregulation of which triggered the autoimmune process in the body, that required alternative approaches to prevent the respiratory diseases by using cryobiological technologies.

SARS-CoV-2 belongs to the single-stranded linear RNA-containing viruses of the β -coronavirus family [88], characterized by the presence of glycoprotein peplomers in the form of processes ('the Solar corona') on the virus protein shell (capsid). Only seven known coronaviruses can cause respiratory diseases in humans. Three of them have caused the major outbreaks of pneumonia in the 21st century: acute respiratory syndrome – SARS-CoV (2002), Middle Eastern respiratory syndrome – MERS-CoV (2012), acute respiratory syndrome – SARS-CoV-2 (2019). The new coronavirus SARS-CoV-2 is quite structurally similar to the previous SARS-CoV (2002) [31].

The SARS-CoV-2 genome contains 11 Open Reading Frame (ORF), *i. e.* nucleotide sequences in RNA encoding 27 proteins [31]. The first ORF1 is approximately two-thirds of the virus genome, encoding 16 nonstructural proteins (nsp) involved into the viral RNA synthesis. The remaining third of the genome encodes four structural proteins: the spike protein S (S-glycoproteins of the virus by which it binds to host target cells), the envelope (E), nucleocapsid (N) and membrane (M), as well as a number of helper proteins, regulating the replications and promoting the virus penetration into cells [66].

Using the ribosomal apparatus of the host cell the virus ORF1 is translated into two large polyproteins pp1a and pp1ab, which are then cleaved by viral proteinases with papain- and chy-



які регулюють реплікативні процеси і сприяють проникненню вірусу в клітини [72].

Через рибосомальний апарат клітини-господаря ORF1 транслюється в два великих поліпептиди pp1a і pp1ab, які потім розщеплюються вірусними протеїназами з папаїн- і хімотрипсин-подібними властивостями на 16 nsp [56]. Спільна експресія білків nsp3 і nsp4 призводить до реаранжування мембран ендоплазматичного ретикулу клітини господаря. Внаслідок цього процесу формуються органелоподібні двохмембранні везикули, які містять реплікативно-транскрипційні комплекси коронавірусу [42]. SARS-CoV-2, як й інші коронавіруси, зв'язується своїм шиповидним S-білком із рецептором ACE-2 (angiotensin-converting enzyme 2). Цей рецептор широко розповсюджений на епітеліальних клітинах дихальних шляхів, альвеолярних епітеліальних клітинах, ендотеліальних клітинах судин, ентероцитах тонкого кишечника, а також на гладком'язових клітинах більшості органів. Вочевидь, що тканини і органи людини, клітини яких експресують ACE-2, є потенційною мішенню SARS-CoV-2 і плацдармом для розвитку імунозапальних процесів [58]. Шиповидний S-білок коронавірусу містить дві функціональні субодиниці: S1 – відповідає за зв'язування з рецептором клітини-господаря і S2 – забезпечує злиття вірусної та клітинної мембран. Для проникнення вірусу у клітину після контакту S-білка з поверхнею клітини відбувається його протеолітичне розщеплення протеазами клітини господаря (трипсин, триптаза Клара, трипсиноподібна протеаза дихальних шляхів тощо) на межі субодиниць S1 / S2 [29]. Аналіз амінокислотної послідовності шиповидного S-білка коронавірусу SARS-CoV-2 виявив новий сайт субодиниці S2, який піддається протеолітичному розщепленню фурином клітин господаря [84]. Фурин є протеазою, яка широко поширена в організмі людини, що обумовлює здатність SARS-CoV-2 інфікувати нечутливі до інших коронавірусів клітини та призводить до розвитку властивої для COVID-19 поліорганної вірусної інфекції [83].

Про важливість комплементарної взаємодії домену субодиниці S1-шиповидного S-білка вірусу з відповідною структурою рецептора ACE-2 свідчать результати досліджень тайваньських вчених [93]. Методом мас-спектроскопії було показано, що в шиповидному S-білку коронавірусу FIPV-UU4 серотипу 1, який викликає гнійний перитоніт у кішок, відносна частка комплексних N-гліканів із високим вмістом манози, становила не менше 25% від загальної маси білка. На основі результатів криоелектронно-мікроскопіч-

motrypsin-like properties into 16 nsp [47]. The joint expression of *nsp3* and *nsp4* proteins leads to the rearrangement of membranes of the host cell endoplasmic reticulum, as a result of this process the organelle-like double-membrane vesicles, containing the coronavirus replicative-transcriptional complexes, are formed [30]. SARS-CoV-2, like other coronaviruses, binds its spike protein S to the ACE-2 receptor (angiotensin-converting enzyme 2). This receptor is widely distributed on airway epithelial cells, alveolar epithelial cells, vascular endothelial cells, small intestinal enterocytes, and mast cells in most organs. It is clear that human tissues and organs the cells of which express ACE-2 are a potential target of SARS-CoV-2 and the base for the development of immune inflammatory processes [51]. The coronavirus spike protein S contains two functional subunits: S1 is responsible for binding to the host cell receptor and S2 provides the fusion of viral and cell membranes. For the virus to enter the cell after contact of the protein S with the cell surface, its proteolytic cleavage by host cell proteases (trypsin, tryptase Clara, airway trypsin-like protease, *etc.*) is necessary at the boundary of S1 / S2 subunits [8]. Analysis of the amino acid sequence of the coronavirus SARS-CoV-2 spike protein S revealed a new site of the S2 subunit, which underwent proteolytic cleavage by furin of host cells [84]. Furin is a protease that is widespread in human body, causing the ability of SARS-CoV-2 to infect cells insensitive to other coronaviruses and leading to the development of COVID-19-specific multiorgan viral infection [83].

The importance of complementary interaction of the domain of the subunit of the virus spike protein S1 with the corresponding structure of the ACE-2 receptor is evidenced by the findings of Taiwanese scientists [93]. Mass spectroscopy demonstrated that in the spike protein S of coronavirus FIPV-UU4 serotype 1, which caused purulent peritonitis in cats, the relative proportion of complex N-glycans with a high content of mannose was at least 25% of the total protein mass. Based on cryoelectron microscopic (Cryo-EM) analysis findings the authors obtained a three-dimensional reconstruction of the spike protein S of this coronavirus and created an near-atomic EM-map, which allowed 3D modeling of 27 of 33 N-glycans and establishing the fact that they mask the bulk of studied protein. In addition, the specific localization of N-glycans, which are located between two galectin-like domains of the S1 subunit, has been established, that ensures the existence of the protein S in me-



ного аналізу (Cryo-EM) автори отримали тривимірну реконструкцію шиповидного S-білка цього коронавірусу та створили near-atomic ЕМ-карту, яка дозволила провести 3D-моделювання 27 із 33 N-гліканів і встановити факт маскування ними більшої частини досліджуваного білка. Крім того, встановлено й специфічну локалізацію N-гліканів, які розташовуються між двома галектино-подібними доменами S1 субодиниці, що забезпечує існування S-білка у метастабільному стані. Це може визначати не тільки специфіку його зв'язку з ACE-2 клітин-мішеней, але й сприяти уникненню розпізнавання імунними клітинами господаря.

У роботі D. Wrapp та співавт. [89] із використанням також Cryo-EM отримано біофізичні та структурні дані, які підтвердили більш високу афінність зв'язування SARS-CoV-2 із рецептором ACE-2, ніж SARS-CoV. При цьому підкреслюється, що, незважаючи на відносно високий ступінь гомології рецептор-зв'язуючих доменів (РЗД) субодиниці S1 шиповидного S-білка обох вірусів, отримані специфічні моноклональні антитіла до РЗД вірусу SARS-CoV не зв'язувалися з такими у новому вірусі SARS-CoV-2. Автори вважають, що ці обмеження перехресної реактивності можуть бути обумовлені більш високим ступенем глікозування РЗД вірусу SARS-CoV-2.

Висловлюється припущення, що ферменти клітини-господаря можуть призводити до вбудовування цукрів із високим вмістом манози у синтезовані *de novo* вірусні білки, сприяючи «камуфлюванню» білків вірусу [26]. При цьому утворюються нові потенційні сайти зв'язування білка коронавірусу з поверхнею клітини. Крім того, екрануюче глікозування вірусу ускладнює його виявлення лікарськими засобами, розробленими з урахуванням тільки поліпептидних послідовностей білка вірусу [86]. Таким чином, «камуфлювання» потенційно імуногенних епітопів шиповидного S-білка дає їм можливість «вислизати» від розпізнавання антитілами за умов гуморальної імунної відповіді організму [83]. Детальне вивчення особливостей реальної структури вірусу дозволить визначити не тільки специфіку його взаємодії з клітинами-мішенями при COVID-19, а й причини нестандартної відповіді імунної системи організму на SARS-CoV-2.

Противірусний захист реалізується механізмами вродженого і набутого (адаптивного) імунітету [10], кожен із яких може бути специфічним (відповідати на конкретний тип збудника) і неспецифічним.

Вроджена імунна відповідь (ВІВ) здійснюється клітинними (натуральні кілери, дендритні клі-

tastable state. This may not only determine the specificity of its binding to ACE-2 target cells, but also help to avoid recognition by host immune cells.

In the research of D. Wrapp *et al.* [89] as well using Cryo-EM there were obtained structural data that confirmed a higher affinity for SARS-CoV-2 binding to the ACE-2 receptor than in SARS-CoV. It is emphasized that, despite the relatively high homology of the receptor-binding domains (RBD) of the S1 subunit of the spike protein S of both viruses, the obtained specific monoclonal antibodies to RBD of SARS-CoV virus were not associated with those in the new SARS virus-CoV-2. The authors believe that these limitations of cross-reactivity may be determined by a higher glycosylation of SARS-CoV-2 virus.

It has been suggested that host cell enzymes may lead to building-in of sugars with a high content of mannose to the *de novo*-synthesized viral proteins, by helping to 'camouflage' the virus proteins [4]. This creates new potential sites for the binding of the coronavirus protein to the cell surface. In addition, shielding glycosylation of the virus complicates its detection by drugs designed with only the polypeptide sequences of the virus protein [86]. Thus, the 'camouflaging' of potentially immunogenic epitopes of spike protein S allows them to 'escape' from the recognition by antibodies in terms of humoral immune response [83]. A detailed study of the virus real structure will determine not only the specifics of its interaction with target cells in COVID-19, but also the extraordinary response of the body's immune system to SARS-CoV-2.

Antiviral protection is implemented by the mechanisms of innate and acquired (adaptive) immunity [13], each of which can be specific (correspond to a specific type of pathogen) and nonspecific.

The innate immune response (IIR) is accomplished by cell (natural killers, dendritic cells, macrophages, granulocytes) and humoral (lysozyme, interferons, complement system, inflammatory mediators) components of the immune system. The adaptive immune response (AIR) also contains both cell (various subpopulations of T-lymphocytes) and humoral (antibodies that produce B-lymphocytes) components [13].

The airborne route of SARS-CoV-2 transmission is the main one, which makes epithelial cells of the nasolabial cavity with a high level of ACE-2 expression a 'primary target' for the virus [51]. High replicative activity of the virus in airway epithelial cells [95] with the involvement of in-



тини, макрофаги, гранулоцити) і гуморальними (лізоцим, інтерферони, система комплементу, медіатори запалення) компонентами імунної системи. Адаптивна імунна відповідь (АІВ) також містить як клітинні (різноманітні субпопуляції Т-лімфоцитів), так і гуморальні (антитіла, які продукують В-лімфоцити) складові [10].

Повітряно-крапельний шлях передачі SARS-CoV-2 є основним, що робить епітеліальні клітини носо-ротової порожнини з високим рівнем експресії ACE-2 «першочерговою мішенню» вірусу [58]. Висока реплікативна активність вірусу в епітеліальних клітинах дихальних шляхів [95] за участю інфламасом і активації каспази 1 може викликати в них розвиток піроптозу – особливого виду програмованої некротичної загибелі клітин [78].

Активне вивільнення через пошкоджену мембрану епітеліальних клітин дихальних шляхів молекулярних структур, асоційованих із ушкодженнями (DAMP) і прозапальних інтерлейкінів (ІЛ) є першим етапом каскадного імунозапального процесу, що має місце у пацієнтів із SARS-CoV2 [78].

Учасники ВІВ господаря, зокрема альвеолярні макрофаги та альвеолярні епітеліальні клітини, здатні виявляти DAMP та різні патоген-асоційовані молекулярні структури вірусу (PAMP – вірусну РНК і білки) за допомогою таких рецепторів розпізнавання (pattern recognition receptor, PRR): Toll-like receptor (TLR); Nod-like-receptor (NLR); RIG-I-like receptor (RLR) [78]. Вони розташовані у відповідних компартментах клітин і реалізують неспецифічну ВІВ господаря. Різні структурні одиниці вірусу розпізнаються відповідними PRR. Так, шиповидний S-білок коронавірусу розпізнається TLR-4. Така взаємодія здійснюється за участю адаптерного білка MyD88, який активує транскрипційний фактор NF-κB та систему патоген-активованих протеїнкіназ, що у подальшому посилює синтез прозапальних цитокінів [55].

Детекція нуклеїнової кислоти РНК-вірусів здійснюється як TLR-3-, так і RLR-рецепторами, які є цитоплазматичними сенсорами, здатними «включати» каскади внутрішньоклітинного сигналювання, що активує такі транскрипційні фактори як IRF3, IRF7 і NF-κB. Послідовно IRF3 і IRF7 ініціюють транскрипцію інтерферону (ІФН) типу I (α і β) і фактора некрозу пухлини-альфа (ФНП-α) [32, 55]. Тобто, в імунокомпетентних клітинах (ІКК) існує розгалужена система сприйняття і трансдукції «сигналів тривоги», що ініціює широкий набір медіаторів ВІВ, зокрема, секрецію системи інтерферонів. Індукція відповіді ІФН типу I необхідна для обмеження поширення вірусу в організмі господаря на ран-

flammasomes and activation of caspase 1 can cause them to develop pyroptosis, *i. e.* a special type of programmed necrotic cell death [73].

Active release through the airway epithelial cell damaged membrane of molecular structures associated with damage (DAMP) and pro-inflammatory interleukins (IL) is the first stage of the cascade immune inflammatory process that occurs in the patients with SARS-CoV-2 [73].

Alveolar macrophages and epithelial cells, in particular involved into host IIR, are able to detect DAMP and various pathogen-associated molecular structures of the virus (PAMP – viral RNA and proteins) using the following pattern recognition receptors (PRR): Toll-like receptor (TLR); Nod-like receptor (NLR); RIG-I-like receptor (RLR) [73]. They are located in the corresponding cell compartments and implement non-specific host IIR. Different structural units of the virus are recognized by the corresponding PRR. Thus, the coronavirus spike protein S is recognized by TLR-4. This interaction is performed with the involvement of the adapter protein MyD88, which activates the transcription factor NF-κB and the system of pathogen-activated protein kinases, which further enhances the synthesis of pro-inflammatory cytokines [46].

The RNA virus nucleic acid is detected through both TLR-3 and RLR receptors, which are cytoplasmic sensors capable of ‘switching’ intracellular signaling cascades that activate such transcription factors as IRF3, IRF7 and NF-κB. Sequentially, IRF3 and IRF7 initiate the transcription of interferon (IFN) type I (α and β) and tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) [11, 46]. Namely, in immune competent cells (ICC) there is an extensive system of perception and transduction of ‘alarm signals’, which initiates a wide range of IIR mediators, in particular, the secretion of the interferon system. Induction of the IFN type I response is necessary to limit the spread of the virus in the host at the early stages of its invasion. These interferons mediate the direct antiviral effects of IIR and AIR by restricting virus replication. Since the main route of SARS-CoV-2 virus entry is the upper respiratory tract, then NALT (nasal-associated lymphoid tissue, NALT) is directly involved into the recognition and destruction of respiratory pathogens. Of particular importance is the fact that information about events developing in NALT, is transmitted in various forms to remote areas of the immune system peripheral and central organs.

One of the pathogenetic signs of COVID-19 expansion is the ability to inhibit ICC function, which causes untimely onset of type I interfe-



ніх стадіях його інвазії. Ці інтерферони опосередковують прямі противірусні ефекти ВІВ і АІВ, обмежуючи реплікацію вірусу. Оскільки основний шлях потрапляння вірусу SARS-CoV-2 в організм – верхні дихальні шляхи, то безпосереднім учасником розпізнавання і знищення респіраторних патогенів є NALT (nasal-associated lymphoid tissue, NALT). Особливу значущість має той факт, що інформація про події, які розвиваються в NALT, транслюється в різній формі у віддалені ділянки периферичних і центральних органів імунної системи.

Однією із патогенетичних ознак експансії COVID-19 є здатність до пригнічення функції ІКК, що викликає несвоєчасний початок синтезу ІФН типу I [82], дозволяючи вірусу активно реплікуватися. При цьому інтенсивне відновлення синтезу ІФН типу I у відстрокований період погіршує клінічний стан пацієнтів на тлі загального дисбалансу цитокінів [82].

Подібно до інших вірусів SARS-CoV і MERS-CoV здатні [48] втручатися в передачу сигналів ІФН типу I, уникаючи противірусної відповіді імунної системи. Так, структурні (E, M, N) і допоміжні (ORF-3b, ORF-6, ORF-7a, ORF-9) білки коронавірусу реалізують різноманітні механізми пригнічення інтерферогенезу. Наприклад, ORF3b і ORF-6 здатні гальмувати функцію IRF-3 – одного з факторів, що регулюють синтез інтерферону [50]. Крім того, структурний білок N вірусу може обмежувати синтез ІФН типу I шляхом зв'язування з чутливим промотором гена NF-κB. У культурі клітин *in vitro* продемонстровано здатність папаїноподібної протеази, яка є частиною nsp3 коронавірусу, пригнічувати секрецію ІФН-β клітинами господаря шляхом блокування білка STING (Stimulator of interferon genes) – стимулятора генів інтерферону [60]. Відомо, що ІФН типу I (α і β) і меншою мірою ІФН типу II (γ) здатні до стимуляції гена, який відповідає за експресію ACE-2. В умовах гіперпродукції таких медіаторів при COVID-19 клітини господаря можуть бути ще більш уразливими для SARS-CoV-2 [97]. Даний факт свідчить про необхідність подальшого дослідження взаємодії SARS-CoV-2 із ВІВ.

Більшість противірусних імунних реакцій є інтерферон-опосередкованими, проте не виключена реалізація противірусного захисту і за іншими напрямками. Так, після введення рекомбінантного штаму SARS-CoV (MA15-SARS-CoV) нокаутним по рецепторам ІФН I та II типів мишам спостерігалася клінічна картина, притаманна мишам дикого фенотипу [39]. Поясненням подібного феномена може бути реалі-

ron synthesis [77], allowing the virus to actively replicate. In this case, the intensive resumption of the synthesis of IFN type I in the delayed period worsens the clinical condition of patients on the background of a general imbalance of cytokines [77].

Viruses, in particular MERS-CoV and SARS-CoV-2, are able to interfere with the transmission of type I IFN signals, avoiding the antiviral response of the immune system [36]. Thus, structural (E, M, N) and auxiliary (ORF-3b, ORF-6, ORF-7a, ORF-9) proteins of the coronavirus implement various mechanisms of inhibition of interferonogenesis. For example, ORF-3b and ORF-6 are able to inhibit the function of IRF-3, which is one of the factors, regulating interferon synthesis [38]. In addition, the structural protein N of the virus can limit the synthesis of IFN type I by binding to the sensitive promoter of the NF-κB gene. *In vitro* cell culture has demonstrated the ability of a papain-like protease, which is part of the coronavirus *nsp3*, to inhibit IFN-β secretion by host cells by blocking the STING (stimulator of interferon genes) [53]. It is known that IFN type I (α and β) and to a lesser extent IFN type II (γ) are able to stimulate the gene, responsible for ACE-2. Under conditions of hyperproduction of such mediators in COVID-19, the host cells may be even more vulnerable to SARS-CoV-2 [97]. This fact suggests the need for further study of the interaction of SARS-CoV-2 with IIR.

Most antiviral immune responses are interferon-mediated, but the implementation of antiviral protection in other areas is not excluded. Thus, after administration of a recombinant strain of SARS-CoV (MA15-SARS-CoV) to knockout IFN I and II receptors, a clinical picture of wild-type mice was observed [19]. This phenomenon may be explained by the implementation of IFN-independent mechanisms of antiviral response, in particular through interfering microRNAs [7], the system of defensins [59], cathelicidins (LL37) [63] etc.

The nature of antagonism in the virus-organism system remains to be elucidated, but the versatile inhibitory activity of SARS-CoV-2 on antiviral immunity is striking and alerting. Previously, *in vitro* data have been obtained indicating the ability of SARS-CoV to inhibit interferonogenesis, directly targeting the mitochondria of epithelial and embryonic lung cells and monocytes [68]. The authors proved that the SARS-CoV virus ORF-9b protein, localized on the outer membrane of mitochondrial cells, caused their elongation by ubiquitination and proteosomal degradation of DLP1



зація ІФН-незалежних механізмів протівірусної відповіді, зокрема через інтерферуючі мікро РНК [28], систему дефенсинів [65], кателіцидинів (LL37) [69] тощо.

Природу антагонізму в системі вірус-організм ще належить з'ясувати, але багатовекторність інгібуючої активності SARS-CoV-2 щодо протівірусного імунітету вражає і насторожує. Раніше були отримані *in vitro* дані, які свідчать про здатність SARS-CoV пригнічувати інтерферогенез, безпосередньо таргетуючи мітохондрії епітеліальних і ембріональних клітин легень та моноцитів [74]. Автори довели, що білок ORF-9b вірусу SARS-CoV, який локалізується на зовнішній мембрані мітохондрій клітин, викликає їх елонгацію шляхом убіквітинування та протеосомної деградації білків DLP1 (dynamitin-like-protein 1), які в нормі забезпечують поділ мітохондрій. Послідовно реалізуючи свою «анти-мітохондріальну» активність через ряд адаптерних молекул, вірус пригнічує продукцію інтерферону в заражених клітинах [74]. Більш того, підвищення рівня експресії ORF-9b приводить до аутофагії клітин. Це підтверджує здатність вірусу порушувати фізіологічний стан мітохондрій клітин господаря, тобто викликати колоптоїдний стан мітохондрій.

Початкові етапи активації ВІВ організму за умов вірусної інфекції у вигляді запальної реакції є фізіологічним процесом. У первинному вогнищі інфекції клітини ВІВ, зокрема нейтрофіли та макрофаги, продукують активні форми кисню (АФК), які підсилюють імунні протівірусні реакції та викликають інгібіцію реплікації вірусів [33]. Крім цього, АФК необхідні для запуску механізмів диференціювання Т-клітин шляхом активації NFAT (nuclear factor of activated T-cells) [47]. Залежно від концентрації АФК і відповідних білків-партнерів, NFAT беруть участь у формуванні всього континууму Т-клітин, активуючи імунну відповідь або викликаючи імунну толерантність. Більш того, показано, що АФК відіграють найважливішу роль у прямій опосередкованій Т-регуляторними (T_{reg}) клітинами супресії ефекторних $CD4^+$ Т-лімфоцитів [47]. Таким чином, залежно від фази запального процесу АФК, основними продуцентами яких є мітохондрії, можуть запобігати або стимулювати розвиток аутоімунних станів [44].

У кліренсі коронавірусу важливою є і АІВ. Елімінація інфікованих вірусом клітин відбувається за участю і за умов кооперативної взаємодії різних типів Т-клітин, включаючи цитотоксичні вірус-специфічні Т-лімфоцити та В-клітини, які після контакту з антигеном здатні

proteins (dynamitin-like protein 1), which normally provide mitochondrial division. Consistently implementing its 'antimitochondrial' activity through a number of adapter molecules, the virus inhibited interferon production in infected cells [68]. Moreover, increased expression of ORF-9b led to cell autophagy. This evidences the ability of the virus to disrupt the physiological state of the mitochondria of host cells.

The initial stages of IIR activation in the body when viral infection as an inflammatory response is a physiological process. In the primary focus of infection, IIR cells, in particular neutrophils and macrophages, produce reactive oxygen species (ROS), which strengthen immune antiviral responses and virus replication inhibition [12]. In addition, ROS are required to trigger the mechanisms of T cell differentiation by activating NFAT (nuclear factor of activated T cells) [35]. Depending on the ROS concentration and the corresponding partner proteins, NFATs are involved into formation of the entire continuum of T cells, activating the immune response or inducing immune tolerance. Moreover, ROS have been shown to play a critical role in direct T-regulatory (T_{reg})-mediated suppression of effector $CD4^+$ T-lymphocytes [35]. Thus, depending on the phase of the inflammatory process, ROS, the main producers of which are mitochondria, can either prevent or stimulate the development of autoimmune reactions [32].

The AIR is also important in the coronavirus clearance. Virus-infected cells are eliminated with the participation and cooperative interaction of different types of T cells, including cytotoxic virus-specific T lymphocytes and B cells, which after contact with the antigen are able to differentiate into plasma cells and produce specific antiviral immunoglobulins [69].

It is important to increase the synthesis by IIR and AIR cells of a number of proinflammatory cytokines, especially IL-17, which recruits neutrophils and monocytes from the blood stream into the site infection [92]. This explains the lymphopenia and the significant change in the ratio of neutrophils to lymphocytes that occurs in approximately 80% of patients with SARS-CoV-2 [60].

Virus-induced immune inflammatory process is accompanied with hyperproduction and hyperactivity of ROS, causes the death of both virus-infected body cells and ICCs, which actively migrate into inflammation foci, as well as are involved into antiviral protection [9]. Massive death of ICCs is accompanied by the so-called 'immune starvation' of the tissues, taking into account that the ICCs act as trophocytes [6]. In a whole there is observed

диференціюватися у плазматичні клітини та продукувати специфічні антивірусні імуноглобуліни [75].

Важливим є збільшення синтезу клітинами ВІВ і АІВ низки прозапальних цитокінів, особливо ІЛ-17, який рекрутує з кров'яного русла нейтрофіли і моноцити в сайт інфікування [92]. Цим пояснюються лімфопенія і суттєва зміна співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів, що спостерігається приблизно у 80% пацієнтів із SARS-CoV-2 [66].

Вірус-індукований імунозапальний процес, який супроводжується гіперпродукцією і гіперактивністю АФК, викликає загибель як заражених вірусом клітин організму, так й ІКК, що накопичилися у вогнищі запалення та беруть участь у противірусному захисті [30]. Масова загибель ІКК, супроводжується так званим «імуниим голодуванням» тканин, із урахуванням того, що ІКК можуть виступати як трофоцити [1]. У цілому спостерігається розвиток дисфункціонального стану спеціалізованої тканини імунної системи.

На сьогодні точно не відомо, чи заражає SARS-CoV-2 будь-які імунні клітини, хоча невеликий відсоток моноцитів / макрофагів у легенях експресують ACE-2 і можуть бути потенційною мішенню SARS-CoV-2 [78]. У цьому випадку пряме зараження та руйнування ІКК вірусом також може викликати дисрегуляторний стан імунної системи, отже обтяжувати і пролонгувати перебіг вірусної інфекції. Пролонгація вивільнення в цих умовах прозапальних цитокінів, особливо ФНП- α , індукує розвиток апоптозу і загибель клітин у первинному вогнищі інфекції [30].

Надмірна секреція прозапальних медіаторів (ІФН- α , ІФН- γ , ІФН-1 β , ІЛ-6, ІЛ-12, ІЛ-18, ІЛ-33, ФНП- α , ФНП- β тощо) і хемокинів (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10 тощо), що спостерігається при експансії COVID-19, призводить до розвитку так званого «цитокінового шторму» [56]. Концепція «цитокінового шторму» при розвитку імунозапального процесу була вперше представлена в роботі J.L. Ferrara та співавт. [37] і асоціювалася з порушенням балансу про- і протизапальних медіаторів. У випадку COVID-19 «цитокіновий шторм» асоціюється як із дисбалансом, так й із надпродукцією прозапальних цитокінів, що є причиною виникнення у пацієнтів гострого респіраторного дистрес-синдрому та поліорганної недостатності, які у важких випадках призводять до смерті хворих [56].

Слід зауважити, що у 1997–2002 рр. американським вченим вдалося відтворити генну структуру вірусу грипу («іспанка»), який спалахнув у багатьох країнах в 1918 р. [68]. З тіл помер-

а development of dysfunctional state of the specialized tissue of immune system.

To date it is unknown whether SARS-CoV-2 infects any immune cells, although a small percentage of monocytes / macrophages in the lungs express ACE-2 and may be a potential target of SARS-CoV-2 [73]. In this case, a direct infection and destruction of the ICCs by the virus can also deregulate the immune system state, and therefore aggravate and prolong the course of viral infection. Prolongation of the release of pro-inflammatory cytokines under these conditions, especially TNF- α , induces the development of apoptosis and cell death in the primary focus of infection [9].

Excessive secretion of pro-inflammatory mediators (IFN- α , IFN- γ , IFN-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α , TNF- β , etc.) and chemokines (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10, etc.), which is observed during the expansion of COVID-19, leads to the development of the so-called 'cytokine storm' [47]. The concept of 'cytokine storm' in the development of immune inflammatory process was first introduced by J.L. Ferrara *et al.* [17] and that was associated with imbalance of pro- and anti-inflammatory mediators. In the case of COVID-19, the 'cytokine storm' is associated with both imbalance and cytokine overproduction, which causes patients to develop acute respiratory distress syndrome and multiple organ failure, in severe cases leading to their death [47].

It should be noted that in 1997–2002, American scientists were able to reproduce the genetic structure of the influenza virus, which broke out in many countries in 1918 ('Spanish flu') [62]. Samples of biomaterial were obtained from the bodies of those who died of this epidemic in Alaska laid in permafrost for almost 60 years. In 2007, a group of scientists from Canada, the United States and Japan [37] published the results of experiments in monkeys. It has been shown that monkeys infected with this reproducible virus developed flu symptoms in 1918. Animals died with severe signs of a 'cytokine storm' associated with IIR deregulation. The authors suggested that the predominant deaths of young healthy people during the 1918 pandemic were also the result of the development of hyperactive IIR. These data suggest the need for a more thorough analysis of the age dependence of resistance to SARS-CoV-2 virus. This information also has a 'cryobiological aspect', namely: the resistance of the 'Spanish flue' virus to the effect of sub-zero temperatures is demonstrated, which is also characteristic of the influenza A / Victoria virus (H3N2) [80]. The fact of 'resuscitation' of functional potential of the virus, which has



лих від цієї епідемії на Алясці, які пролежали у вічній мерзлоті майже 60 років, було отримано зразки біоматеріалу. У 2007 р. група вчених із Канади, США та Японії [49] опублікувала результати експериментів на мавпах. Показано, що у мавп, інфікованих цим відтвореним вірусом, розвинулася симптоматика грипу 1918 р. Тварини вмирили з вираженими ознаками «цитокінового шторму», асоційованого з дисрегуляцією ВІВ. Автори припустили, що переважна загибель молодих здорових людей під час пандемії 1918 р. також була наслідком розвитку гіперактивної ВІВ. Ці дані орієнтують на необхідність більш ретельного аналізу стійкості до вірусу SARS-CoV-2 різних вікових категорій населення. Наведена інформація має і «кріобіологічний аспект». Демонструється стійкість вірусу «іспанки» до дії субнулевих температур, що притаманна й вірусу грипу штаму А/Вікторія (H3N2) [21]. «Реанімація» функціонального потенціалу вірусу, який протягом багатьох років перебував у вічній мерзлоті, та наявність «запасів» вірус-вмісного матеріалу в сучасних умовах глобального потепління можуть бути загрозою для навколишнього середовища.

Імунозапальний процес при COVID-19 супроводжується «цитокіновим штормом» і підвищеним формуванням на його тлі АФК. Тривале і неконтрольоване їх продукування призводить до окиснювальної модифікації всіх без винятку білків організму [51]. Так, альдегідні продукти, що формуються в процесі перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), головним чином 4-гідрокси-2-алкенали, можуть викликати модифікацію четвертинної структури власних білків організму з появою «нових» імуногенних епітопів, надаючи їм високоімуногенні характеристики. Це призводить до запуску аутоімунних реакцій в організмі вірусоносія і, як наслідок, до розвитку аутоімунних захворювань (АІЗ) [47]. Іншими словами, існують усі передумови того, що розвиток COVID-19 буде порушувати імунну толерантність та ініціювати аутоімунні процеси.

Було запропоновано кілька механізмів розвитку вірус-індукованих аутоімунних реакцій і хронізації запалення в організмі господаря, навіть після кліренсу вірусу [64]. Одним із них є «епітопне розповсюдження» антигенів («epitope spreading») – процес, після якого вивільнені в результаті пошкодження тканин або модифіковані під дією АФК аутоантигени викликають *de novo* активацію аутореактивних Т-клітин [64]. Цей процес призводить до зриву природної толерантності та розвитку різних форм АІЗ [5]. Подібне «епітопне розповсюдження» спостерігається, напри-

been in permafrost for many years, and the presence of such ‘stocks’ of virus-containing material in today’s global warming can be a threat to the environment.

The immune inflammatory process in COVID-19 is accompanied by a ‘cytokine storm’ and increased formation of ROS on its background. Prolonged and uncontrolled production leads to oxidative modification of all proteins in the body with no exception [42]. Thus, aldehyde products formed in the lipid peroxidation (LPO), mainly 4-hydroxy-2-alkenals, can lead to modification of the quaternary structure of the body’s own proteins with the emergence of ‘new’ immunogenic epitopes, granting them highly immunogenic characteristics. This leads to the initiation of autoimmune responses in the virus carrier body and, as a consequence, to the development of autoimmune diseases (AIDS) [35]. In other words, there are all the prerequisites that the development of COVID-19 will disrupt an immune tolerance and initiate autoimmune processes.

Several mechanisms have been proposed for the development of virus-induced autoimmune reactions and chronic inflammation in the host, even after virus clearance [57]. One of them is epitope spreading, a process in which autoantigens released as a result of tissue damage or modified by ROS cause *de novo* activation of autoreactive T cells [57]. This leads to the disruption of natural tolerance and the development of various forms of AIDs [24]. Such ‘epitope spreading’ is observed, for example, in the tumor cryoablation after cryomodification of tumor antigens, which increases the immunogenic properties of solid tumor cells [25].

The process of ‘epitope spreading’ in COVID-19 expansion can affect various structures of ICCs, including their membrane receptors, which disrupts the ability to cell-to-cell interaction of the latter (cell-to-cell cooperation). This causes a change in the functional activity of the ICCs, complicating the development of the immune system deregulatory state [1].

The initiation and implementation of immune responses against the body’s own proteins in the active phase of viral infection can be enhanced by molecular mimicry, *i. e.* the existing homology of antigenic determinants of viruses with host proteins. It has been shown that only one immunogenic epitope of SARS-CoV-2 has no structural similarity to human proteins [50]. Other epitopes may develop a ‘cross’ immune response in the form of autoimmune ones, which target the structures of the host organism. This may explain the extremely severe complications in some organs and



лад, за кріоаблації новоутворень після кріомодифікації пухлинних антигенів, яка підвищує імунотенні властивості клітин солідних пухлин [6].

Процес «епітопного розповсюдження» в умовах експансії COVID-19 може стосуватися різних структур ІКК, включаючи їх мембранні рецептори. Це порушує здатність до міжклітинної взаємодії останніх (cell-to-cell cooperation) і обумовлює зміну функціональної активності ІКК, обтяжуючи розвиток дисрегуляторного стану імунної системи [23].

Запуск і реалізація імунних реакцій проти власних білків організму в активній фазі вірусної інфекції можуть бути посилені й за рахунок молекулярної мімікрії – наявної гомології антигенних детермінант вірусів із білками господаря. Показано, що тільки один імунотенний епітоп SARS-CoV-2 не має структурної схожості з білками людини [57]. На інші епітопи може розвиватися «перехресна» імунна відповідь у вигляді аутоімунних реакцій, мішенями яких стають і структури організму господаря. Цим пояснюються вкрай серйозні ускладнення в деяких органах і тканинах при COVID-19, що викликає сумнів стосовно «безпеки» вакцин, які розроблюються.

Таким чином, роль SARS-CoV-2 як тригера запуску в організмі вірусоносія аутоімунного процесу безперечна. Даний факт визначає необхідність включення в загальний перелік лікувальних заходів, спрямованих на мінімізацію такого виду вірусної інфекції, патогенетично обґрунтованих підходів і препаратів, які передбачають лікування АІЗ.

На даний час не існує вакцини або специфічних лікувальних засобів проти SARS-CoV-2. Пропонується застосування препаратів прямої противірусної дії з метою зниження вірусного навантаження на організм на ранніх стадіях захворювання: «Ремдесівір» («Gilead Sciences, США») – аналог нуклеотидів вірусної РНК; «Ритонавір/Лопінавір» («Cipla», Індія) – інгібітори протеаз, що перешкоджають проникненню вірусу в клітини господаря; моноклональні антитіла – нейтралізують білки капсиду вірусу тощо [90]. Противірусні засоби неспецифічного (широкого) спектра дії (рекомбінантні ІФН типу I – «Віферон» («Ферон», Росія), «Лаферон» («НВК Інтерфармбіотек», Україна); індуктори інтерферонів – «Аміксин» («ІнтерХім», Україна), «Амізон» («Фармак», Україна) сприяють посиленню вроджених імунних реакцій, тим самим обмежують реплікацію вірусу. Антагоністичні моноклональні антитіла, інгібуючі ІЛ-1 – «Анакінра» («Swedish Orphan Biovitrum AB/Am-

tissues in COVID-19, which casts doubt on the 'safety' of the vaccines being developed.

Thus, the role of SARS-CoV-2 as a trigger in the virus carrier body of the autoimmune process is indisputable. This fact determines the need to add to the general list of therapeutic measures aimed at minimizing this type of viral infection, the pathogenetically sound approaches and drugs that provide treatment for AIDs.

There is currently no vaccine or specific antiviral drug against SARS-CoV-2. It is proposed to use drugs with direct antiviral action to reduce the viral load on the body at the early stages of the disease: Remdesivir (Gilead Sciences, USA) – 'analogue' of nucleotides of viral RNA; Ritonavir / Lopinavir (Cipla, India) – protease inhibitors that prevent the penetration of the virus into host cells; monoclonal antibodies – neutralize the capsid proteins of the virus, etc. [90]. Antiviral drugs of nonspecific (broad) spectrum of action (recombinant IFN type I – Viferon (Feron, Russia), Laferon (NVK Interpharmbiotek, Ukraine); inducers of interferons Amiksin (InterChem, Ukraine), Amizon (Farmak, Ukraine) enhances innate immune responses, thereby limiting virus replication. Antagonistic monoclonal antibodies that inhibit IL-1: Anakinra (Swedish Orphan Biovitrum AB / Amgen, Sweden), Arkalist / Rilonecept (Regeneron Pharmaceuticals, USA), IL-6: Tocilizumab, (Chugai Pharma Manufacturing Co. Ltd, Japan); Sarilumab (Sanofi-Aventis, France) and IFN- γ : Emapalumab (Novimmune, Switzerland) may be recommended for the treatment of extensive pneumonia in COVID-19 as a consequence of a 'cytokine storm' [85].

An alternative treatment strategy for COVID-19 is the use of convalescent plasma containing high-affinity antiviral antibodies [96]. The titer of neutralizing antibodies is known to be sufficient only in donors who have recently become ill, which makes promising the use of genetically engineered drugs with a higher proportion of neutralizing antibodies [96]. However, this method of treatment can lead to the development of the syndrome of antibody-dependent infection enhancement (ADIE) in patients [74]. Thus, for β -coronaviruses, the possible cause of ADIE may be the above-mentioned structural-conformational instability of the protein S due to the variability of its amino acid composition and / or metastable state. Antibodies produced to the virus antigens in a vaccine with certain antigenic (immunogenic) epitopes of protein S may lose the neutralizing property during infection of the patient with the virus with the modified protein. As a result, the 'antibody-virus' complex can provoke an enhancement of the



gen», Швеція), «Аркаліст» / «Рілонацепт» («Regeneron Pharmaceuticals», США); ІЛ-6 – «Тоцілізумаб», («Chugai Pharma Manufacturing Co. Ltd», Японія), «Сарілумаб» («SanofiAventis», Франція) і ІФН- γ – «Емапалумаб» («Novimmune», Швейцарія) можуть бути рекомендовані для лікування обширних пневмоній при COVID-19 як наслідків «цитокінового шторму» [85].

До альтернативних методів лікування COVID-19 належить застосування плазми реконвалесцентів, яка містить високоафінні противірусні антитіла [96]. Відомо, що титр нейтралізуючих антитіл є достатнім лише у донорів, які недавно перенесли хворобу. Цим обумовлена перспективність застосування генно-інженерних препаратів із більш високою часткою нейтралізуючих антитіл [96]. Однак цей метод лікування може призвести до розвитку у хворих синдрому антитілозалежного посилення інфекції (АЗП) [79]. Так, для β -коронавірусів можливою причиною АЗП може бути вищезгадана структурно-конформаційна нестабільність S-білка за рахунок варіабельності його амінокислотного складу та/або метастабільного стану. Антитіла, вироблені на вакцинний варіант вірусу з одними антигенними (імуногенними) детермінантами S-білка, можуть втратити здатність до нейтралізації вірусу із видозміненим білком при інфікуванні пацієнта. У результаті комплекс «антитіло–вірус» може спровокувати посилення інфекційного процесу, допомагаючи вірусу проникнути в моноцити або макрофаги господаря [54].

Останнім часом зростає кількість клінічних досліджень щодо застосування препаратів клітинної терапії для лікування COVID-19. Так, станом на червень 2020 р. за даними Національної медичної бібліотеки США налічується понад 80 подібних клінічних проєктів, які здебільшого зорієнтовані на використання мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) різного походження, переважно з кордової крові (КК) людини. У деяких проєктах передбачається застосування мононуклеарних клітин КК, цитотоксичних Т-клітин, дендритних клітин (ДК), природних кілерів (ПК) та мультипотентних попередників КК [46].

Особливістю МСК є потенційна можливість їх трансформації у гетерогенні клітини різних органів, так звана «пластичність». Унікальна імуносупресорна активність МСК реалізується шляхом гальмування дозрівання ДК за допомогою секреції низки імуносупресорних медіаторів – трансформуючого ростового фактора- β (ТРФ- β), гепатоцитарного фактора росту, простагландину E2, стимуляції диференціювання T_{per}

infectious process, helping the virus to penetrate the monocytes or macrophages of the host [45].

Recently, the number of clinical trials on the use of cell therapy drugs for the treatment of COVID-19 is growing. Thus, as of June 2020, according to the US National Library of Medicine, there are more than 80 such clinical trials, mostly focused on the use of mesenchymal stem cells (MSCs) of various origins, mainly derived from human cord blood (CB). Some of these trials involve the use of CB mononuclear cells, cytotoxic T cells, dendritic cells (DCs), natural killers (NKs) and multipotent CB precursors [34].

The MSCs feature is the potential for their transformation into heterogeneous cells of different organs, the so-called ‘plasticity’. Unique is the immune suppressive activity of MSCs, which is implemented by inhibiting the maturation of DC through the secretion of a number of immune suppressive mediators, *i. e.* transforming growth factor- β (TGF- β), hepatocyte growth factor, prostaglandin E2, stimulations of T_{reg} differentiation by IDO-dependent mechanism, inhibition of cytotoxic functions of NKs, T-lymphocytes ($CD4^+$ and $CD8^+$), tissue macrophages [61]. Such properties of MSCs and the presence of an autoimmune component in the pathogenesis of COVID-19 focus on the use of cell therapy drugs, containing the MSCs as an activator of the immunosuppressive vector. Indeed, the experiments on AIDs therapy has shown successful suppression of effector T cells and activation of T_{reg} after the use of fetoplacental complex products (fetal liver, placental cell suspensions) containing MSCs [22].

The ability of MSCs to secrete antimicrobial peptides (cathelicidin LL-37, beta-defensin, lipocalin 2 and hepcidin) allows their use when treating the infectious diseases [15]. The MSC therapy is likely be able both prevention of the immune system hyperactivation in the form of a ‘cytokine storm’ through immunosuppressive ‘levers’ and promotion to recover the impaired body tissues due to the reparative properties of MSCs. Thus, after intravenous administration, most MSCs are deposited in the lungs [3]. Such the MSC homing is often considered as a restriction of their use during intravenous infusion. In COVID-19 this is an advantage of this type of administration.

To date, the issue of MSC homing (engraftment or rejection) by intravenous administration to the recipient remains open [14, 54]. E. Eggenhofer *et al.* believe [14], that the infused MSCs are short-life and do not leave the lung [14], and L.A. Marquez-Curtis *et al.* [54] report that

за IDO-залежним механізмом, інгібіції цитотоксичних функцій ПК, Т-лімфоцитів ($CD4^+$ і $CD8^+$), тканинних макрофагів [67]. Такі властивості МСК і присутність аутоімунної компоненти в патогенезі COVID-19 орієнтує на використання препаратів клітинної терапії, які містять МСК у якості активатора імуносупресорного вектора імунної системи. Дійсно, в експериментальних роботах із терапії АІЗ було показано успішну супресію ефекторних Т-клітин і активацію T_{reg} після застосування продуктів фетоплацентарного комплексу (фетальної печінки, суспензії клітин плаценти), що містять МСК [3].

Здатність МСК до секреції антимікробних пептидів (кателіцидину LL-37, бета-дефенсину, ліпокаліну 2 і гепсидину) дозволяє застосовувати їх для лікування інфекційних процесів [35]. Ймовірно, що терапія з використанням МСК може як запобігати гіперактивації імунної системи у вигляді «цитокінового шторму» через імуносупресивні «важелі», так і сприяти відновленню пошкоджених тканин організму за рахунок репаративних властивостей МСК. Так, після внутрішньовенного введення більша частина МСК осідає у легенях [25]. Такий хоумінг МСК часто розглядається як обмеження їх застосування для внутрішньовенної інфузії. За COVID-19 це є перевагою цього методу введення.

До теперішнього часу питання хоумінга МСК (приживлення або відторгнення) при внутрішньовенному введенні в організм реципієнта залишається відкритим [34, 61]. На думку E. Eggenhofer та співавт. [34], МСК, які вводяться шляхом інфузії, недовговічні та не покидають межі легень [34], а L.A. Marquez-Curtis та співавт. [61] вважають, що МСК мігрують у місця пошкодження і запалення у відповідь на такі розчинні медіатори, як хемокіновий фактор SDF-1 (Stromal cell-derived factor-1, SDF-1). При цьому розселення будь-яким шляхом введених МСК (як і інших стовбурових клітин) істотно залежить від вихідного стану організму реципієнта. Запальне мікрооточення відіграє вирішальну роль у набуванні МСК імунорегуляторної активності [63]. Показано, що підвищений рівень ІФН- γ , особливо в поєднанні зі збільшенням вмісту ФНП- α , є необхідною умовою активації імуносупресорної активності МСК. Однак на тлі спотвореного цитокінового профілю вплив ІФН- γ на МСК є непередбачуваним. Цитокіновий профіль організму вірусоносія SARS-CoV-2 динамічно змінюється протягом перебігу інфекційної хвороби, тому час введення МСК реципієнту може визначати їх ефективність. Саме з недостатнім рівнем ІФН- γ в організмі вірусоносіїв на почат-

MSCs migrate to the sites of damage and inflammation in response to soluble mediators such as chemokine factor SDF-1 (Stromal cell-derived factor-1, SDF-1). In this case, the settlement of the MSCs introduced by any way (as well as other stem cells) significantly depends on the recipient's body initial state. Inflammatory microenvironment plays a crucial role in the acquisition of MSC immune regulatory activity [56]. Elevated levels of IFN- γ , especially in combination with an increased content of TNF- α , have been shown as necessary conditions for the activation of the immune suppressive activity of MSCs. However, on the background of a distorted cytokine profile, the effect of IFN- γ on MSCs is unpredictable. The cytokine profile of the body carrying the virus SARS-CoV-2 changes dynamically during the course of infectious disease, so the time of MSCs administration to the recipient can determine their effectiveness. Insufficient levels of IFN- γ in the body of viral carriers at the initial stage of the disease are associated with unsatisfactory results of intravenous administration of MSCs of bone marrow origin when treating acute influenza infection in mice [10]. In this case, the MSCs act as antigen-presenting cells, without exhibiting their inherent immune suppressive properties.

Under physiological conditions, MSCs express a small number of molecules of the major histocompatibility complex of class I (MHC I) and are not able to express molecules of MHC class II (MHC II), that indicates their low immunogenicity. However, increasing the level of IFN- γ can stimulate the expression of MHC II on MSCs membrane, leading to their rejection [2]. Another limiting factor when using the MSCs during COVID-19 expansion is the high probability of their entry into apoptosis due to the ROS action [87] and if pro-inflammatory cytokines TNF- α and IFN- γ are hyperconcentrated, especially during the 'cytokine storm'.

In addition, MSCs can be a 'reservoir' of many viruses, which can lead to a risk of viral transmission in recipients. M. Thanunchai *et al.* [75] found *in vitro* the sensitivity of MSCs to highly pathogenic avian influenza viruses, that led to the loss of immune regulatory activity by cells. However, Z. Leng *et al.* [44] refute the idea of the possible infection of MSCs with SARS-CoV-2 virus, because they do not express ACE-2 and TMPRSS2 receptors. However, the ability of IFN type I to stimulate the development of ACE-2 receptors on airway epithelial cells [97] does not preclude the possibility of initiating its expression on the introduced MSCs under



ковому етапі захворювання пов'язують незадовільні результати внутрішньовенного введення МСК кістковомозкового походження під час лікування гострої інфекції грипу у мишей [31]. У цьому випадку МСК виступають у якості антигенпрезентуючих клітин, не проявляючи притаманних їм імуносупресорних властивостей.

У фізіологічних умовах МСК експресують незначну кількість молекул головного комплексу гістосумісності класу I (ГКГ I) і не здатні до експресії молекул ГКГ класу II (ГКГ II), що свідчить про їхню низьку імуногенність. Однак підвищення рівня ІФН- γ може стимулювати експресію ГКГ II на МСК, призводячи до їхнього відторгнення [24]. Ще одним обмежувальним чинником застосування МСК в умовах експансії COVID-19 є висока ймовірність їх входження в апоптоз за рахунок дії АФК [87] і за умов гіперконцентрації прозапальних цитокінів ФНП- α і ІФН- γ , особливо в період «цитокінового шторму».

Крім того, МСК можуть бути «резервуаром» багатьох вірусів, що призводить до ризику вірусної трансмісії у реципієнтів. В умовах *in vitro* M. Thanunchai та співавт. [80] виявили чутливість МСК до високопатогенних вірусів пташиного грипу, внаслідок чого клітини втрачають імунорегуляторну активність. Однак Z. Leng та співавт. [53] спростовують думку про можливість інфікування МСК вірусом SARS-CoV-2, оскільки на МСК відсутня експресія рецепторів ACE-2 і TMPRSS2. Тим не менш, здатність ІФН типу I стимулювати напрацювання рецепторів ACE-2 на епітеліальних клітинах дихальних шляхів [97] не виключає можливості ініціації його експресії на введених МСК в умовах «цитокінового шторму» при підвищенні рівня інтерферону.

У березні 2020 р. компанія «Cellenkos» (США) почала клінічні випробування щодо застосування виділених із КК регуляторних T_{reg} для коригування гострого респіраторного дистрес-синдрому у пацієнтів із важкою формою COVID-19, оскільки було отримано дані про виснаження $Foxp3^+$ T_{reg} при тяжкому перебігу коронавірусної інфекції [66]. Відомо, що ці клітини відіграють основну роль у негативній регуляції надмірної ефекторної функції широкого спектра імунних клітин при АІЗ [3, 71]. Зниження вмісту (цілком ймовірно і функції) T_{reg} при АІЗ і COVID-19 ще раз підтверджує участь аутоімунних реакцій в агравації клінічних проявів COVID-19 і обґрунтовує введення екзогенних T_{reg} як одного з методів імунокоригування при коронавірусній інфекції.

Важливим маркером T_{reg} є CD25-молекула, лігандом для якої виступає ІЛ-2. Супресорна активність T_{reg} знаходиться в прямій залежності

conditions of 'cytokine storm' when interferon levels increase.

In March 2020, the Cellenkos Inc. (USA) started clinical trials of using the CB-derived regulatory T_{reg} to correct acute respiratory distress syndrome in patients with severe COVID-19, as the data on the depletion of $Foxp3^+$ T_{reg} in severe coronavirus infection were obtained [60]. These cells are known to play a major role in negative regulation of excessive effector function of a wide range of immune cells in AIDs [22, 65]. Reduced content (and likely function) of T_{reg} in AIDs and COVID-19 once again confirms the contribution of autoimmune responses in aggravation of COVID-19 clinical manifestations and justifies the introduction of exogenous T_{reg} as one of the methods of immune correction in coronavirus infection.

An important marker of T_{reg} is the CD25 molecule, the ligand of which is IL-2. The suppressive activity of T_{reg} is directly dependent on the level of IL-2 in a body, which determines the expression rate of Foxp3 protein, promoting the production of anti-inflammatory cytokines (IL-10, TRF- β) in contrast to inflammatory mediators [65]. Quantitative content of T_{reg} with the phenotype of $CD4^+$ $CD25^{high}$ and $Foxp3^+$ cells in CC is higher than in human peripheral blood [43]. H. Fan *et al.* [16] reported about a pronounced immune suppressive activity of CB T_{reg} , which prevented the development of the graft-versus-host disease (GVHD). After CB cryopreservation there is a rise in the level of expression on T_{reg} cell membranes of the CD25 molecule [49]. This is of a particular interest if the cryopreserved CB is used for the treatment of pathologies of viral etiology, in the pathogenesis of those there are the 'cytokine storm' phenomena with increasing levels of IL-2. In particular, there was an increased content of T_{reg} in the spleen of animals with genital herpes after the introduction of cryopreserved CB [71].

No less important from the point of view of an antiviral activity implementing is cord blood plasma, which contains, in particular, cathelicidins (LL37), *i. e.* natural antimicrobial peptides of the system of the respiratory tract non-specific protection [52]. The mechanism of their antiviral action is assumed to be implemented via a direct destruction of the protein shell of viruses or activation of signaling cascades (via TLR), which leads to the IIR modulation [67]. CB plasma also contains protein fractions, the molecular weight of those corresponds to that of properdin, interferons and γ -globulins, which are character-



від рівня ІЛ-2 в організмі, що визначає рівень експресії білка Foxp3, який сприяє продукції протизапальних цитокінів (ІЛ-10, ТРФ- β) на противагу до медіаторів запалення [71]. Кількісний вміст T_{per} із фенотипом $CD4^+CD25^{high}$ і Foxp3⁺-клітин у КК є вищим, ніж у периферичній крові людини [52]. У роботі Н. Fan та співавт. [36] показано виражену імуносупресорну активність T_{per} КК, яка запобігає розвитку реакції «трансплантат проти хазяїна» (РТПХ). Після кріоконсервування КК спостерігається підвищення рівня експресії на T_{per} клітинах CD25-молекули [15]. Це представляє особливий інтерес за умов використання кріоконсервованої КК для лікування патологій вірусної етіології, в патогенезі яких присутні явища «цитокінового шторму» з підвищенням рівня ІЛ-2. Зокрема, відзначено збільшення вмісту T_{per} у селезінці тварин із генітальним герпесом після введення кріоконсервованої КК [17].

Не менш значущою з точки зору реалізації противірусної активності є плазма кордової крові, що містить, зокрема, кателіцидини (LL37) – природні антимікробні пептиди системи неспецифічного захисту респіраторного тракту [59]. Передбачається, що механізм їх противірусної дії може реалізуватися шляхом безпосереднього руйнування протеїнової оболонки вірусів або активації каскадів сигналювання (через TLR), що призводить до модуляції ВІВ [73]. У плазмі КК також присутні білкові фракції, молекулярна маса яких відповідає молекулярній масі пропердину, інтерферонів і γ -глобулінів, яким властива віруснейтралізуюча активність [13, 18]. R.F. Foronjy та співавт. [38] звернули увагу на можливість реалізації противірусної активності плазми КК за рахунок присутності в ній лейкоїд-інгібуючого фактора (leukemia inhibitory factor, LIF), також здатного стабілізувати «цитокіновий шторм» при важких пневмоніях.

Таким чином, КК є багатокомпонентною системою, яка містить гемопоетичні, мезенхімальні стовбурові та диференційовані клітини (T_{per}) разом із білковими складовими плазми, що зумовлює її імунотропні та імунокоригуючі властивості. В експериментальних дослідженнях було показано ефективність застосування КК і її складових для лікування широкого спектра захворювань, зокрема вірусних [8, 11, 17, 19].

Кріоконсервування є обов'язковим складовим компонентом низькотемпературного зберігання та застосування препаратів клітинної терапії у клінічній практиці [9]. ІПКіК НАН України – унікальна установа, яка володіє значним досвідом розробки технологій кріоконсервування таких пре-

ризованих вірус-нейтралізуючою активністю [41, 78]. R.F. Foronjy *et al.* [18] звернули увагу на можливість реалізації активності CB плазми завдяки присутності лейкоїдінгібуючого фактора (LIF), який також здатний мінімізувати тяжкість «цитокінового шторму» при важкій пневмонії.

Таким чином, CB представляє багатокомпонентну систему, яка містить гемопоетичні, мезенхімальні стовбурові та диференційовані клітини (T_{reg}) разом із білковими складовими плазми, що визначає її імунотропні та імунокоригуючі властивості. Експериментальні дослідження показали ефективність CB та його складових для лікування широкого спектра захворювань, включаючи вірусні [28, 39, 71, 82].

Кріоконсервування є обов'язковою стадією низькотемпературного зберігання та використання клітинної терапії в клінічній практиці [29]. ІПКіК НАН України є унікальною установою, яка може зробити значний внесок у розвиток таких досліджень. Ефективність кріоконсервування вірусних ізолятів з визначеними біологічними характеристиками для нових методів тестування, розробки вакцин та більш складних *in vitro* досліджень COVID-19 дійсно є центральним елементом у розробці нових клітинних терапій, які можна зберігати для широкого застосування в клінічній практиці по всьому світу, зокрема з метою мінімізації кількості вільного вірусу та модуляції імунної відповіді. Дослідження властивостей людської CB після кріоконсервування було розпочато співробітниками відділу кріоімунології ІПКіК НАН України під керівництвом проф. А.О. Тсуксєєвої [79]. Під час цього періоду були проведені дослідження з метою підтвердження ефективності превентивного застосування кріоконсервованої людської кордової крові лейкоконцентрату (cHCBL) для профілактики грипу (штам А / Вікторія (H3N2)). Інтраназальний шлях застосування cHCBL було запропоновано [81], перевагами якого є неінвазивність та можливість локальних та системних ефектів на імунну систему.

Ефективність антивірусної захисту фактично залежить від методу застосування препаратів, включаючи cHCBL. Слизисті оболонки NALT (рот, ніс) є основними рецепторами коронавірусів. Структурна організація кожного NALT-уніта передбачає міжклітинну взаємодію T- та B-лімфоцитів та клітин, які презентують антигени [72]. Це обмежує поширення вірусу та виконує найважливішу функцію імунної модуляції, *т. є.* стимулює фагоцитичну активність макрофагів та функцію



паратів для широкого використання у світовій клінічній практиці. Розробка нових методів клітинної терапії із застосуванням кріоконсервованих препаратів є основним напрямком діяльності інституту. Потужні можливості кріобіології забезпечують біобанкування ізолятів вірусів із певними біологічними характеристиками, що необхідно для розробки нових методів тестування, створення вакцин та проведення більш досконалих досліджень щодо методів лікування COVID-19, спрямованих на мінімізацію кількості вільного вірусу і модуляцію ВІВ.

Вивчення властивостей кріоконсервованої КК людини було розпочато співробітниками відділу кріоімунології ІПКіК НАН України під керівництвом проф. А.О. Цуцаєвої [20]. У цей період також проводилися дослідження з метою обґрунтування ефективності превентивного введення кріоконсервованого лейкоконцентрату кордової крові людини (кЛККЛ) для профілактики грипу (штам А / Вікторія (H3N2)). Було запропоновано інтраназальний спосіб введення кЛККЛ [22], перевагами якого є неінвазивність і можливість як місцевого, так і системного впливу на імунну систему.

Дійсно, ефективність противірусного захисту може залежати від способу введення лікувальних препаратів, зокрема і кЛККЛ. Слизові оболонки NALT (рот, ніс) є основними акцепторами коронавірусів. Структурна організація кожної одиниці NALT реалізує міжклітинну кооперацію Т- і В-лімфоцитів і антигенпрезентуючих клітин [77]. Саме вона обмежує поширення вірусу і виконує найважливішу імуномодулюючу функцію – стимулює фагоцитарну активність макрофагів і функцію ПК-клітин відносно інфікованих клітин господаря. Присутні в NALT мікроскладчасті клітини (М-клітини) здатні передавати в лімфоїдну тканину будь-які види антигенів без їхньої деградації. Інтенсивний обмін ІКК між лімфоїдними структурами, які локалізуються в різних ділянках слизових оболонок, дає можливість розвивати інтеграційну багатопрофільну імунну відповідь на вірусну інфекцію, зокрема SARS-CoV-2.

Інтраназальна вакцинація може стимулювати як локальну (в місці контакту слизової оболонки з інфекцією), так і системну імунну реакцію організму, у вигляді утворення антитіл, активації вродженої та адаптивної імунної відповіді із залученням антиген-специфічних Т- і В-клітин пам'яті. Ці клітини здатні ефективно реагувати на вторгнення патогенів із подальшою активацією ефекторних реакцій [94]. Н. Yusuf та співавт. [94] зазначають, що інтраназальна

NK cells relative to infected host cells. Present in NALT microfolded cells (M-cells) are able to transmit any type of antigen without their degradation to lymphoid tissue. Intensive exchange by ICCs between lymphoid structures, which are localized in different parts of the mucous membranes, makes it possible to develop an integrative versatile immune response to viral infection, in particular SARS-CoV-2.

Intranasal vaccination can stimulate both local (at the site of mucosal contact with infection) and systemic immune response, which includes the formation of antibodies, activation of innate and adaptive immune response involving antigen-specific T and B memory cells. These cells are able to respond effectively to pathogen invasion with subsequent activation of effector responses [94]. Н. Yusuf *et al.* [94] note that intranasal vaccination induces the development of cross-protection against variant strains (*e. g.*, influenza virus), which can be used to develop so-called 'universal vaccines'.

In this regard, the application of CB namely to the mucous membrane of NALT-structures may be quite justified. Thus, when using the CB at the early stages of clinically non-manifested infectious process, amplification of local antiviral immunity may occur due to the ICCs contained in the CB. As well it can increase the resistance of the immune system to the virus if used preventively.

On the basis of actually preclinical studies to prove the effectiveness of preventive administration of cHCBL, a combined immune biological product of cryopreserved cord blood 'Cryocell-Hemocord' (IPC&C of the NAS of Ukraine) was created. Cryocell-Hemocord was derived from the whole human CB as non-fractionated cHCBL, which composes CB nucleated cells and plasma. In these respects, particular attention is paid to cord blood, the cryopreserved one as well. The mechanisms of action of the 'Cryocell-Hemocord' were studied and its immune modulatory activity was established, that leads to the synthesis of antiviral antibodies by B cells and reduced virus replication [58].

Studies of the mechanism of implementation of antiviral activity of all components of 'Cryocell-Hemocord' have been continued at the Department of Cryopathophysiology and Immunology of the IPC&C of the NAS of Ukraine. Intranasal administration of cHCBL to healthy animals as a vaccine has been shown to significantly increase the functional status of CD11b⁺ alveolar macrophages, and this effect persisted for six months [40]. Such an activity was most



вакцинація індукує розвиток перехресного захисту проти варіантних штамів (наприклад, вірусу грипу), що може бути використано для розробки так званих «універсальних вакцин».

У зв'язку з цим цілком обґрунтованою може бути аплікація КК саме на слизову NALT-структур. Так, після застосування КК на ранніх етапах клінічно не проявленого інфекційного процесу може відбуватися ампліфікація локального противірусного імунітету за рахунок ІКК, що містяться в КК. Також КК може підвищувати стійкість імунної системи до вірусу за умов превентивного застосування.

На підставі фактично доклінічних робіт із доведення ефективності превентивного введення кЛККЛ було створено комплексний імунобіологічний препарат кріоконсервованої кордової крові «Кріоцелл-Гемокорд» (ІПКіК НАН України). У цьому відношенні особлива увага приділяється пуповинній крові, особливо кріоконсервованій. «Кріоцелл-Гемокорд» отримували з цільної КК людини у вигляді нефракціонованого кЛККЛ, до складу якого входять ядромісні клітини КК та плазма. Було вивчено механізми дії препарату «Кріоцелл-Гемокорд» і встановлено його імуномодуючу активність, яка приводить до синтезу В-клітинами противірусних антитіл і зниження реплікації вірусу [16].

Дослідження механізму реалізації противірусної активності усіх складових «Кріоцелл-Гемокорду» були продовжені в відділі кріопатофізіології та імунології ІПКіК НАН України. Показано, що інтраназальне введення кЛККЛ здоровим тваринам у якості вакцини значно підвищувало функціональний стан CD11b⁺ альвеолярних макрофагів, і цей ефект зберігався протягом півроку [12]. Така активність найбільше була притаманна нефракціонованому кЛККЛ порівняно з окремим введенням тільки ядерних клітин КК або тільки плазми, що свідчить про ампліфікуючий ефект кожного з зазначених компонентів відносно одне одного [13].

Превентивне застосування нефракціонованого кЛККЛ мишам, інфікованим грипом (штам А / Вікторія (H3N2), забезпечувало високу виживаність тварин (близько 80%) у порівнянні зі 100%-ю летальністю тварин-вірусоносіїв. Механізми реалізації противірусного ефекту кЛККЛ можуть бути багатовекторними. У наших роботах [12, 13] встановлено, що превентивне інтраназальне введення тільки ядерних клітин КК більшою мірою стимулювало у тварин-вірусоносіїв активність протизапальних макрофагів фенотипу M2 (CD16/32⁺CD210⁺-клітин), які мають вирішальне значення для обмеження пош-

characteristic of non-fractionated cHCBL compared with the individual use of just nucleated cells either of CB or only plasma, emphasizing the amplifying effect of each of these components in respect of each other [41].

Preventive use of non-fractionated cHCBL in mice infected with influenza (strain A / Victoria (H3N2) ensured high survival of animals (about 80%) compared with 100% mortality of virus-carrying animals [40,41], it was found that preventive intranasal administration of only nuclear CB cells to greatly stimulated the activity of anti-inflammatory macrophages of the M2 phenotype (CD16/32⁺ CD210⁺ cells) in virus-carrying animals, which were crucial for limiting the damages. Interestingly, in infected mice, which were preventively administered only with cord blood plasma, there was an increase in the content of INF- γ in the serum, creating the conditions for the activation of the function of NK cells. However, the maximum therapeutic effect was observed in all animals with pre-administration of non-fractionated cHCL, which might be associated with the implementation of mechanisms of combined antiviral protection.

The success of preventive therapy of viral infections may be based on epigenetic changes in innate immune cells, *i. e.* monocytes, macrophages, NK cells, caused by stimulation by non-infectious agents. P. Rusek *et al.* [64] believe that this is due to a recently discovered phenomenon of 'trained innate immunity'. A. Miller *et al.* [55] suppose that such a 'training' of immunity provides a lower mortality rate from COVID-19 in countries, where the population was massively vaccinated with BCG (bacille calmette-guerin, BCG). The BCG vaccine has been shown to be able of forming the heterologous and 'trained' immunity, stimulating and antiviral protection. Thus, R.J.W. Arts *et al.* [5] showed that after BCG vaccination, humans developed an increased resistance to yellow fever. This fact is associated with the modification of histones and epigenetic reprogramming of monocytes in the promoter sites of genes encoding inflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α and IL-6) under the influence of previous BCG vaccination and, as a consequence, more active IIR after re-stimulation. Despite the lack of a clear evidence for the effectiveness of BCG vaccination in protecting against COVID-19, clinical trials are currently underway to determine the ability of BCG vaccination to develop immunity to SARS-CoV-2 [70].

The effectiveness of preventive intranasal administration of CB products indicates the possibility of epigenetic and functional reprogram-



коджень, викликаних запальними реакціями. Цікаво, що у інфікованих мишей, яким превентивно вводили тільки плазму КК, було відмічено підвищення вмісту ІНФ- γ в сироватці, що створює умови для активації функції ПК-клітин. Однак максимальний терапевтичний ефект за всіма показниками був відзначений у тварин із попереднім введенням нефракціонованого кЛККЛ, що може бути пов'язано з реалізацією механізмів комплексного противірусного захисту.

Основою успіху превентивної терапії вірусних інфекцій можуть бути епігенетичні зміни в клітинах вродженого імунітету (моноцитах, макрофагах, ПК-клітинах) викликані стимуляцією неінфекційними агентами. На думку Р. Русек та співавт. [70], це пов'язано з нещодавно виявленим феноменом – «тренованим вродженим імунітетом». А. Міллер та співавт. [62] вважають, що така «тренованість» імунітету забезпечує нижчий рівень смертності від COVID-19 у країнах, у яких проводили масову BCG-вакцинацію (bacille Calmette–Guerin, BCG). Було показано, що вакцина BCG здатна формувати гетерологічний і «тренований» імунітет, стимулюючи і противірусний захист. Так, у роботі R.J.W. Arts та співавт. [27] показано, що після BCG-вакцинації в організмі людини розвивалася підвищена стійкість до жовтої лихоманки. Даний факт пов'язують із модифікацією гістонів і епігенетичним репрограмуванням моноцитів у промоторних сайтах генів, які кодують прозапальні цитокіни (ІЛ-1 β , ФНП- α і ІЛ-6) під дією попередньої BCG-вакцинації і, як наслідок, більш активній ВІВ після рестимуляції. Незважаючи на відсутність чітких доказів ефективності BCG-вакцинацій у захисті від COVID-19, сьогодні все ж проводяться клінічні випробування з визначення спроможності BCG-вакцинації формувати імунітет до SARS-CoV-2 [76].

Ефективність превентивного інтраназального введення препаратів КК свідчить про можливість епігенетичного та функціонального перепрограмування генів, які забезпечують реалізацію імунних відповідей організму, що призводить до індукції «тренованого» імунітету. Ця пам'ять може індукуватися в гематопоетичній ніші й поширюватися на дочірні клітини, генеруючи продукцію епігенетично та метаболічно перепрограмованих клітин вродженого імунітету, які будуть мати підвищену здатність до мінімізації запалення. Отже, в умовах експансії COVID-19 актуальним стає завдання попередньої підготовки і створення плацдарму не тільки специфічної, але і неспецифічної стійкості імунної системи до цієї вірусної інфекції.

ming of genes that ensure the implementation of immune responses of the body, which leads to the induction of 'trained' immunity. This memory can be induced in the hematopoietic niche and spread to daughter cells, generating products of epigenetically and metabolically reprogrammed innate immune cells that will have an increased ability to minimize an inflammation. Therefore, in COVID-19 expansion the task of preliminary preparing and creating the base of not only specific, but also nonspecific resistance of immune system to this viral infection, becomes actual.

The autoimmune component in the pathogenesis of COVID-19 has been repeatedly mentioned above. Therefore, there is a need to use drugs with immune suppressive activity, including cell therapy, to minimize the manifestations of AIDs during the COVID-19 development. Cryopreservation has been proven not only to ensure the preservation of the original state of the samples, but also is able to control their functional potential.

An important role in controlling the development of autoimmune reactions is played by the mentioned above T_{reg} , which immunosuppressive activity is controlled by the production of the enzyme indolamine 2,3-dioxygenase (IDO) and, accordingly, the expression level of the same-name *ido* gene [65]. It was found that after certain regimens of cryopreservation in fetal liver cells there was revealed a significant increase in the level of the *ido* gene expression compared to native cells, that provided them more pronounced immune corrective properties [27]. Enhancement of the therapeutic potential of fetal liver cells after cryopreservation was confirmed by minimization of developing local GVHD, in which the introduction of these cells led to increased levels of *tgf- β* gene expression in the lymph nodes of recipients [26]. Moreover, the *ido* gene expression level depends on the freezing modes used [48]. So, cryopreservation of a suspension of placental cells under the protection of propanediosaccharol led to increased expression of the *ido* gene in cells compared to that after cryopreservation of cells under the protection of DMSO. A similar modulating effect of cryopreservation on the expression level of genes of different cells was earlier reported [20, 33].

The stimulating effect of certain cryopreservation regimens on the level of *ido* gene expression was demonstrated also in fetal nerve cells (FNCs) the immune corrective potential of those was justified in the GVHD model [21]. There has



Вище неодноразово згадувалося про аутоімунну компоненту в патогенезі COVID-19. У зв'язку з цим існує необхідність використання препаратів із імуносупресорною активністю, зокрема клітинної терапії, для мінімізації проявів АІЗ при розвитку COVID-19. Доведено, що кріоконсервування не тільки забезпечує збереження вихідного стану цих біооб'єктів, але і здатне управляти їх функціональним потенціалом.

У контролі розвитку аутоімунних реакцій важливу роль відіграють згадані вище T_{reg} , імуносупресорна активність яких контролюється продукцією ферменту індоламін 2,3-діоксигенази (IDO) і, відповідно, рівнем експресії однойменного гена *ido* [71]. Було встановлено, що після певних режимів кріоконсервування в клітинах фетальної печінки виявлено істотне підвищення рівня експресії гена *ido* в порівнянні з нативними клітинами, що надавало їм більш виражених імунокоригуючих властивостей [41]. Посилення терапевтичного потенціалу клітин фетальної печінки після кріоконсервування було підтверджено в умовах розвитку локальної ХТПХ, за яких введення цих клітин призводило до підвищення рівня експресії гена *tgf- β* у лімфовузлах реципієнтів [7]. Більш того, рівень експресії гена *ido* залежить від використаних режимів заморожування [14]. Так, кріоконсервування суспензії клітин плаценти під захистом пропандіосахаролу призводило до посилення експресії гена *ido* в клітинах порівняно з аналогічним показником після кріоконсервування клітин під захистом ДМСО. Про подібний модулюючий вплив кріоконсервування на рівень експресії генів різних біооб'єктів було зазначено раніше в роботах В. Fuller і І. Katkov [40, 45].

Стимулюючий ефект певних режимів кріоконсервування на рівень експресії гена *ido* продемонстровано і в фетальних нервових клітинах (ФНК), імунокоригуючий потенціал яких підтверджується в моделі ХТПХ [2]. Відмічено поліпшення клінічних показників тварин із ХТПХ за рахунок стимуляції Т-регуляторної ланки імунітету після введення кріоконсервованих ФНК із підвищеною активністю гена *ido* [2]. Ці дані свідчать про можливість кріоконсервування бути ампліфікатором терапевтичного потенціалу використовуваних препаратів клітинної терапії.

Удосконалення способів довгострокового зберігання препаратів КК дозволило розробити технології ліофілізації, які передбачають попереднє заморожування матеріалу та подальшу сушку із замороженого стану в вакуумі [4]. На відміну від кріоконсервованих, ліофілізовані за розроб-

been an improvement in the clinical parameters of animals with GVHD due to stimulation of the T-regulatory link of immunity after the introduction of cryopreserved FNCs with increased activity of the *ido* gene [21]. These data suggest the possibility of cryopreservation to amplify the therapeutic potential of the used products of cell therapy.

Improvement of methods for a long-term storage of CB products has led to the development of lyophilization techniques, which provide for pre-freezing of the material and subsequent drying from the frozen state in vacuum [23]. In contrast to cryopreserved cells, the lyophilized CB ones are less susceptible to structural changes, also they do not lose herewith immune modulatory properties during long-term storage. The results of assessing the nature of the lyophilization effect on CB functional properties indicate that lyophilization may be one of the ways to enrich the CB population of T_{reg} , while enhancing their immune suppressive properties [23].

Conclusions

Thus, the principles of treatment of patients with viral infection, especially during the COVID-19 pandemic, should foresee the simultaneous solution of several tasks, including the prevention of the expansion of the virus itself and further development of virus-induced pathological process. In this regard, it is necessary to understand the pathogenesis of the development of events during the virus expansion in the body, taking into account, above all, changes in the state of antiviral protection, implemented by the immune system. Equally important is the development of strategies to treat this type of infection and decode the mechanisms of implementation of antiviral protection of drugs. As well to preserve stocks of type-identified viral sub-strains the need for high-quality low temperature biobanking is clearly identified.

Studies performed at the Department of Cryopathophysiology and Immunology of the IPC&C of the National Academy of Sciences of Ukraine have proven the ability of cryopreserved products to prevent the development of viral infection and possible complications caused by it. The created cryopreservation techniques of a wide range of cell products provide not only their long-term storage, but also increase the inherent therapeutic characteristics with the aim of further clinical application.

Thus, the catastrophic spread of SARS CoV-2, high mortality from COVID-19, the lack of



леною технологією клітини КК менше піддаються структурним змінам, до того ж не втрачають своїх імуномодулюючих властивостей у процесі тривалого зберігання. Результати оцінки характеру впливу ліофілізації на функціональні властивості КК свідчать про те, що ліофілізація може виступити одним із способів збагачення КК популяцією T_{reg} , посилюючи при цьому їх імуносупресорні властивості [4].

Висновки

Таким чином, принципи лікування хворих на вірусну інфекцію, особливо в період пандемії COVID-19, повинні передбачати одночасне вирішення кількох завдань, зокрема попередження експансії самого вірусу та подальший розвиток вірус-індукованого патологічного процесу. Для цього необхідно розуміти патогенез COVID-19 за умов експансії вірусу в організмі з урахуванням, перш за все, змін стану противірусного захисту, що реалізується імунною системою. Не менш важливим є розробка стратегій лікування даного виду інфекції та розшифрування механізмів реалізації противірусного захисту лікувальних препаратів. Нагальною є потреба високоякісного зберігання вірусних субштамів у біологічних низькотемпературних банках.

Виконані у відділі кріопатофізіології та імунології ІПКіК НАН України дослідження довели спроможність кріоконсервованих препаратів КК попереджати розвиток вірусної інфекції та можливих ускладнень, викликаних нею. Створені технології кріоконсервування широкого спектра клітинних препаратів забезпечують не тільки їх довгострокове зберігання, а й підвищення притаманних їм терапевтичних характеристик з метою подальшого клінічного застосування.

Отже, катастрофічні темпи поширення SARS CoV-2, висока смертність від COVID-19, відсутність єдиних протоколів лікування даної патології свідчать про необхідність об'єднання сил вчених усього світу. Саме про це заявив 15 травня 2020 р. головний редактор журналу Science Н. Holden Thorp: «Захист світу від важкого гострого респіраторного синдрому, обумовленого SARS-CoV-2, не може бути забезпечений без міжнародного наукового співробітництва» [81]. Очевидна необхідність пошуку нових неординарних підходів противірусного захисту. Висока значущість аутоімунної компоненти – домінуючого елементу в патогенезі COVID-19 – дає підставу з оптимізмом розглядати використання кріоконсервованих препаратів клітинної терапії, яким притаманний багатопрофільний потенціал, зокрема, виражена імунокоригуюча активність.

common protocols for the treatment of this pathology suggests the need to pool together the efforts of scientists worldwide. This is what the editor-in-chief of Science Н. Holden Thorp stated on May 15, 2020: 'Protecting the world from severe acute respiratory syndrome – corona-virus 2 (SARS-CoV-2) can't happen without international scientific collaboration' [76]. There is an obvious need to find new, extraordinary approaches to antiviral protection. The high importance of an autoimmune component as a dominant element in the pathogenesis of COVID-19, affords the ground to be optimistic about the use of cryopreserved products of cell therapy, having versatile potential, in particular, the pronounced immune corrective activity.

References

1. Amiral J, Vissac AM, Seghatchian J. Covid-19, induced activation of hemostasis, and immune reactions: Can an auto-immune reaction contribute to the delayed severe complications observed in some patients? *Transfus Apher Sci.* [Internet]. 2020 May 3 [cited 2020 May 15];102804. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473050220300999?via%3Dihub>.
2. Ankrum JA, Ong JF, Karp JM. Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged. *Nat Biotechnol.* 2014; 32(3): 252–60.
3. Armitage J, Tan DBA, Troedson R, et al. Mesenchymal stromal cell infusion modulates systemic immunological responses in stable COPD patients: a phase I pilot study. *Eur Respir J.* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2020 May 15]; 51(3): 1702369. Available from: <https://erj.ersjournals.com/content/51/3/1702369.long>.
4. Arnaud CH. Adding the missing sugars to coronavirus protein structures. *Chemical & Engineering News.* 2020; 98(6): 24–5.
5. Arts RJW, Moorlag SJCFM, Novakovic B, et al. BCG vaccination protects against experimental viral infection in humans through the induction of cytokines associated with trained immunity. *Cell Host Microbe.* [Internet]. 2018 Jan 10 [cited 2020 May 15]; 23(1): 89–100. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312817305462?via%3Dihub>.
6. Babaeva AG. [Past, present, and future problems in lymphoid regulation of nonlymphoid cell proliferation]. *Bull Eksp Biol Med.* 1995; 120(9):230–4. Russian.
7. Berkhout B. RNAi-mediated antiviral immunity in mammals. *Curr Opin Virol.* 2018; 32: 9–14.
8. Bertram S, Glowacka I, Muller MA, et al. Cleavage and activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by human airway trypsin-like protease. *J Virol.* 2011; 85(24): 13363–72.
9. Dandekar AA, Perlman S. Immunopathogenesis of coronavirus infections: implications for SARS. *Nat Rev Immunol.* 2005; 5(12): 917–27.
10. Darwish I, Banner D, Mubareka S, et al. Mesenchymal stromal (stem) cell therapy fails to improve outcomes in experimental severe influenza. *PLoS One.* [Internet]. 2013 Aug 15 [cited 2020 May 15]; 8(8): e71761. Available from:



Література

1. Бабаева АГ. Прошлое, настоящее и будущее проблемы лимфоидной регуляции пролиферации нелимфоидных клеток. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1995; 120(9): 230–4.
2. Гольцев АМ, Бабенко НМ, Гаевська ЮО, та інш. Імунокоригуюча дія фетальних нервових клітин мишей при розвитку хвороби «трансплантат проти хазяїна». *Клітинна та органна трансплантологія*. 2019; 7(1): 32–9.
3. Гольцев АМ, Дубрава ТГ, Луценко ОД, та інш. Молекулярні механізми імунокоригувальної дії препаратів фетоплацентарного комплексу в умовах розвитку аутоімунних захворювань. *Одеський медичний журнал*. 2013; (4): 13–8.
4. Гольцев АМ, Тараннік ГГ, Гриша ІГ, та інш. Винахідники; Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, патентовласник. Спосіб ліофілізації лейкоконцентрату кордової крові. Патент України № 113006. 10.01.2017
5. Гольцев АН. Возможные причины развития аутоиммунной патологии и поиск путей ее лечения. *Проблемы медичної науки та освіти*. 2000; (1): 22–37.
6. Гольцев АН, Бондарович НА, Дубрава ТГ, и др. Иммунологические особенности криоабляции при комплексном лечении онкологических заболеваний. *Проблемы кріобіології і кріомедицини*. 2019; 29(4): 297–302.
7. Гольцев АН, Дубрава ТГ, Луценко ЕД, и др. Проявление иммунокорректирующего эффекта криоконсервированных клеток фетальной печени разных сроков гестации в условиях развития экспериментальной модели реакции «трансплантат против хозяина». *Гены и клетки*. 2010; 5(3): 82–6.
8. Гольцев КА, Овсянников СЕ, Кожина ОЮ, и др. Коррекция препаратом кордовой крови «Криоцелл-Гемокорд» метаболических нарушений при остром гнойном перитоните. *Проблемы кріобіології*. 2011; 21(1): 96–103.
9. Грищенко ВИ, Гольцев АН. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения. *Проблемы кріобіології*. 2002; (1): 54–85.
10. Дранник ГН. Клиническая иммунология и аллергология. Одесса: Астро-принт; 1999. 601 с.
11. Коваль АК, Луценко ЕД, Гриша ІГ, и др. Влияние лиофилизации на сохранность структурно-функциональных характеристик лейкоконцентрата кордовой крови человека. *Проблемы кріобіології і кріомедицини*. 2019; 29(4): 332–43.
12. Кожина ОЮ, Останков МВ, Гриша ІГ, и др. Применение криоконсервированного лейкоконцентрата кордовой крови человека с целью профилактики гриппа (экспериментальное исследование). *Експериментальна і клінічна медицина*. 2012; (4): 16–21.
13. Кожина ОЮ, Останков МВ, Останкова ЛВ, и др. Влияние криоконсервированной кордовой крови на активность альвеолярных макрофагов в экспериментальной модели гриппа. *Проблемы кріобіології и кріомедицини*. 2013; 23(3): 247–59.
14. Луценко ЕД, Останков МВ, Димитров АЮ, Гольцев АН. Выбор режима криоконсервирования клеток плаценты определяет их иммунологические свойства. *Биофизика живой клетки*. 2014; 10: 120–2.
15. Луценко ОД, Останкова ЛВ, Останков МВ, та інш. Особливості зміни фенотипу клітин лейкоконцентрату кордової крові людини після криоконсервування та ліофілізації. В: *Матеріали VIII Національного конгресу Українського наукового товариства патофізіологів «Патологічна фізіологія – охорони здоров'я України»*; 13–15 травня 2020, Одеса, Україна. Одеса; 2020; 133.
16. Онасенко ЕС, Бровко ЕВ, Волина ВВ, Пономарева ВЛ. Инфицирование животных вирусом гриппа после предварительного введения препарата «Криоцелл-Гемокорд». *Сообщение I. Изучение функциональной активности* <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0071761>
11. DeDiego ML, Nieto-Torres JL, Jimenez-Guardeco JM, et al. Coronavirus virulence genes with main focus on SARS-CoV envelope gene. *Virus Res*. 2014; 194: 124–37.
12. Delgado-Rochea L, Mestab F. Oxidative stress as key player in severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection. *Archives of Medical Research* [Internet]. 2020 April 30 [cited 2020 May 15]; S0188-4409(20)30540–3. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0188440920305403?via%3Dihub>.
13. Drannik GN. [Clinical immunology and allergology]. Odessa: Astro-print; 1999. 601 p. Russian.
14. Eggenhofer E, Benseler V, Kroemer A, et al. Mesenchymal stem cells are short-lived and do not migrate beyond the lungs after intravenous infusion. *Front Immunol*. [Internet]. 2012 Sep 26 [cited 2020 May 15]; 3: 297. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2012.00297/full>.
15. Esfandiari R, Halabian R, Behzadi E, et al. Performance evaluation of antimicrobial peptide Il-37 and hepcidin and b-defensin-2 secreted by mesenchymal stem cells. *Heliyon*. [Internet]. 2019 Oct 23 [cited 2020 May 15]; 5(10): e02652. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844019363121?via%3Dihub>.
16. Fan H, Yang J, Hao J, et al. Comparative study of regulatory T cells expanded ex vivo from cord blood and adult peripheral blood. *Immunology*. 2012; 136(2): 218–30.
17. Ferrara JL, Abhyankar S, Gilliland DG. Cytokine storm of graft-versus-host disease: a critical effector role for interleukin-1. *Transplant Proc*. 1993; 25(1 Pt 2): 1216–7.
18. Foronjy RF, Dabo AJ, Cummins N, Geraghty P. Leukemia inhibitory factor protects the lung during respiratory syncytial viral infection. *BMC Immunology*. [Internet]. 2014 Oct 3 [cited 2020 May 15]; 15: 41. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2172/15/41>.
19. Frieman MB, Chen J, Morrison TE, et al. SARS-CoV pathogenesis is regulated by a STAT1 dependent but a type I, II and III interferon receptor independent mechanism. *PLoS Pathog*. [Internet]. 2010 Apr 8 [cited 2020 May 15]; 6(4): e1000849. Available from: <https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1000849>.
20. Fuller BJ. Gene expression in response to low temperatures in mammalian cells: a review of current ideas. *Cryo Letters*. 2003; 24(2):95–102.
21. Goltsev AM, Babenko NM, Gaevska YuO, et al. Immunoregulatory effect of mouse fetal neural cells on the graft-versus-host disease. *Cell and Organ Transplantation*. 2019; 7(1): 40–6.
22. Goltsev AM, Dubrava TG, Lutsenko OD, et al. [Molecular mechanisms of immune correcting effect of cell therapy under development of autoimmune diseases]. *Odes'kyi Medychnyi Zhurnal*. 2013; (4): 13–8. Ukrainian.
23. Goltsev AM, Tarannik GK, Grisha IG, et al. inventors; Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, assignee. [Method of lyophilization of leukoconcentrate of cord blood]. Patent of Ukraine 113006, 2017 Jan 10. Ukrainian.
24. Goltsev AN. [Probable causes of the development of autoimmune pathology and search for the ways of its treatment]. *Probl Med Nauki ta Osvity*. 2000; (1): 22–37. Russian.
25. Goltsev AN, Bondarovich NA, Dubrava TG, et al. Immunological traits of cryoablation in combination therapy of cancer. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2019; 29(4): 297–302.
26. Goltsev AN, Dubrava TG, Lutsenko ED, et al. [Manifestation of immune correcting effect of cryopreserved cells of fetal liver of different gestation terms under development conditions of experimental model of graft-versus-host reaction]. *Genes & Cells*. 2010; 5(3): 82–6. Russian.



- иммунокомпетентных органов мышей. Проблемы криобиологии. 2010; 20(1): 99–105.
17. Стецишин ВГ, Останкова ЛВ, Гаевская ЮА, и др. Иммунокоррекция генитального герпеса криоконсервированной кордовой кровью (экспериментальное исследование). Медицина сьогодні і завтра. 2015; 69 (4): 56–62.
 18. Цуцаева АА, Бровко ЕВ, Желтякова ИА, и др. Лейкоконцентрат кордовой крови «Гемокорд». Морфофункциональные свойства препарата до и после криоконсервирования. Нове в гематології та трансфузіології. Київ. 2006; (5): 99–103.
 19. Цуцаева АА, Волина ВВ, Сокол ЛВ, Жуликов ОА. Влияние лейкоконцентрата кордовой крови человека на регенераторную активность кожи в культуре *in vitro*. Проблемы криобиологии. 2009; 19(1): 93–9.
 20. Цуцаева АА, Грищенко ВИ, Кудокоцева ОВ, и др. Криоконсервирование гемопоэтических стволовых клеток из кордовой крови человека. Проблемы криобиологии. 2000; (1): 59–63.
 21. Цуцаева АА, Цыганенко АЯ, Желтякова ИА, Павленко НВ. Способы хранения патологического материала, содержащего вирус гриппа. Експериментальна і клінічна медицина. 2004; (2): 76–8.
 22. Цуцаева АО, Грищенко ВІ, Онасенко ОС, та інш. винахідники; Інститут Проблем криобіології і кріомедицини НАН України, патентовласник. Спосіб профілактики респіраторної інфекції. Патент України № 21484U, 15.03.2007.
 23. Amiral J, Vissac AM, Seghatchian J. Covid-19, induced activation of hemostasis, and immune reactions: Can an auto-immune reaction contribute to the delayed severe complications observed in some patients? Transfus Apher Sci. [Internet]. 2020 May 3 [cited 2020 May 15]: 102804. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473050220300999?via%3Dihub>.
 24. Ankrum JA, Ong JF, Karp JM. Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged. Nat Biotechnol. 2014; 32(3): 252–60.
 25. Armitage J, Tan DBA, Troedson R, et al. Mesenchymal stromal cell infusion modulates systemic immunological responses in stable COPD patients: a phase I pilot study. Eur Respir J. [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2020 May 15]; 51(3): 1702369. Available from: <https://erj.ersjournals.com/content/51/3/1702369.long>.
 26. Arnaud CH. Adding the missing sugars to coronavirus protein structures. Chemical & Engineering News. 2020; 98(6): 24–5.
 27. Arts RJW, Moorlag SJCFM, Novakovic B, et al. BCG vaccination protects against experimental viral infection in humans through the induction of cytokines associated with trained immunity. Cell Host Microbe. [Internet]. 2018 Jan 10 [cited 2020 May 15]; 23(1): 89–100. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312817305462?via%3Dihub>.
 28. Berkhout B. RNAi-mediated antiviral immunity in mammals. Curr Opin Virol. 2018; 32: 9–14.
 29. Bertram S, Glowacka I, Muller MA, et al. Cleavage and activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by human airway trypsin-like protease. J Virol. 2011; 85(24): 13363–72.
 30. Dandekar AA, Perlman S. Immunopathogenesis of coronavirus infections: implications for SARS. Nat Rev Immunol. 2005; 5(12): 917–27.
 31. Darwish I, Banner D, Mubareka S, et al. Mesenchymal stromal (stem) cell therapy fails to improve outcomes in experimental severe influenza. PLoS One. [Internet]. 2013 Aug 15 [cited 2020 May 15]; 8(8): e71761. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0071761>.
 32. DeDiego ML, Nieto-Torres JL, Jimenez-Guardeco JM, et al. Coronavirus virulence genes with main focus on SARS-CoV envelope gene. Virus Res. 2014; 194: 124–37.
 33. Delgado-Rochea L, Mestab F. Oxidative stress as key player in severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection. Archives of Medical Research [Internet]. 2020 April
 27. Goltsev AN, Lutsenko ED, Dimitrov AYU, et al. Peculiarities of functional state modulation of genetic apparatus of fetal liver cells with stemness characteristics after cryopreservation. CryoLetters. 2011; 32(6): 543–4.
 28. Goltsev KA, Ovsyannikov SYe, Kozhina OYu, et al. Correction of metabolic impairments with 'Cryocell-Hemocord' cord blood preparation during acute purulent peritonitis. Problems of Cryobiology. 2011; 21(1): 96–103.
 29. Grischenko VI, Goltsev AN. Transplantation of the products of embryofetoplacental complex from understanding of mechanism of the effect to increasing the efficiency of application. Problems of Cryobiology. 2002; (1): 54–84.
 30. Hagemeyer MC, Monastyrska I, Griffith J, et al. Membrane rearrangements mediated by coronavirus nonstructural proteins 3 and 4. Virology. 2014; 458–459(1): 125–35.
 31. Helmy YA, Fawzy M, Elasad A, et al. The COVID-19 pandemic: a comprehensive review of taxonomy, genetics, epidemiology, diagnosis, treatment, and control. J Clin Med. [Internet]. 2020 Apr 24 [cited 2020 May 15]; 9(4): 1225. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/4/1225>.
 32. Hoffmann MH, Griffiths HR. The dual role of reactive oxygen species in autoimmune and inflammatory diseases: evidence from preclinical models. Radic Biol Med. 2018; 125: 62–71.
 33. Katkov II, Kima MS, Bajpaic R. Cryopreservation by slow cooling with DMSO diminished production of Oct-4 pluripotency marker in human embryonic stem cells. Cryobiology. 2006; 53 (2): 194–205.
 34. Khoury M, Cuenca J, Cruz FF, et al. Current status of cell-based therapies for respiratory virus infections: applicability to COVID-19. Eur Respir J. [Internet]. 2020 Jun 4 [cited 2020 Jun 15]; 55(6): 2000858. Available from: <https://erj.ersjournals.com/content/55/6/2000858>.
 35. Kienhofer D, Boeltz S, Hoffmann MH. Reactive oxygen homeostasis—the balance for preventing autoimmunity. Lupus. 2016; 25(8): 943–54.
 36. Kindler E, Thiel V, Weber F. Interaction of SARS and MERS coronaviruses with the antiviral interferon response. Adv Virus Res. 2016; 96: 219–43.
 37. Kobasa D, Jones SM, Shinya K, et al. Aberrant innate immune response in lethal infection of macaques with the 1918 influenza virus. Nature. 2007; 445(7125): 319–23.
 38. Kopecky-Bromberg SA, Martinez-Sobrido L, Frieman M, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus open reading frame (ORF) 3b, ORF 6, and nucleocapsid proteins function as interferon antagonists. J Virol. 2007; 81(2): 548–57.
 39. Koval GK, Lutsenko OD, Grisha IG, et al. Impact of lyophilisation on integrity of structural and functional characteristics of human cord blood leukoncentrate. Probl Cryobiol Cryomed. 2019; 29(4): 332–43.
 40. Kozhyna OYu, Ostankov MV, Grisha IG, et al. [Application of cryopreserved human cord blood leucoconcentrat for prophylactic of influenza (experimental research)]. Eksperymental'na i Klinichna Medytsyna. 2012; (4): 16–21. Russian.
 41. Kozhina OYu, Ostankov MV, Ostankova LV, et al. Effect of cryopreserved cord blood on activity of alveolar macrophages in experimental model of influenza. Probl Cryobiol Cryomed. 2013; 23(3): 247–59.
 42. Kurien BT, Scofield RH. Autoimmunity and oxidatively modified autoantigens. Autoimmun Rev. 2008; 7(7): 567–73.
 43. Lee CC, Lin SJ, Cheng PJ, Kuo ML. The regulatory function of umbilical cord blood CD4(+) CD25(+) T cells stimulated with anti-CD3/anti-CD28 and exogenous interleukin (IL)-2 or IL-15. Pediatr Allergy Immunol. 2009; 20(7): 624–32.

- 30 [cited 2020 May 15]; S0188-4409(20)30540-3. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0188440920305403?via%3Dihub>.
34. Eggenhofer E, Benseler V, Kroemer A, et al. Mesenchymal stem cells are short-lived and do not migrate beyond the lungs after intravenous infusion. *Front Immunol*. [Internet]. 2012 Sep 26 [cited 2020 May 15]; 3: 297. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2012.00297/full>.
35. Esfandiari R, Halabian R, Behzadi E, et al. Performance evaluation of antimicrobial peptide Il-37 and hepcidin and b-defensin-2 secreted by mesenchymal stem cells. *Heliyon*. [Internet]. 2019 Oct 23 [cited 2020 May 15]; 5(10): e02652. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844019363121?via%3Dihub>.
36. Fan H, Yang J, Hao J, et al. Comparative study of regulatory T cells expanded ex vivo from cord blood and adult peripheral blood. *Immunology*. 2012; 136(2): 218–30.
37. Ferrara JL, Abhyankar S, Gilliland DG. Cytokine storm of graft-versus-host disease: a critical effector role for interleukin-1. *Transplant Proc*. 1993; 25(1 Pt 2): 1216–7.
38. Foronjy RF, Dabo AJ, Cummins N, Geraghty P. Leukemia inhibitory factor protects the lung during respiratory syncytial viral infection. *BMC Immunology*. [Internet]. 2014 Oct 3 [cited 2020 May 15]; 15: 41. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2172/15/41>.
39. Frieman MB, Chen J, Morrison TE, et al. SARS-CoV pathogenesis is regulated by a STAT1 dependent but a type I, II and III interferon receptor independent mechanism. *PLoS Pathog*. [Internet]. 2010 Apr 8 [cited 2020 May 15]; 6(4): e1000849. Available from: <https://journals.plos.org/plspathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1000849>.
40. Fuller BJ. Gene expression in response to low temperatures in mammalian cells: a review of current ideas. *CryoLetters*. 2003; 24(2): 95–102.
41. Goltsev AN, Lutsenko ED, Dimitrov AYU, et al. Peculiarities of functional state modulation of genetic apparatus of fetal liver cells with stemness characteristics after cryopreservation. *Cryo Letters*. 2011; 32(6): 543–4.
42. Hagemeyer MC, Monastyrska I, Griffith J, et al. Membrane rearrangements mediated by coronavirus nonstructural proteins 3 and 4. *Virology*. 2014; 458-459: 125–35.
43. Helmy YA, Fawzy M, Elasad A, et al. The COVID-19 pandemic: a comprehensive review of taxonomy, genetics, epidemiology, diagnosis, treatment, and control. *J Clin Med*. [Internet]. 2020 Apr 24 [cited 2020 May 15]; 9(4): 1225. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/4/1225>.
44. Hoffmann MH, Griffiths HR. The dual role of reactive oxygen species in autoimmune and inflammatory diseases: evidence from preclinical models. *Radic Biol Med*. 2018; 125: 62–71.
45. Katkov II, Kima MS, Bajpaic R. Cryopreservation by slow cooling with DMSO diminished production of Oct-4 pluripotency marker in human embryonic stem cells. *Cryobiology*. 2006; 53(2): 194–205.
46. Khoury M, Cuenca J, Cruz FF, et al. Current status of cell-based therapies for respiratory virus infections: applicability to COVID-19. *Eur Respir J*. [Internet]. 2020 Jun 4 [cited 2020 Jun 15]; 55(6): 2000858. Available from: <https://erj.ersjournals.com/content/55/6/2000858>.
47. Kienhofer D, Boeltz S, Hoffmann MH. Reactive oxygen homeostasis—the balance for preventing autoimmunity. *Lupus*. 2016; 25(8): 943–54. doi: 10.1177/0961203316640919.
48. Kindler E, Thiel V, Weber F. Interaction of SARS and MERS coronaviruses with the antiviral interferon response. *Adv Virus Res*. 2016; 96: 219–43.
49. Kobasa D, Jones SM, Shinya K, et al. Aberrant innate immune response in lethal infection of macaques with the 1918 influenza virus. *Nature*. 2007; 445(7125): 319–23.
50. Kopecky-Bromberg SA, Martinez-Sobrido L, Frieman M, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus open reading
44. Leng Z, Zhu R, Hou W, et al. Transplantation of ACE2–mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID-19 pneumonia. *Aging Dis*. 2020; 11(2): 216–28.
45. Leung HN. Mechanism of antibody-dependent enhancement in severe acute respiratory syndrome coronavirus infection: thesis for the degree of Master of Philosophy [dissertation on the internet]. Hong Kong: University of Hong Kong; 2012. 139p. [cited 2020 May 16] Available from: <http://hub.hku.hk/handle/10722/174389>.
46. Li G, Fan Y, Lai Y, et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol*. 2020; 92(4): 424–32.
47. Li X, Geng M, Peng Y, et al. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal*. 2020; 10(2): 102–8.
48. Lutsenko ED, Ostankov MV, Dimitrov AYU, Goltsev AN. [Selection of cryopreservation mode of placenta cells determines its immunological properties]. *Biofizika Zhivoi Kletki*. 2014; 10: 120–2. Russian.
49. Lutsenko OD, Ostankova LV, Ostankov MV, et al. [Features of changes in the phenotype of human cord blood leukoconcentrate after cryopreservation and lyophilization]. In: Proceedings of the VIII National Congress of Pathophysiology of Ukraine 'Pathological physiology – health care of Ukraine'; 2020 March 13–15 Odesa, Ukraine. Odesa; 2020; 133. Ukrainian.
50. Lyons-Weiler J. Pathogenic priming likely contributes to serious and critical illness and mortality in COVID-19 via autoimmunity. *J Transl Autoimmun*. [Internet]. 2020 Apr 9 [cited 2020 May 15]; 3:100051. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589909020300186>.
51. Malha L, Mueller FB, Pecker MS, et al. COVID-19 and the renin-angiotensin system. *Kidney Int Rep*. 2020; 5(5): 563–5.
52. Mandic Havelka A, Yektaei-Karin E, Hultenby K, et al. Maternal plasma level of antimicrobial peptide LL37 is a major determinant factor of neonatal plasma LL37 level. *Acta Paediatr*. 2010; 99(6): 836–41.
53. Maringer K, Fernandez-Sesma A. Message in a bottle: lessons learned from antagonism of STING signalling during RNA virus infection. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2014; 25(6): 669–79.
54. Marquez-Curtis LA, Janowska-Wieczorek A. Enhancing the migration ability of mesenchymal stromal cells by targeting the SDF-1/CXCR4 axis. *Biomed Res Int*. [Internet]. 2013 [cited 2020 May 15]; 2013: 561098. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/561098/>
55. Miller A, Reandelar MJ, Fasciglione K, et al. Correlation between universal BCG vaccination policy and reduced morbidity and mortality for COVID-19: an epidemiological study. (Preprint) medRxiv [Internet]. 28 March 2020 [cited 2020 May 15]; 20042937 Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.24.20042937v1>.
56. Noronha NC, Mizukami A, Caliani-Oliveira C, et al. Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies. *Stem Cell Res Ther*. [Internet]. 2019 May 2 [cited 2020 May 15]; 10(1): 131. Available from: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-019-1224-y>
57. Olson JK, Croxford JL, Miller SD. Virus-induced autoimmunity: potential role of viruses in initiation, perpetuation, and progression of T-cell-mediated autoimmune disease. *Viral Immunol*. 2001; 14(3): 227–50.
58. Onasenko YeS, Brovko YeV, Volina VV, Ponomareva VL. Infection of animals with the influenza virus after a preliminary administration of the preparation 'Cryocell-Haemocord'. Report I. Investigation of functional activity of murine immunocompetent organs. *Problems of Cryobiology*. 2010; 20(1): 99–105.



- frame (ORF) 3b, ORF 6, and nucleocapsid proteins function as interferon antagonists. *J Virol.* 2007; 81(2): 548–57.
51. Kurien BT, Scofield RH. Autoimmunity and oxidatively modified autoantigens. *Autoimmun Rev.* 2008; 7(7): 567–73.
 52. Lee CC, Lin SJ, Cheng PJ, Kuo ML. The regulatory function of umbilical cord blood CD4(+) CD25(+) T cells stimulated with anti-CD3/anti-CD28 and exogenous interleukin (IL)-2 or IL-15. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009; 20(7): 624–32.
 53. Leng Z, Zhu R, Hou W, et al. Transplantation of ACE2-Mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID-19 pneumonia. *Aging Dis.* 2020; 11(2): 216–28.
 54. Leung HN. Mechanism of antibody-dependent enhancement in severe acute respiratory syndrome coronavirus infection: thesis for the degree of Master of Philosophy [dissertation on the internet]. Hong Kong: University of Hong Kong; 2012. 139p. [cited 2020 May 16] Available from: <http://hub.hku.hk/handle/10722/174389>.
 55. Li G, Fan Y, Lai Y, et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol.* 2020; 92(4): 424–32. doi: 10.1002/jmv.25685.
 56. Li X, Geng M, Peng Y, et al. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal.* 2020; 10(2): 102–8.
 57. Lyons-Weiler J. Pathogenic priming likely contributes to serious and critical illness and mortality in COVID-19 via autoimmunity. *J Transl Autoimmun.* [Internet]. 2020 Apr 9 [cited 2020 May 15]; 3:100051. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589909020300186>.
 58. Malha L, Mueller FB, Pecker MS, et al. COVID-19 and the renin-angiotensin system. *Kidney Int Rep.* 2020; 5(5): 563–5.
 59. Mandic Havelka A, Yektaei-Karin E, Hultenby K, et al. Maternal plasma level of antimicrobial peptide LL37 is a major determinant factor of neonatal plasma LL37 level. *Acta Paediatr.* 2010; 99(6): 836–41.
 60. Maringer K, Fernandez-Sesma A. Message in a bottle: lessons learned from antagonism of STING signalling during RNA virus infection. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014; 25(6): 669–79.
 61. Marquez-Curtis LA, Janowska-Wieczorek A. Enhancing the migration ability of mesenchymal stromal cells by targeting the SDF-1/CXCR4 axis. *Biomed Res Int.* [Internet]. 2013 [cited 2020 May 15]; 2013: 561098. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/561098/>.
 62. Miller A, Reandelar MJ, Fasciglione K, et al. Correlation between universal BCG vaccination policy and reduced morbidity and mortality for COVID-19: an epidemiological study. (Preprint). *medRxiv* [Internet]. 28 March 2020 [cited 2020 May 15]; 20042937. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.24.20042937v1>.
 63. Noronha NC, Mizukami A, Caliri-Oliveira C, et al. Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies. *Stem Cell Res Ther.* [Internet]. 2019 May 2 [cited 2020 May 15]; 10(1): 131. Available from: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-019-1224-y>.
 64. Olson JK, Croxford JL, Miller SD. Virus-induced autoimmunity: potential role of viruses in initiation, perpetuation, and progression of T-cell-mediated autoimmune disease. *Viral Immunol.* 2001; 14(3): 227–50.
 65. Paludan SR. Innate antiviral defenses independent of inducible IFN β production. *Trends Immunol.* 2016; 37(9): 588–96.
 66. Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* [Internet]. 2020 Mar 12 [cited 2020 May 15]; ciaa248. Available from: <https://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/ciaa248/5803306>.
 67. Regmi S, Pathak S, Kim JO, et al. Mesenchymal stem cell therapy for the treatment of inflammatory diseases: Challenges, opportunities, and future perspectives. *Eur J Cell Biol.* [Internet]. 2019 December [cited 2020 May 15]; 98(5-8): 151041. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0171933519300378?via%3Dihub>.
 68. Reid AH, Fanning TG, Hultin JV, Taubenberger JK. Origin and evolution of the 1918 'Spanish' influenza virus hemagglutinin gene. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999; 96(4): 1651–6.
 69. Reinholz M, Ruzicka T, Schaubert J. Cathelicidin LL-37: an antimicrobial peptide with a role in inflammatory skin disease. *Ann Dermatol.* 2012; 24(2): 126–35.
 70. Rusek P, Wala M, Druszczycska M, Fol M. Infectious agents as stimuli of trained innate immunity. *Int J Mol Sci.* [Internet]. 2018 Feb 3 [cited 2020 May 15]; 19(2): E456. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/2/456>.
 71. Sakaguchi S, Mikami N, Wing J B, et al. Regulatory T cells and human disease. *Annu Rev Immunol.* 2020; 38:541–66.
 72. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virol J.* [Internet]. 2019 May 27; [cited 2020 May 15]; 16(1): 69. Available from: <https://virology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12985-019-1182-0>
 73. Scott MG, Davidson DJ, Gold MR, et al. The human antimicrobial peptide LL-37 is a multifunctional modulator of innate immune responses. *J Immunol.* 2002; 169(7): 3883–91.
 74. Shi CS, Qi HY, Boularan C, et al. SARS-coronavirus open reading frame-9b suppresses innate immunity by targeting mitochondria and the MAVS/TRAF3/TRAF6 signalosome. *J Immunol.* 2014; 193(6): 3080–9.
 75. Siracusano G, Pastori C, Lopalco L. Humoral immune responses in COVID-19 patients: a window on the state of the art. *Front Immunol.* [Internet]. 2020 May 15 [cited 2020 May 15]; 11: 1049. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01049/full>.
 76. Soliman R, Brassey J, Pluddemann A, et al. Does BCG vaccination protect against acute respiratory infections and COVID-19? A rapid review of current evidence. The Centre for Evidence-Based Medicine [Internet]. 2020 April 24 [cited 2020 May 15]. Available from: <https://www.cebm.net/covid-19/does-bcg-vaccination-protect-against-acute-respiratory-infections-and-covid-19-a-rapid-review-of-current-evidence/>
 77. Stetsyshyn VG, Ostankova LV, Gaevskaya YuA, et al. [Immune correcting of genital herpes with cryopreserved cord blood (experimental study)]. *Medytsyna Sogodni i Zavtra.* 2015. 69 (4): 56–62. Russian.
 78. Takakia H, Ichimiyab S, Matsumoto M, Seyaa T. Mucosal immune response in nasal associated lymphoid tissue upon intranasal administration by adjuvants. *J Innate Immun.* 2018; 10 (5–6): 515–21.
 79. Tay MZ, Poh CM, Renia L, et al. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol.* 20(6): 363–74.
 80. Tetro J. Is COVID-19 receiving ADE from other coronaviruses? *Microbes Infect.* 2020; 22(2): 72–3.
 81. Thanunchai M, Kanrai P, Wiboon-Ut S, et al. Tropism of avian influenza A (H5N1) virus to mesenchymal stem cells and CD34+ hematopoietic stem cells. *PLoS One.* [Internet]. 2013 Dec 10 [cited 2020 May 15]; 8(12): e81805. Available from:

- 2019 December [cited 2020 May 15]; 98(5-8): 151041. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0171933519300378?via%3Dihub>.
68. Reid AH, Fanning TG, Hultin JV, Taubenberger JK. Origin and evolution of the 1918 «Spanish» influenza virus hemagglutinin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999; 96(4): 1651–6.
 69. Reinholz M, Ruzicka T, Schaubert J. Cathelicidin LL-37: an antimicrobial peptide with a role in inflammatory skin disease. *Ann Dermatol*. 2012; 24(2): 126–35.
 70. Rusek P, Wala M, Druszczycska M, Fol M. Infectious agents as stimuli of trained innate immunity. *Int J Mol Sci*. [Internet]. 2018 Feb 3 [cited 2020 May 15]; 19(2): E456. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/2/456>.
 71. Sakaguchi S, Mikami N, Wing JB, et al. Regulatory T cells and human disease. *Annu Rev Immunol*. 2020; 38: 541–66.
 72. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology*. [Internet]. 2019 May 27; [cited 2020 May 15]; 16(1): 69. Available from: <https://virology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12985-019-1182-0>.
 73. Scott MG, Davidson DJ, Gold MR, et al. The human antimicrobial peptide LL-37 is a multifunctional modulator of innate immune responses. *J Immunol*. 2002; 169(7): 3883–91.
 74. Shi CS, Qi HY, Boularan C, et al. SARS-coronavirus open reading frame-9b suppresses innate immunity by targeting mitochondria and the MAVS/TRAF3/TRAF6 signalosome. *J Immunol*. 2014; 193(6): 3080–9.
 75. Siracusano G, Pastori C, Lopalco L. Humoral immune responses in COVID-19 patients: a window on the state of the art. *Front Immunol*. [Internet]. 2020 May 15 [cited 2020 May 15]; 11: 1049. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01049/full>.
 76. Soliman R, Brassey J, Pluddemann A, Heneghan C. Does BCG vaccination protect against acute respiratory infections and COVID-19? A rapid review of current evidence. *The Centre for Evidence-Based Medicine* [Internet]. 2020 April 24 [cited 2020 May 15]. Available from: <https://www.cebm.net/covid-19/does-bcg-vaccination-protect-against-acute-respiratory-infections-and-covid-19-a-rapid-review-of-current-evidence/>
 77. Takakia H, Ichimiyab S, Matsumotoa M, Seyaa T. Mucosal immune response in nasal associated lymphoid tissue upon intranasal administration by adjuvants. *J Innate Immun*. 2018; 10(5–6): 515–21.
 78. Tay MZ, Poh CM, Renia L, et al. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 2020; 20(6): 363–74.
 79. Tetro J. Is COVID-19 receiving ADE from other coronaviruses? *Microbes Infect*. 2020; 22(2): 72–3.
 80. Thanunchai M, Kanrai P, Wiboon-Ut S, et al. Tropism of avian influenza A (H5N1) virus to mesenchymal stem cells and CD34+ hematopoietic stem cells. *PLoS One*. [Internet]. 2013 Dec 10 [cited 2020 May 15]; 8(12): e81805. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0081805>.
 81. Thorp HH. Both/and problem in an either/or world. *Science*. 2020; 368 (6492): 681.
 82. Tsvigoulis G, Fragkou PC, Delides A, et al. Quantitative evaluation of olfactory dysfunction in hospitalized patients with Coronavirus [2] (COVID-19). *Neurol*. [Internet]. 2020 May 25 [cited 2020 May 27]: 1–3. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00415-020-09935-9>.
 83. Vankadari N, Wilce JA. Emerging WuHan (COVID-19) coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26. *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9(1): 601–4.
 84. Wang Q, Qiu Y, Li J–Y, et al. A unique protease cleavage site predicted in the spike protein of the novel pneumonia coronavirus (2019-nCoV) potentially related to viral transmissibility. *Virology*. [Internet]. 2020 Mar 20 [cited 2020 May 15]: 1–3. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12250-020-00212-7>.
 85. Ward P, Higenbottam T, Gabbay F, et al. 'COVID-19 vaccine and antiviral drug development'. *Faculty of pharmaceutical medicine blog* [Internet]. 08 April 2020 [cited 2020 May 15]. Available from: <https://www.fpm.org.uk/blog/covid-19-vaccine-and-antiviral-drug-development>.
 86. Watanabe Y, Berndsen ZT, Raghwan J, et al. Vulnerabilities in coronavirus glycan shields despite extensive glycosylation. *Nat Commun* [Internet]. 2020 May 27 [cited 2020 May 28]; 11(1): 2688. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-16567-0>.
 87. Wei H, Li Z, Hu S, et al. Apoptosis of mesenchymal stem cells induced by hydrogen peroxide concerns both endoplasmic reticulum stress and mitochondrial death pathway through regulation of caspases, p38 and JNK. *J Cell Biochem*. 2010; 111(4): 967–78.
 88. Weiss SR, Navas-Martin S. Coronavirus pathogenesis and the emerging pathogen severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2005; 69 (4): 635–64.
 89. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 2020; 367(6483): 1260–3.
 90. Wu R, Wang L, Kuo HD, et al. An update on current therapeutic drugs treating COVID-19. *Curr Pharmacol Rep*. [Internet]. 2020 May 11 [cited 2020 May 15]: 1–15. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40495-020-00216-7>.
 91. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese center for disease control and prevention. *JAMA*. 2020; 323(13): 1239–42.
 92. Tsutsayeva AA, Brovko EV, Zheltjakova IA, et al. [Leukoconcentrate of cord blood 'Hemocord'. Morphofunctional properties of the preparation before and after cryopreservation]. *Novye v Gematologii ta Transfuziologii*. Kyiv. 2006; (5): 99–103. Russian.
 93. Tsutsayeva AA, Grischenko VI, Kudokotseva OV, et al. Cryopreservation of hematopoietic stem cells out of human cord blood. *Problems of Cryobiology*. 2000; (1): 59–63.
 94. Tsutsayeva AA, Tsyganenko AY, Zheltjakova IA, Pavlenko NV. [Methods for storing pathological material containing influenza virus]. *Eksperimental'na i Klinichna Medytsyna*. 2004; (2): 76–8. Russian.
 95. Tsutsaieva AO, Hryshchenko VI, Onasenko OS, et al. inventors; Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, assignee. [Method for preventing respiratory viral infection]. Ukrainian patent N 21484U, 2007 March 15. Ukrainian.
 96. Tsutsayeva AA, Volina VV, Sokol LV, Zhulikov OA. Effect of human cord blood leukoconcentrate on skin regenerative activity in culture in vitro. *Problems of Cryobiology*. 2009; 19(1): 93–9.
 97. Vankadari N, Wilce JA. Emerging WuHan (COVID-19) coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26. *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9(1): 601–4.
 98. Wang Q, Qiu Y, Li J–Y, et al. A unique protease cleavage site predicted in the spike protein of the novel pneumonia coronavirus (2019-nCoV) potentially related to viral transmissibility. *Virology*. [Internet]. 2020 Mar 20 [cited 2020 May 15]: 1–3. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12250-020-00212-7>.



85. Ward P, Higenbottam T, Gabbay F, et al. 'COVID-19 vaccine and antiviral drug development'. Faculty of pharmaceutical medicine blog [Internet]. 08 April 2020 [cited 2020 May 15]. Available from: <https://www.fpm.org.uk/blog/covid-19-vaccine-and-antiviral-drug-development>.
86. Watanabe Y, Berndsen ZT, Raghwani J, et al. Vulnerabilities in coronavirus glycan shields despite extensive glycosylation. *Nat Commun* [Internet]. 2020 May 27 [cited 2020 May 28]; 11(1): 2688. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-16567-0>.
87. Wei H, Li Z, Hu S, et al. Apoptosis of mesenchymal stem cells induced by hydrogen peroxide concerns both endoplasmic reticulum stress and mitochondrial death pathway through regulation of caspases, p38 and JNK. *J Cell Biochem*. 2010; 111(4): 967–78.
88. Weiss SR, Navas-Martin S. Coronavirus pathogenesis and the emerging pathogen severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2005; 69 (4): 635–64.
89. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 2020; 367(6483): 1260–3.
90. Wu R, Wang L, Kuo HD, et al. An update on current therapeutic drugs treating COVID-19. *Curr Pharmacol Rep*. [Internet]. 2020 May 11 [cited 2020 May 15]:1-15. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs40495-020-00216-7>.
91. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the chinese center for disease control and prevention. *JAMA*. 2020; 323(13): 1239–42.
92. Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*. 2020; 8(4): 420–2.
93. Yang TJ, Chang YC, Ko TP, et al. Cryo-EM analysis of a feline coronavirus spike protein reveals a unique structure and camouflaging glycans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020; 117(3): 1438–46. d
94. Yusuf H, Kett V. Current prospects and future challenges for nasal vaccine delivery. *Hum Vaccin Immunother*. 2017; 13(1):34–45.
95. Zhang H, Zhou P, Wei Y, et al. Histopathologic changes and SARS-CoV-2 immunostaining in the lung of a patient with COVID-19. *Ann Intern Med*. 2020 May 5;172(9): 629–32.
96. Zhou G, Zhao Q. Perspectives on therapeutic neutralizing antibodies against the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Int J Biol Sci*. 2020;16(10): 1718–23.
97. Ziegler CGK, Allon SJ, Nyquist SK, et al. SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell*. 2020; 181(5): 1016–35.

