

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

КРЮКОВА НАДЕЖДА ОЛЕГОВНА

СОСТОЯНИЕ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА РЕСПИРАТОРНОЙ
СИСТЕМЫ У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19

3.1.29. Пульмонология

3.2.7. Иммунология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

Доктор медицинских наук, профессор
Баранова Ирина Александровна

Член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук, профессор
Костинов Михаил Петрович

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВЕДЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Актуальность изучения мукозального иммунитета респираторной системы..	13
1.2. Современный взгляд на мукозальный иммунитет респираторной системы....	15
1.3. Роль мукозального иммунитета респираторной системы при COVID-19.....	23
1.3.1. Гуморальный иммунитет при COVID-19.....	24
1.3.2. Роль клеточного иммунитета при COVID-19.....	26
1.4. Мукозальный иммунитет, перспективы создания вакцин против COVID-19..	29
1.5. Возможности применения и потенциальная эффективность бактериальных лизатов в условиях пандемии COVID-19.....	31
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	35
2.1. Дизайн исследования.....	35
2.2. Материалы исследования.....	39
2.3. Методы исследования.....	42
2.3.1. Клинический осмотр.....	42
2.3.2. Оценка последствий перенесенного заболевания COVID-19.....	44
2.3.3. Оценка частоты и тяжести течения острых респираторных инфекций и обострений хронических заболеваний ЛОР-органов.....	48
2.3.4. Забор биологического материала.....	48
2.3.5. Иммунологические исследования.....	50
2.3.6. Назначение препарата на основе бактериальных лизатов	54
2.3.7. Статистический анализ.....	54
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	56
3.1. Одномоментное поперечное исследование мукозального иммунитета респираторной системы и фагоцитарной активности лейкоцитов крови у медицинских работников, перенесших и не переносивших COVID-19.....	56
3.1.1. Общая характеристика группы.....	56
3.1.2. Результаты лабораторных исследований.....	63
3.1.2.1. Исследование гуморального звена адаптивного иммунитета.....	64

3.1.2.2. Исследование фагоцитарной активности лейкоцитов.....	69
3.2. Проспективное открытое контролируемое исследование в параллельных группах по оценке эффективности и безопасности применения бактериальных лизатов у медицинских работников, перенесших COVID-19, и неболевших в течение одного года.....	74
3.2.1. Общая характеристика группы.....	74
3.2.2. Оценка эффективности применения бактериальных лизатов с целью иммунореабилитации медицинских работников, перенесших COVID-19.....	77
3.2.2.1. Клиническая эффективность.....	77
3.2.2.2. Оценка влияния бактериальных лизатов на иммунологические параметры у медицинских работников, перенесших COVID-19.....	80
3.2.3. Оценка эффективности применения бактериальных лизатов в качестве метода иммунопрофилактики лиц, не переносивших COVID-19.....	87
3.2.3.1. Клиническая эффективность.....	87
3.2.3.2. Оценка влияния бактериальных лизатов на иммунологические параметры у медицинских работников, не переносивших COVID-19.....	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	94
ВЫВОДЫ.....	102
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	104
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	105
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	109
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	111

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), на декабрь 2023 года в мире зарегистрировано около 800 миллионов подтвержденных случаев заболевания новой коронавирусной инфекцией (COVID-19, Coronavirus disease 2019), из которых более 6,5 миллионов завершились летальным исходом (World Health Organization, 2023). Несмотря на окончание пандемии, появляются новые высоко трансмиссивные штаммы, остаются малоизученными долгосрочные последствия COVID-19 (Flores-Vega V.R. et al., 2022).

Высокие показатели заболеваемости COVID-19 среди медицинских работников (Spilchuk V., 2022, Rafferty AC, 2021) обусловлены контактами с пациентами не только с подтвержденной инфекцией, но и находящимися в инкубационном периоде или имеющими субклиническое течение заболевания (Dzinamarira T. et al. 2021). Последние исследования показали значительное снижение иммуногенности современных вакцин против новых вариантов SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2) в сравнении с уханьским и дельта штаммами (Araf Y. et al., 2022; Shrestha L.B. et al., 2022).

С момента появления первых случаев COVID-19 в 2019 году было проведено множество исследований, посвященных изучению роли иммунной системы в патофизиологии заболевания, вызванного SARS-CoV-2, клинических проявлений, терапевтических и профилактических подходов (Chowdhury M.A. et al., 2020, Schultze J.L. et al., 2021). Основную роль в предотвращении инфицирования и развития респираторного заболевания играет мукозальный иммунитет дыхательных путей (Focosi D. et al, 2022, Чучалин А.Г. и др., 2022). Состояние мукозального иммунитета респираторной системы у лиц, перенесших COVID-19, в настоящее время остается малоизученным.

Подходы к созданию эффективной защиты против вновь возникающих инфекционных заболеваний должны включать мероприятия по усилению

неспецифического и формированию специфического мукозального иммунного ответа респираторной системы (Alu A., 2022). Исследования клеточного звена врожденного иммунитета у лиц, перенесших COVID-19, показали нарушения фагоцитарной функции лейкоцитов крови, а также слизистых оболочек дыхательных путей (Schulte-Schrepping J., 2020; Agafonova E., 2022), в связи с чем, актуальной остается проблема иммунореабилитации медицинского персонала, перенесшего COVID-19, работающего в условиях высокой инфекционной нагрузки.

Степень научной разработанности темы

Согласно результатам исследований, у лиц, перенесших COVID-19, описаны дисфункция врожденного звена иммунного ответа и дефекты в регуляции мукозального иммунитета респираторной системы: снижение противомикробной активности нейтрофилов в ранний период реконвалесценции, нарушения фагоцитарной функции лейкоцитов в назальных смывах (Terpos E., 2020; Schulte-Schrepping J. 2020; Zhou R. 2020; Yang D.; 2022; Agafonova E., 2022).

Некоторые исследования были посвящены оценке уровней специфического секреторного иммуноглобулина А (secretory immunoglobulin A, sIgA) и иммуноглобулина G (immunoglobulin G, IgG) против SARS-CoV-2 у лиц, перенесших COVID-19, в различных биологических жидкостях: в слюне, секрете слезных желез, грудном молоке, смывах носовой полости (Isho B., et al., 2020, Bobik T.V. et al., 2021).

У большой группы пациентов с COVID-19 обнаружена взаимосвязь между дисфункцией иммунных механизмов и стойкими системными симптомами, совокупность которых ВОЗ определила понятием «постковидного синдрома». В качестве основных звеньев патогенеза рассматривались персистирующая инфекция (Low R.N., 2020, Jacobs J.J.L., 2021), синдром активации тучных клеток (Afrin L.B., 2020, Kazama I., 2020), формирование аутоантител с развитием органной дисфункции (Yong S.J., 2021, Galeotti C., 2020).

Было доказано влияние перорального применения лизатов условно-патогенных бактерий дыхательных путей (ОМ-85) на снижение экспрессии рецептора ангиотензинпревращающего фермента 2 типа (АПФ 2) и сериновой протеазы эпителиальных клеток бронхов, что приводило к ингибированию проникновения вируса и инфицирования эпителиальных клеток SARS-CoV-2 (Pivniouk V., 2021, Grifoni A., 2020).

В доступной литературе было найдено ограниченное количество работ, посвященных изучению нарушений фагоцитарной активности лейкоцитов в постковидном периоде. В настоящее время остается малоизученным состояние гуморального звена мукозального иммунитета дыхательных путей в зависимости от тяжести заболевания в различных локусах верхних и средних отделов дыхательных путей, включая образцы индуцированной мокроты. Исследования взаимосвязи проявлений постковидного синдрома и показателей фагоцитарной активности лейкоцитов на системном и локальном уровнях слизистых оболочек дыхательных путей, а также уровнями общих sIgA и IgG респираторной системы ранее не проводились.

Отсутствуют данные о применении назально-оральных форм препаратов на основе бактериальных лизатов на возможность предотвращения заболевания новой коронавирусной инфекцией и другими острыми респираторными инфекциями в условиях пандемии COVID-19, а также не были изучены изменения фагоцитарной активности лейкоцитов и мукозального иммунитета при иммунореабилитации переболевших лиц.

Цель исследования

Разработать подходы по иммунореабилитации и иммунопрофилактике с использованием отечественного препарата бактериального происхождения на основании изучения мукозального иммунитета и фагоцитарной активности лейкоцитов у медицинских работников в период пандемии COVID-19.

Задачи исследования

1. Оценить клинический статус и качество жизни у медицинских работников, перенесших COVID-19 различной степени тяжести.
2. Выявить взаимосвязь между тяжестью течения COVID-19 и показателями мукозального иммунитета (sIgA, IgG) и фагоцитарной активности лейкоцитов в различных отделах респираторного тракта у медицинских работников.
3. Оценить клиническую и иммунологическую эффективность иммунокорригирующего препарата на основе бактериальных лизатов в иммунореабилитации медицинских работников, перенесших COVID-19.
4. Исследовать влияние препарата на основе бактериальных лизатов на частоту заболевания острыми респираторными инфекциями, показатели мукозального иммунитета дыхательных путей и фагоцитарной активности в группах медицинских работников, не переносивших COVID-19.

Научная новизна результатов исследования

Впервые выявлены изменения показателей гуморального звена адаптивного иммунитета на локальном уровне различных локусов слизистых оболочек респираторного тракта у лиц, перенесших COVID-19, в зависимости от тяжести течения заболевания.

Впервые определены пониженные показатели противомикробной активности лейкоцитов верхних отделов слизистых дыхательных путей, а также повышение продукции активных форм кислорода и снижение резерва бактерицидной активности крови у лиц с тяжелой формой новой коронавирусной инфекции спустя четыре и более месяцев после перенесенного заболевания.

Впервые было показано положительное влияние препарата на основе бактериальных лизатов на уровни sIgA на участках слизистых верхних и нижних отделов дыхательных путей, показатели фагоцитарных индексов лейкоцитов в слюне и в фарингеальных соскобах у лиц в постковидном периоде.

Была доказана клиническая эффективность применения препарата на основе

бактериальных лизатов в условиях пандемии, а именно: снижение частоты острых респираторных инфекций и их тяжести в группах медицинских работников, перенесших и не переносивших COVID-19 в течение одного года наблюдения.

Теоретическая и практическая значимость работы

В группе лиц, перенесших заболевание в тяжелой форме, определялось повышение продукции активных форм кислорода нейтрофилами, что отражало избыточную активацию врожденных механизмов иммунного ответа, которые вносят вклад в развитие окислительного стресса и иммуотромбоза. Выявлена дисфункция фагоцитарной активности лейкоцитов на системном (снижение индекса активации нейтрофилов) и локальном (снижение фагоцитарных индексов лейкоцитов) уровнях верхних дыхательных путей.

Были выявлены изменения гуморального звена мукозального иммунного ответа дыхательных путей у медицинских работников, перенесших тяжелое и среднетяжелое течение COVID-19. В течение трех и более месяцев отмечались высокие уровни общих sIgA и IgG слизистых оболочек различных локусов дыхательных путей.

Была показана клиническая и иммунологическая эффективность одного из отечественных препаратов на основе бактериальных лизатов в виде назально-орального приема: отмечалось положительное влияние на параметры мукозального иммунитета дыхательных путей и некоторых показателей системной фагоцитарной активности лейкоцитов у медицинских работников, перенесших COVID-19, было показано уменьшение частоты развития и степени тяжести острых респираторных инфекций (ОРИ) в группах медицинских работников как перенесших COVID-19, так и неболевших.

Методология и методы исследования

Работа проводилась на базе ГБУЗ «ГКБ им. Д.Д. Плетнева ДЗМ» с октября

2020 г. по июнь 2022 г. В одномоментное исследование было включено 183 медицинских сотрудника, перенёсших и не переносивших COVID-19, в проспективное – 82 медицинских работника. Использовались стандартные современные методы обследования (сбор анамнеза, физикальный осмотр, анкетирование, оценка индекса коморбидности). Иммунологические исследования проводились на базе ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» с использованием методов иммуноферментного анализа и проточной цитофлюометрии. В проспективном исследовании использовали комбинированную назально-оральную форму препарата на основе бактериальных лизатов. Статистический анализ проводился с применением пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 23 (США) с использованием параметрических и непараметрических методов.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. У медицинского персонала, перенесшего COVID-19, спустя длительное время ($146,4 \pm 64,7$ дней) выявляются изменения не только в клиническом статусе, но в параметрах мукозального иммунитета респираторной системы и фагоцитарной активности лейкоцитов.

2. Назначение иммунокорригирующей терапии бактериальными лизатами у медицинского персонала в постковидном периоде способствует уменьшению частоты развития респираторных инфекций в течение года, а также восстановлению показателей мукозального иммунитета.

3. У медицинских работников групп высокого риска инфицирования целесообразно проведение иммунопрофилактики респираторных инфекций препаратами на основе бактериальных лизатов в период эпидемиологически неблагоприятных условий.

Степень достоверности и апробация результатов

Научные положения и практические рекомендации основаны на изучении и анализе достаточного объема клинического материала. Методы исследования полностью соответствуют поставленным задачам. Степень достоверности результатов подтверждается использованием общепринятых методов исследования, а также современными способами статистической обработки полученного материала согласно требованиям медико-биологической статистики. Выводы аргументированы и вытекают из результатов проведенного исследования.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на XXX, XXXI и XXXII Национальных конгрессах по болезням органов дыхания (г. Москва, 2021, 2022, 2023 гг.); междисциплинарной научно-практической конференции молодых учёных «Новая коронавирусная инфекция. Опыт диагностики, лечения и профилактики» (г. Москва, 2021 г.); European Respiratory Society International Congress (г. Мюнхен, Германия, 2021 г.); 20th European Respiratory Society Lung Science Conference (г. Эшторил, Португалия, 2022 г.); Первом международном конгрессе «Медицинская реабилитация: научные исследования и клиническая практика» (г. Санкт-Петербург, 2022 г.); международной научно-практической конференции «Life after COVID-19» (г. Алматы, Казахстан, 2022 г.); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы профилактики инфекционных и неинфекционных болезней: эпидемиологические, организационные и гигиенические аспекты» (г. Москва, 2022 г.); III Международной научно-практической конференции по вопросам противодействия новой коронавирусной инфекции и другим инфекционным заболеваниям (г. Санкт-Петербург, 2022 г.).

Внедрение в практику

Результаты научно-исследовательской работы внедрены в работу

консультативно-диагностического, терапевтического и пульмонологического отделений ГБУЗ «ГКБ им. Д.Д. Плетнева ДЗМ» (главный врач Демидов А.В.), а также ООО «Центр лазерной медицины» (директор, д.м.н., проф. Соловьева И.Л.), а также используются во время обучения студентов, ординаторов, аспирантов, слушателей курсов повышения квалификации на кафедрах госпитальной терапии педиатрического факультета (зав. кафедрой – академик РАН, д.м.н., профессор Чучалин А. Г.) и пульмонологии факультета дополнительного профессионального образования (зав. кафедрой - д.м.н., профессор Белевский А.С.) ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспортам специальностей 3.1.29. Пульмонология и 3.2.7. Иммунология. Результаты исследования соответствуют области исследования специальности, а именно пунктам 1, 2, 3, 4, 5 паспорта научной специальности пульмонология (медицинские науки) и пунктам 2, 3, 6, 7, 9 паспорта научной специальности иммунология (медицинские науки).

Личный вклад автора

Автор выполнил набор группы медицинских работников с последующим анализом критериев включения и невключения, исследовал клинические и функциональные характеристики респираторной системы, проводил заборы биологических образцов, оценивал результаты опросников и шкал, провел анализ лабораторных и инструментальных методов исследований, проводил мониторинг клинического состояния, развития ОРВИ и других нежелательных явлений у медицинских работников в течение одного года. Статистическая обработка, написание диссертации и автореферата проведены лично автором.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, из них 4 в рецензируемых научных изданиях, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата медицинских наук.

Объем и структура диссертации

Научная работа изложена на 127 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, представления результатов исследования и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, а также списка литературы. Библиографический указатель содержит 33 отечественных и 128 зарубежных источников. Работа содержит 27 таблиц и иллюстрирована 5 рисунками. Диссертация изложена на русском языке.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Актуальность изучения мукозального иммунитета респираторной системы

Глобальное бремя заболеваемости и смертности от респираторных инфекций в настоящее время по-прежнему остается недопустимо высоким [115, 88]. Пандемия COVID-19 стала напоминанием о постоянно существующей угрозе возникновения новых болезней, ассоциированных с несовершенством механизмов защиты слизистых оболочек дыхательных путей [85].

Известно, что иммунный ответ на локальном уровне играет ключевую роль в обеспечении первой линии защиты человека. Входными воротами для респираторных патогенов являются слизистые оболочки верхних дыхательных путей. Усиление механизмов мукозального иммунитета является приоритетной задачей для обеспечения защиты от вновь возникающих инфекционных заболеваний [140].

Вспышка инфекции, вызванная новой коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2, была зарегистрирована в конце 2019 года в городе Ухань. Позже в 2020 году ВОЗ оценила степень распространения инфекционного процесса как пандемию, которая длилась на протяжении трех с половиной лет. Течение заболевания COVID-19 варьирует от бессимптомного носительства и легких форм до тяжелого и крайне тяжелого [143]. Большинство исследований посвящено изучению гуморального иммунного ответа на системном уровне, в то время как данных о роли мукозального иммунитета при новой коронавирусной инфекции недостаточно. SARS-CoV-2 относится к зооантропонозам, и в настоящее время он продолжает активно распространяться в человеческой популяции.

Особую озабоченность вызывает эволюционирование вируса в новые штаммы за счет мутаций, способствующих повышению трансмиссивности инфекции, а также потенциальному «ускользанию» вируса от иммунного ответа организма [83]. Новые варианты содержат мутации в шиповидном белке -

основной мишени нейтрализующих антител, которые выделяются плазматическими клетками в результате вакцинации или после перенесенного заболевания [79]. К трудновыполнимым задачам, нацеленным на сдерживание пандемии, относятся выявление и установление эпидемиологического контроля над бессимптомными носителями вируса [38].

SARS-CoV-2 в первую очередь поражает верхние дыхательные пути. Мукозальный иммунный ответ индуцируется в назофарингеальной области при участии эпителиальных клеток и посредством локальных образований, которые относятся к лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой носоглотки. Инфицирование также происходит путем проникновения вируса через конъюнктиву глаз, откуда возбудитель попадает в носовые ходы через слезный проток. Вероятна инициация иммунного ответа в слезном протоке и в ротовой полости, однако роль этих участков слизистой в патогенезе развития заболевания у человека в настоящее время изучена недостаточно [117, 29].

Проникновение вируса SARS-CoV-2 в эпителиальную клетку происходит посредством рецептора АПФ-2 [97, 159]. W. Sungnak et al. было обнаружено, что, несмотря на низкий уровень экспрессии данного рецептора в дыхательных путях в целом, в некоторых типах эпителиальных клеток, включая бокаловидные клетки, определенные кластеры клеток реснитчатого эпителия и эпителиоцитов носа, был выявлен наиболее высокий уровень его экспрессии. Кроме того, бокаловидные экзокриноциты и клетки реснитчатого эпителия слизистой носа имеют особую восприимчивость к вирусу SARS-CoV-2 за счет обильной коэкспрессии активирующего фермента сериновой протеазы transmembrane protease, serine 2 (TMPRSS2), необходимого для проникновения вируса в клетку [128]. Доказано, что TMPRSS2 имеет высокий уровень экспрессии и в альвеолоцитах II типа [70]. Установленная связь anosмии с COVID-19 также позволяет предположить, что слизистая оболочка носа является основным местом проникновения инфекции и играет решающую роль в инфицировании и дальнейшем развитии вирусного заболевания [49].

Пандемия COVID-19 послужила стимулом к более глубокому изучению

механизмов мукозального иммунного ответа. На сегодняшний день сохраняется необходимость в разработке новых и оценке эффективности существующих неспецифических защитных мер, направленных на локальный иммунитет слизистых оболочек и сдерживание дальнейшей передачи мутировавших вариантов вируса. Терапевтические подходы по профилактике и иммунореабилитации, нацеленные на усиление мукозального иммунитета слизистых дыхательных путей, привлекают все большее внимание исследователей [12, 19, 18, 16].

1.2. Современный взгляд на мукозальный иммунитет респираторной системы

Слизистые оболочки, выстилающие респираторный, пищеварительный и мочеполовой тракты, а также конъюнктиву глаза, внутреннее ухо и протоки всех экзокринных желез наделены мощными механическими и химическими факторами защиты. Обширные и высокоспециализированные врожденные и адаптивные механизмы иммунной системы защищают слизистые, а значит и внутреннюю среду организма от агрессивных воздействий окружающих факторов [98]. Дыхательные пути представляют собой сложную систему, которая способствует насыщению крови кислородом, газообмену и одновременно образует физический и иммунологический барьер между внешней средой, кровью и тканями.

Понятие местного иммунитета в настоящее время включает совокупность реагирования иммунных клеток лимфоидного и миелоидного ряда, заселяющих слизистые оболочки, совместно с клетками соединительной и эпителиальной тканей, а также микро-биоценозы, которые в совокупности можно рассматривать как интегральную структурно-функциональную систему организма [5].

Иммунная система слизистых оболочек выполняет четыре основные функции: 1) защита от патогенных микроорганизмов (бактерицидная функция); 2) создание барьера против проникновения инфекционных и иммуногенных

агентов, присутствующих на слизистой оболочке, в кровь и, таким образом, во внутреннюю среду организма (барьерная функция); 3) низкая реактивность на «безобидные» антигены, присутствующие на поверхности слизистых оболочек; 4) поддержание гомеостаза (иммунорегуляторная функция) [71, 130].

Иммунитет слизистых оболочек реализуется через единую структурированную и высокоспециализированную систему, получившую название «мукозо-ассоциированная лимфоидная ткань» (МАЛТ), состоящую из специализированных эпителиальных клеток, лимфоидных структур и иммунных молекул, расположенных в подслизистой основе [87]. МАЛТ является многоуровневой системой и размещена «поэтажно» в зависимости от анатомического расположения клеток той или иной барьерной ткани. Выделяют лимфоидную ткань, ассоциированную с: носоглоткой, евстахиевой трубой, ухом; носовой и ротовой полостью, ротоглоткой, конъюнктивой; трахеей, бронхами, лёгкими, грудными железами (у женщин); гастроинтестинальной системой – пищеводом, желудком, кишечником; урогенитальным трактом и кожей.

МАЛТ – это самая большая часть иммунной системы, где на общей площади 400 м² (100 м² для легких, исключая бронхиальное дерево) располагаются около 50% иммунокомпетентных клеток как врожденного, так и приобретенного иммунитета [12, 14, 13, 109]. В собственной пластинке слизистой оболочки располагаются организованные лимфоидные структуры в виде одиночных фолликулов. Они имеют в своем составе Т- и В-клеточные зоны, содержат дендритные клетки и макрофаги. Среди плазмочитов преобладают клетки, продуцирующие IgA [59].

Адаптивная иммунная система барьерных тканей тесно связана с регионарными лимфатическими образованиями (глоточными, небными, язычными миндалинами и другими). Антигенпрезентирующие клетки и антиген-реактивные Т- и В-лимфоциты поступают в лимфу, затем в лимфатические узлы и системный кровоток, в дальнейшем мигрируют в собственную пластинку слизистой оболочки. Направленная миграция осуществляется с помощью гуморальных факторов (интегрин $\alpha 4\beta 7$, хемокиновый рецептор C-C chemokine

receptor type 9 (CCR9) и др.), а точками прикрепления являются хоминг-рецепторы клеток тканей [83]. В норме при отсутствии воспаления лимфоциты мигрируют предпочтительно в ту ткань, где впервые был обнаружен антиген: их хоминг-рецепторы специфичны к лигандам, находящимся на определенном участке слизистой оболочки [51]. Подобное взаимодействие обеспечивает единство всех структур МАЛТ, и «переключает» иммунный ответ с локального уровня на системный.

Врожденные и адаптивные механизмы мукозального иммунного ответа

Врожденные и адаптивные механизмы иммунного ответа слизистых оболочек представляет собой две взаимодействующие части иммунной защиты.

Функция врожденного иммунитета осуществляется через разнообразные клеточные элементы (макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы, тучные клетки, эозинофилы, базофилы, НК-клетки (Natural killer cells), некоторые гемопоэтические клетки) и гуморальные факторы (естественные антитела, цитокины, комплемент, белки острой фазы, катионные противомикробные пептиды, лизоцим и др.). При обнаружении патогена клетки запускают врожденные реакции, включающие выработку активных форм кислорода и антимикробных пептидов, фагоцитоз, формирование нейтрофильных ловушек и другие [86, 64, 137]. Врожденный иммунный ответ является первой линией защиты от респираторных инфекций и основан на быстрой активации паттерн-распознающих рецепторов (Patternrecognition receptors, PRRs), экспрессируемых на иммунных и неиммунных клетках организма [116]. Они распознают консервативные, общие для многих микроорганизмов структуры, так называемые патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (Pathogen-associated molecular patterns, PAMP). В последние годы активно изучаются структуры и функции Toll-подобных (Toll-like receptors, TLRs), Nod-подобных 1 и 2 типов (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors, NLR-1, NLR-2), внутриклеточных RIG-подобных (RIG-like receptors, RLRs) и других рецепторов. В процессе активации механизмов врожденного иммунитета иммунная память не формируется.

Ключевую роль в реакциях адаптивного иммунитета выполняют субпопуляции Т- и В-лимфоцитов, распознающие антигены с помощью клональных антигенраспознающих рецепторов (T-cell receptor, TCR; B-cell receptor, BCR) что в дальнейшем опосредует киллинг патогенов, продукцию специфичных антител и формирование клеток памяти.

Реализация того или иного типа иммунного ответа зависит от природы антигена, его локализации по отношению к клетке, концентрации антигена, направления дифференцировки Т-хелперов. Известно, что клеточный тип иммунного ответа реализуется на вирусные, опухолевые, внутриклеточные патогены, в то время как на аллергены, антигены бактерий - гуморальный иммунный ответ. При поступлении антигена через слизистые оболочки развивается гуморальный иммунный ответ с участием sIgA [71].

Имуноглобулины слизистых оболочек

Секреторный иммуноглобулин класса А является основным изотипом антител иммунной системы слизистых [20]. Он вырабатывается в количестве, значительно превышающем другие изотипы иммуноглобулинов [108]. IgA является гетерогенным изотипом иммуноглобулинов и встречается в трех молекулярных формах – секреторной, полимерной и мономерной. Молекула IgA представлена двумя подклассами (IgA1 и IgA2), а также в виде многочисленных гликоформ [99], что определяет значимые различия в их физиологических функциях, частично обусловленных местом их образования [134].

В то время как циркулирующий IgA в основном представлен в виде мономерной формы и состоит преимущественно из подкласса IgA1, секреторный IgA является полимером и состоит из различных пропорций IgA1 и IgA2 подклассов [127]. Например, в секрете носовой полости содержится от 80 до 90%, а в слюне около 60% первого подкласса sIgA [147].

Образование молекулы sIgA происходит следующим образом: в субэпителии слизистых оболочек и связанных с ними железах плазматические клетки продуцируют полимерный IgA, который перемещается через эпителий

благодаря иммуноглобулиновому рецептору (polymeric immunoglobulin receptor, pIgR). В это время часть рецептора связывается с IgA и затем расщепляется с образованием молекулы sIgA. Фрагмент рецептора, называемый секреторным компонентом, необходим для поддержания стабильности молекулы sIgA [87, 39].

Известно, что sIgA эффективны против различных видов патогенов, включая вирусы, благодаря таким механизмам, как нейтрализация, подавление адгезии к поверхности слизистой и инвазии в эпителиальные клетки [99], также описаны внутриклеточные механизмы ингибирования репликации вируса [42].

На поверхностях слизистых оболочек верхних дыхательных путей также обнаруживаются IgG и иммуноглобулины класса М (immunoglobulin M, IgM), проникающие в основном из системного кровотока путем пассивного перемещения в области эпителия десневой борозды, однако некоторые из них синтезируются локально [48]. Известно, что данные классы иммуноглобулинов обладают высоким аффинитетом, участвуют в привлечении фагоцитов и натуральных киллеров, активируют систему комплемента, блокируют активные центры патогенов и нейтрализуют токсины [32].

Мерцательный эпителий и мукоцилиарный клиренс

В настоящее время общепризнано, что клетки, выстилающие дыхательные пути, представляют собой нечто большее, чем барьер между внешней средой и нижележащей мезенхимой. Специализированные эпителиальные клетки реагируют на микроорганизмы и повреждающие агенты, которые преодолевают мукоцилиарный барьер, взаимодействуя с клетками иммунной системы с целью поддержания гомеостаза, и способствуя развитию иммунных реакций [77].

Респираторный тракт представляет собой сложную систему, разделенную на верхние (носовая полость, глотка, гортань), нижние дыхательные пути (трахея, бронхи, бронхиолы) и респираторную зону (дыхательные бронхиолы и альвеолы). Каждая область имеет определенную функцию, обусловленную региональными различиями в клеточном составе. Дыхательные пути выстилают реснитчатые и секреторные клетки, покрытые жидким слоем, содержащим поверхностно-

активные вещества, слизь и перицилиарную жидкость, которые, в первую очередь, способствуют осуществлению мукоцилиарного клиренса твердых частиц и инфекционных патогенов. Реснитчатые клетки составляют более половины всех эпителиоцитов. На их апикальной части расположено около 200 ресничек, которые ритмично и скоординировано колеблются, что приводит к движению бронхиального секрета по направлению к верхним дыхательным путям [125].

Наряду с лимфоидной тканью, ассоциированной со слизистыми оболочками, реснитчатый эпителий относится к врожденным факторам иммунной защиты и выполняет следующие функции: распознавание патогенов с помощью паттерн-распознающих рецепторов; секрецию цитокинов, интерферонов, противомикробных пептидов и другие; регуляцию адаптивного иммунитета, опосредуемую цитокинами: интерлейкином 33 (interleukin, IL), тимическим стромальным лимфопоэтином, IL-25. В каждой анатомической нише имеются популяции клеток-предшественников: базальные клетки в дыхательных путях и альвеолярные клетки 2 типа в альвеолах, которые обеспечивают регенерацию эпителия как в естественных условиях, так и при повреждении [40].

Методы секвенирования одноклеточной РНК изменили представления о клеточном разнообразии эпителия дыхательных путей, что не удавалось ранее обнаружить с помощью микроскопии и фенотипирования клеток [141]. Помимо эпителиоцитов над местами скопления лимфоидных фолликулов определяются специализированные микро-складчатые клетки (М-клетки) [33]. Они лишены слоя слизи, который покрывает другие клетки эпителия. М-клетки захватывают и активно транспортируют микроорганизмы и другой антигенный материал в нижележащие лимфоидные структуры. Во внеклеточном пространстве лимфоидных фолликулов антиген поглощается антигенпрезентирующими клетками с дальнейшей его обработкой и представлением иммунокомпетентным клеткам [28]. Большой интерес для современной иммунологии представляют легочные нейроэндокринные клетки (pulmonary neuroendocrine cells, PNEC), которые располагаются в поверхностном эпителии трахеи, бронхов и бронхиол. Они также могут быть представлены в виде образований, называемых

нейроэндокринными тельцами, которые располагаются во внутрилегочных дыхательных путях. PNEC функционируют как хемосенсоры и реагируют на изменение концентрации кислорода, растяжение и химические раздражители. Они являются богатым источником нейропептидов и нейротрансмиттеров, опосредующих иммунные и физиологические реакции [47].

Исследования образцов аутопсии пациентов с COVID-19 и экспериментальное заражение тканевых эксплантатов задокументировали репликацию SARS-CoV-2 преимущественно в эпителии дыхательных путей и в альвеолах легких [152, 73]. Было выявлено, что инфицированию подвергаются, в первую очередь, реснитчатые клетки [72, 104], что приводит к их повреждению, потере реснитчатого слоя и нарушению плотных межклеточных контактов [161].

Микробиота

Ротовая полость является основным путем проникновения возбудителей респираторных инфекций. Различные микроорганизмы, в том числе бактерии, грибы, вирусы, археи, колонизируются на слизистых оболочках и называются микробиотой полости рта [154]. Температура (37°C), pH слюны (6,5-7,0) и влажность полости рта создают оптимальное микроокружение для выживания и поддержания жизнедеятельности микроорганизмов [62]. Бактериальные и грибковые сообщества составляют первичную микробиоту полости рта. Шесть штаммов бактерий, включая *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes* и *Fusobacteria*, составляют 94% сообщества бактерий полости рта; основная популяция грибов включает виды *Candida*, *Cladosporium spp.*, *Aureobasidium spp.* и *Saccharomycetales* [157].

Длительное время существовало мнение о стерильном состоянии легочной ткани у здоровых людей, однако разработка технологии секвенирования генома доказала, что в дыхательных путях существуют многочисленные и разнообразные микробные сообщества [53, 106]. Двухнаправленный перекрестный обмен биологическими данными между микробиомом легких и иммунной системой хозяина играет фундаментальную роль в поддержании иммунного гомеостаза

легочной ткани и дыхательных путей. С одной стороны, микробиота влияет на «созревание» иммунной системы хозяина, продуцируя многочисленные структурные лиганды и метаболиты (такие как липополисахариды, пептидогликаны и короткоцепочечные жирные кислоты). С другой стороны, врожденные и адаптивные иммунные механизмы оказывают влияние на микробиом путем формирования биофизических барьеров, секреции иммуноглобулина А, продукции антимикробных пептидов и распознавания резидентных и патогенных микроорганизмов [151].

Исследование микробиоты представляет интерес в контексте изучения патофизиологии инфекционного процесса при COVID-19. Ren et al. проанализировали данные метатранскриптома 588 образцов мазков ротоглотки больных и умерших от COVID-19, а также 95 здоровых добровольцев и обнаружили, что микробиота верхних дыхательных путей (ВДП) значительно различалась между выздоровевшими и умершими пациентами. Обилие *Streptococcus*, особенно *S. parasanguinis*, было ассоциировано с высоким риском смертности [114].

Антимикробные пептиды

Антимикробные пептиды (АМП) являются ключевыми элементами врожденной иммунной защиты против широкого спектра антигенов, включая бактерии, грибы, одноклеточные простейшие, а также вирусы [35]. Большинство антимикробных пептидов представляют собой олигопептиды из 5–100 аминокислот с положительным суммарным зарядом (от +2 до +11) и значительной долей (около 50%) гидрофобных остатков [57].

Противовирусные АМП обладают разнообразными механизмами действия против РНК- и ДНК-вирусов и могут быть разделены на следующие типы: 1) АМП, нацеленные на вирусную мембрану, которые элиминируют вирусы путем встраивания в оболочку, тем самым создавая нестабильность мембраны, что приводит к неспособности вируса инфицировать клетку-хозяина; 2) противовирусные АМП, нацеленные на адсорбцию вируса и ингибирующие

адгезию вируса к эпителиальной клетке и последующее его проникновение; 3) АМП, нацеленные на внутриклеточные компоненты [43].

Результаты исследования генов дефензинов в полости рта при заражении COVID-19 показали, их повышенную экспрессию в полости носо- и ротоглотки и значительное подавление генов бета 4А, 4В, 106В, 107В, 103А и дефензина альфа 1В у пациентов с инфекцией SARS-CoV-2 в сравнении с группой контроля. Снижение экспрессии генов этого пептида может свидетельствовать о нарушении функций врожденного иммунного ответа при инфекции SARS-CoV-2. Следовательно, активация экспрессии гена дефензина и использование его пептидов могут явиться одним из путей терапевтического воздействия при COVID-19 [124, 74].

1.3. Роль мукозального иммунитета дыхательных путей в контексте COVID-19

Во время первой и второй волн пандемии COVID-19 несмотря на как правило легкое и зачастую бессимптомное течение заболевания примерно у 14% пациентов развились тяжелые формы инфекции, около 5% заболевших находились в критическом состоянии, а общий уровень смертности составил 3,2% [148, 110]. Основными факторами риска тяжелого течения инфекции являются пожилой возраст и наличие хронических соматических заболеваний, также к неблагоприятным факторам относят курение, мужской пол и наличие ожирения [146]. Генетические варианты Toll-подобного рецептора 7, локус группы крови ABO и генного кластера 3p21.31 также были ассоциированы с тяжелыми формами COVID-19 [63].

Shi et al. (2020) описывают две фазы иммунных реакций в остром периоде COVID-19. Первая фаза характеризуется развитием локального иммунного ответа и легкими респираторными симптомами. При его недостаточности возникает вторая фаза иммунных реакций с развитием гипериммунного воспаления с повреждающим воздействием и значимыми клиническими проявлениями. Таким

образом, усиление иммунитета на первой фазе и подавление иммунного ответа во второй фазе могут явиться основой для терапевтических подходов к лечению COVID-19 [122].

1.3.1. Гуморальный иммунитет при COVID-19

Гуморальный иммунитет против SARS-CoV-2 активно изучался в основном на системном уровне у пациентов с новой коронавирусной инфекцией как в острую фазу, так и в период реконвалесценции. Известные на сегодняшний день серологические тесты нацелены на исследование иммуноглобулинов класса M и IgG к спайковому (S) и нуклеокапсидному (N) вирусным белкам. Тем не менее, протективные уровни антител для конкретных штаммов вируса до сих пор изучаются. Появление специфичных иммуноглобулинов сопровождается постепенным снижением вирусной нагрузки. Однако, известно, что сывороточные антитела могут нейтрализовать вирус в системном кровотоке, что не является достаточным для полной элиминации патогена.

В случае SARS-CoV-2 антитела sIgA предотвращают адгезию к целевым эпителиальным клеткам путем нейтрализации спайк-белка (и, таким образом, ингибируя его взаимодействие с рецептором АПФ2 [12]) или связываясь с нуклеокапсидным протеином SARS-CoV-2 [135]. Помимо этого, sIgA инициирует и регулирует процессы миелоидных иммунных ответов через Fc фрагмент рецептора IgA, определяемого в различных иммунных и эпителиальных клетках, что обуславливает обширность спектра эффекторных функций, включающих как гуморальные, так и клеточные реакции [135].

Несмотря на множество исследований, посвященных изучению гуморального иммунного ответа, некоторые факторы, определяющие синтез антител, специфичных для SARS-CoV-2, остаются не до конца изученными, как например: взаимосвязь с тяжестью течения COVID-19, продолжительностью заболевания, возрастом пациента и наличием сопутствующих заболеваний. Остаются также малоизученными данные об уровнях общих и SARS-CoV-2-

специфичных антител sIgA и IgG слизистых оболочек, и о соотношении их титров с тяжестью течения перенесенного COVID-19 [55].

Вирус-специфические антитела IgA в сыворотке крови выявляют у пациентов с COVID-19 в более ранние сроки (уже через два дня после появления первых симптомов), по сравнению с антителами классов IgM (через 5 дней) или IgG [66, 94]. Эти данные позволяют предположить, что IgA может быть первым классом антител, который синтезируется плазматическими клетками в ответ на внедрение вируса SARS-CoV-2. В опубликованных исследованиях сообщается о выявлении сывороточных и секреторных антител IgA к спайковым антигенам SARS-CoV-2 [76] и их обнаружении на протяжении трех месяцев после перенесенного заболевания. Wang Z. et al. определили, что уровни сывороточных IgA и IgG против SARS-CoV-2 коррелируют между собой, однако IgA были в два раза менее эффективны в нейтрализации вируса по сравнению с IgG. В свою очередь секреторная форма IgA слизистых оболочек к вирусу, была эффективнее сывороточного мономера, что определяется ее более выраженными нейтрализующими свойствами [144]. Была обнаружена значимая взаимосвязь между концентрациями антител IgM и IgG в сыворотке и в секрете слюнных желез, тогда как корреляция уровней IgA сыворотки крови и слюны была значительно слабее. Это объясняется тем, что IgM и IgG слюны в основном поступают из кровотока, в то время как IgA слюны прежде всего образуется в слюнных железах и локальных лимфоидных фолликулах в виде sIgA [48].

Cervia C. et al. показали значимое увеличение уровней сывороточных IgA и IgG к SARS-CoV-2 после появления симптомов у пациентов с тяжелой формой COVID-19 в сравнении с лицами с легким и среднетяжелым течением заболевания. Высокие показатели противовирусных сывороточных IgA коррелировали с развитием острого респираторного дистресс-синдрома [55]. У здоровых медицинских работников с отрицательными лабораторными маркерами перенесенной инфекции, специфичными для COVID-19, были выявлены IgA против SARS-CoV-2 в секретах слизистых носовой полости и слюны, которые в некоторых случаях, обладали способностью нейтрализовать вирус *in vitro* [55].

Xue M. et al. доказали значимую роль сывороточных IgA и IgG в защите от инвазии вируса SARS-CoV-2 и повреждении бронхиального и альвеолярного эпителия. Уровни данных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови могут быть использованы для оценки степени вовлечения легочной ткани в воспалительный процесс и для определения прогноза у пациентов с крайне тяжелым течением заболевания [149].

Недостаточность как локального, так и системного иммунного ответа проявляется повышенной восприимчивостью к респираторным инфекциям. Влияние дефицита IgA на развитие и тяжесть течения COVID-19 остается не до конца изученным. Учитывая защитную роль sIgA слизистой оболочки ВДП на ранних стадиях заражения SARS-CoV-2, ожидается, что дефицит sIgA увеличит риск инфицирования, способствуя проникновению вируса в нижние отделы дыхательных путей, развитию пневмонии [117].

1.3.2. Роль клеточного иммунитета при COVID-19

Врожденный иммунный ответ инициируется активацией клеточных рецепторов, которые обнаруживают вирусные компоненты. Однако было доказано, что вирус SARS-CoV-2 обладает способностью к уклонению от врожденных иммунных реакций [80]. Дисфункция врожденных иммунных механизмов при COVID-19 характеризуется снижением выработки интерферонов (interferons, IFNs) I типа и гиперсекрецией провоспалительных цитокинов, что приводит к повреждению органов и тканей и высокому риску смертности [156].

Клетки врожденного иммунитета могут инициировать иммунный ответ на вирусную инфекцию после обнаружения молекулярных паттернов, связанных с вирусом, с помощью рецепторов PRR. Активация ответов IFN I и III типов с последующим высвобождением провоспалительных цитокинов и хемокинов обеспечивает противовирусную защиту [54].

IFN I и III типов связываются с рецепторами, активируют интерферон-стимулируемые гены, предотвращают проникновение вируса и его репликацию,

привлекая иммунные клетки в инфицированный участок [119]. Активированный адаптивный иммунный ответ и провоспалительные цитокины способствуют элиминации вируса. Все больше исследований показывают, что у пациентов с тяжелым течением COVID-19 наблюдается нарушение регуляции иммунного ответа, что приводит к развитию гипериммунного воспаления [84]. Клетки врожденного иммунитета, такие как нейтрофилы, макрофаги и НК-клетки, играют важную роль в патогенезе цитокинового шторма. Повышенный уровень цитокинов в сыворотке, особенно IL-1, IL-6 и других провоспалительных цитокинов, указывает на то, что Toll-подобные рецепторы, определяющие PAMP, играют первоочередную роль в патогенезе ранней стадии инфекции [155, 107].

Многие исследования посвящены изучению дисфункции дендритных клеток при инфекции SARS-CoV-2, которая может являться одним из ключевых механизмов в развитии тяжелого течения инфекции [91]. В подтверждение этой гипотезы были получены данные о том, что SARS-CoV-2 негативно влияет на количество и функции дендритных клеток. Инфицирование SARS-CoV-2 дендритных клеток здоровых добровольцев, снижало жизнеспособность клеток на 10–20% через 24–72 часа после инокуляции вируса [150]. Также наблюдалось снижение количества дендритных клеток, в случаях тяжелого течения заболевания в периферической крови пациентов как в острой, так и в реконвалесцентной фазах инфекции SARS-CoV-2 (в среднем через 13 и 30 дней после появления симптомов, соответственно) [160]. Это свидетельствует о том, что SARS-CoV-2 может оказывать цитопатическое действие на дендритные клетки, вызывая уменьшение их количества. Таким образом, подавление функции дендритных клеток и нарушение передачи сигналов IFN в сочетании с нарушением активации адаптивных иммунных реакций, по-видимому, являются важными стратегиями «уклонения» SARS-CoV-2 от иммунного ответа [44]. Существует предположение, что терапевтические подходы, нацеленные на усиление функций дендритных клеток, будут способствовать как элиминации вируса, так и лучшим исходам при COVID-19 [46].

Некоторые исследования показали, что патофизиология тяжелого течения

COVID-19 характеризуется изменением численности, фенотипа и функциональных свойств нейтрофилов с повышенным соотношением нейтрофилов и лимфоцитов и высокой экспрессией связанных с нейтрофилами цитокинов IL-8 и IL-6 в сыворотке, а нейтрофилия была описана как предиктор неблагоприятного исхода заболевания [142, 93]. Количество нейтрофилов в периферической крови у пациентов с COVID-19 повышается в меньшей степени, чем, например, при бактериальной пневмонии. Тем не менее, определяются более высокие количественные показатели нейтрофилов при тяжелом течении COVID-19 по сравнению с легкими случаями и при большинстве других вирусных инфекций [142, 158].

Гиперактивированные нейтрофилы могут вызвать тяжелое повреждение тканей за счет неконтролируемой секреции активных форм кислорода и цитокинов посредством высвобождения гранул и образования нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) [131]. Все больше данных свидетельствует о влиянии активированных тромбоцитов на нейтрофилы [126]. При взаимодействии клетки обуславливают развитие иммунотромбоза, потенцирование процессов фибриногенеза и внутрисосудистого образования НВЛ, что способствует «улавливанию» вирусных частиц, но также может привести к окклюзии сосудов и микрососудов, способствуя массовой гибели эндотелиоцитов и в последующем - развитию эндотелиальной дисфункции [78].

Учитывая избыточную функцию клеток врожденного иммунитета при тяжелом течении COVID-19, представляет интерес изучение функциональной противомикробной активности нейтрофилов, моноцитов и макрофагов как на системном, так и на локальном уровне слизистых оболочек у лиц, перенесших заболевание. Бета-коронавирусы обладают несколькими механизмами, нацеленными на различные врожденные иммунные реакции, которые играют роль в уклонении от противовирусной защиты хозяина.

1.4. Мукозальный иммунитет и перспективы создания вакцин против SARS-CoV-2

Существующие на сегодняшний день вакцины против COVID-19 имеют преимущественно инъекционную форму введения и нацелены на выработку специфических IgG к вирусу, тем самым предотвращая вирусемию и развитие клинических симптомов заболевания COVID-19. Однако системное применение вакцин против респираторных патогенов часто обеспечивает ограниченную и кратковременную защиту от репликации и выделения вируса в эпителии дыхательных путей, так как для этого требуется местный секреторный ответ IgA [138, 45], который может быть вызван только путем экспозиции антигена на слизистой оболочке верхних дыхательных путей [48]. В отличие от инъекционных форм, использование интраназального способа введения вакцин может обеспечить «стерилизующий» иммунитет респираторного тракта [69], сокращение частоты развития вирусных заболеваний и передачи инфекции COVID-19 [45].

Мукозальная вакцина может быть разработана на основе одной из нескольких платформ, включая вирусные векторы, вирусоподобные частицы, ДНК, субъединицы или инактивированные цельные вирусы, а также живую аттенуированную вакцину [37, 153]. Традиционно для индукции иммунного ответа слизистых оболочек требуется более высокая доза антигена по сравнению с парентеральной иммунизацией, так как антигенный препарат может растворяться в слизи носовой полости или выводиться с секретом за счет движения ресничек дыхательных путей [105].

Вакцины, доставляемые через слизистые оболочки, повышают приверженность пациентов к вакцинации, обеспечивая физический и психологический комфорт, не вызывая травматизации ткани. Это может внести значимый вклад в обеспечение более широкой массовой иммунизации в условиях текущей пандемии. Доставка вакцины с помощью инъекций по сравнению с местным введением значительно увеличивает экономические затраты на осуществление программ по вакцинации, так как включает средства на

специальное обучение и оплату работы медицинского персонала, стоимость инъекционного устройства и его безопасной утилизации. Данный факт является особенно актуальным для развивающихся стран. Вакцины, доставляемые путем экспозиции антигена на слизистых оболочках, также нивелируют риск передачи других инфекций при травматизации медицинского персонала инъекционными устройствами [103].

В исследовании King et al., 2020 было показано, что интраназальная векторная вакцина аденовируса 5-го типа (vaccine vector 5, AdCOVID5), кодирующая рецептор-связывающий домен (receptor-binding domain, RBD) шиповатого протеина SARS-CoV-2, вызывает сильный и высокоспецифичный иммунный ответ против RBD у лабораторных животных за счет индукции выработки sIgA, а также сывороточных нейтрализующих антител, Т-лимфоциты cluster of differentiation (CD) 4+ и CD8+ Т-клеток с Т-хелпер-1-подобным профилем экспрессии цитокинов. На сегодняшний день AdCOVID5 - вакцина, которая способствует одновременному развитию как системного, так и местного иммунного ответа слизистых оболочек, является многообещающим кандидатом на роль эффективной вакцины против SARS-CoV-2 [81].

Ku et al., 2021 представили вакцину на основе лентивирусного вектора, компоненты которой кодируют полноразмерный шиповатый гликопротеин SARS-CoV-2 и индуцируют нейтрализующие антитела и Т-клеточные ответы. Интраназальное введение вакцины показало формирование локального иммунного ответа верхних дыхательных путей, что обеспечило защиту от развития COVID-19 на экспериментальной модели мышей и хомяков [82].

В апреле 2022г. Минздрав РФ зарегистрировал назальную вакцину против COVID-19 НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи Гам-Ковид-Вак «Спутник V». Tikhvatulin A.I., et al. показали, что интраназальная вакцинация «Gam-COVID-Vac» инициировала стойкий (не менее 180 дней) системный и местный иммунный ответ у мышей: продукцию IgG и нейтрализующих антител в сыворотке крови, пролиферацию антигенспецифических Т-клеток и образованием антител IgA в слизистой оболочке носа [136].

Интраназальная иммунизация должна быть эффективным средством образования преимущественно sIgA в верхних и нижних дыхательных путях, где SARS-CoV-2 может быть нейтрализован и элиминирован без инициации воспаления. Можно предположить, что определение антител IgA в секрете носовой полости или в слюне могут быть наиболее информативным способом оценки эффективного иммунного ответа против вируса SARS-CoV-2, индуцированного естественным инфицированием или интраназальной иммунизацией [60].

Большой интерес представляют иммуотропные препараты местного применения, усиливающие неспецифические иммунные механизмы мукозального иммунитета, в частности, препараты на основе бактериальных лизатов.

1.5. Возможности применения и потенциальная эффективность бактериальных лизатов в условиях пандемии COVID-19

Безусловно, основной мерой в условиях пандемии является специфическая профилактика. Однако в настоящее время недостаточно ясны сроки ревакцинации, а также эффективность зарегистрированных вакцин против новых штаммов коронавируса.

В ранние периоды появления новых респираторных инфекций, когда отсутствуют средства иммунопрофилактики, возникает необходимость в разработке доступных способов неспецифической защиты населения, особенно группы высокого риска.

Определенные перспективы могут быть связаны с использованием препаратов, которые влияют на механизмы как врожденного, так и адаптивного иммунитета, и формируют так называемый «тренированный иммунный ответ», обеспечивающий усиление защитных реакций на повторное внедрение антигена. Это имеет особое значение для слизистых оболочек дыхательных путей, как основных «входных ворот» для инфекционных патогенов.

Имеются данные о терапевтическом действии различных микробных

антигенов, содержащих PAMPs, и возможности их использования для коррекции клеточного иммунного ответа [6, 25]. Воздействие бактериальных лизатов на рецепторы эпителиальных клеток слизистой оболочки дыхательных путей в дальнейшем усиливает распознавание иммунными клетками инфицированных вирусом эпителиоцитов, а также оказывает влияние на механизмы регуляции иммунной гиперактивации [67].

Эффективность использования иммуномодуляторов на основе бактериальных лизатов была ранее доказана при различных заболеваниях, однако возможность их применения в период текущей пандемии не определена. При информационном поиске было найдено ограниченное количество опубликованных работ о результативности их применения.

По данным Lei Fang et al. ежедневное применение препарата на основе бактериальных лизатов OM-85 приводило к снижению экспрессии рецептора ангиотензинпревращающего фермента 2 (mACE2) и других белков клеточной мембраны, играющих роль в адгезии SARS-CoV-2 и инфицировании эпителиальных клеток человека. Было также показано снижение экспрессии гепарансульфата, который является компонентом, необходимым для проникновения вируса в клетку. Действие OM-85 на белки мембран эпителиальных клеток и гликозаминогликаны снижает инфицирование клеток SARS-CoV-2 [65]. В экспериментах на мышах и *ex vivo* на людях дендритные клетки, полученные из моноцитов, при стимуляции сублингвальной полибактериальной вакциной MV130 продуцировали интерлейкины IL-12-p70 и фактор некроза опухолей альфа (ФНО- α), усиливающие пролиферацию Т-хелперов (T helper cells, Th) 1 типа, а также IL-6, IL-1 β , IL-8, стимулирующие развитие клеток Th17 [58, 41]. Были показаны длительные иммунологические эффекты (до 12 месяцев), что связано с влиянием тренированного иммунитета на миелоидные клетки-предшественники костного мозга [101].

Одним из отечественных препаратов бактериального происхождения является Иммуновак-ВП-4, разработанный в НИИВС им. И.И. Мечникова РАМН под руководством академика Бориса Федоровича Семенова, который вошел в

клиническую практику и применяется уже в течение нескольких десятилетий. Препарат содержит компоненты клеточной стенки и митохондрий условно-патогенных микроорганизмов (смесь водорастворимых антигенов микробных клеток *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*). Иммунологически обоснована целесообразность использования препарата в комплексном лечении и профилактике бактериальных и вирусных инфекций, вызываемых условно патогенными микроорганизмами, а также при аллергических заболеваниях.

В основе механизма действия препарата бактериального происхождения лежит активация эффекторов врожденного иммунитета, программирование дифференцировки Т-лимфоцитов по Th1-типу. По данным ранее проведенных исследований отмечались нормализация количества и функциональной активности субпопуляций лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD16, CD72); программирование пролиферации и активации CD4 Т-лимфоцитов по Th1 пути; коррекция синтеза изотипов иммуноглобулинов в сторону снижения IgE и повышения IgG, IgA, sIgA [10].

За прошедшие годы клинико-иммунологический эффект действия препарата исследован при различных методах введения у взрослых и у детей. Иммунотерапия препаратом бактериального происхождения была изучена Егоровой Н.Б. и др. у лиц с аллергическими (бронхиальная астма, атопический дерматит, латексная аллергия), гнойно-воспалительными заболеваниями (хронический бронхит, абсцесс легких, пиодермия), герпесвирусной инфекцией и пр. Отмечен стереотипный высокий положительный клинический эффект в пределах 69,2-100% [10]. У лиц с хроническими бронхолегочными заболеваниями значительно сокращались число и тяжесть обострений, существенно увеличивались сроки ремиссии, сокращался объем применяемых лекарственных средств, снижалось количество острых респираторных инфекций. Формирование врожденного иммунного ответа путем введения многоцелевой бактериальной вакцины вызывало интенсивный провоспалительный ответ при последующих гетерогенных инфекциях (вирусных или бактериальных) при сохранении

гомеостаза иммунной системы [9, 15]. В нашем исследовании впервые проводилась оценка влияния препарата на основе бактериальных лизатов на показатели мукозального иммунитета и его клинической эффективности в условиях пандемии COVID-19.

В настоящее время количество опубликованных работ, посвященных изучению состояния фагоцитарной активности лейкоцитов и мукозального иммунитета слизистых оболочек дыхательных путей у лиц, перенесших COVID-19, недостаточно для суждения о влиянии новой коронавирусной инфекции на иммунный статус в постковидном периоде. Специфическая профилактика является наиболее эффективным способом предотвращения инфекционных заболеваний, однако в условиях продолжающегося распространения SARS-CoV-2 из-за недостаточного охвата вакцинацией и появления новых вариантов вируса, существует высокая потребность в изменении стратегии иммунопрофилактики [136]. Усиление защитных иммунных реакций в месте входных ворот инфекции, за счет активации неспецифических иммунных механизмов, в том числе с применением препаратов на основе бактериальных лизатов, а также использование мукозальных вакцин являются перспективными подходами по иммунопрофилактике групп высокого риска инфицирования в условиях пандемии.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на базах ГБУЗ «ГКБ им. Д.Д. Плетнева ДЗМ» и ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» в период с октября 2020 по июнь 2022 гг. Исследование одобрено Этическим комитетом ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ (протокол заседания этического Комитета № 203 от 21.12.2020 г.).

2.1. Дизайн исследования

В связи с поставленными задачами исследование состояния мукозального иммунитета респираторной системы у медицинских работников в возрасте от 18 до 65 лет состояло из двух этапов.

I этап: одномоментное поперечное исследование мукозального и системного иммунитета респираторной системы у медицинских работников, перенесших COVID-19, и неболевших, в которое было включено 183 медицинских работников клинической больницы г. Москвы – врачей, медсестёр, младшего медицинского персонала обоего пола в возрасте от 18 до 65 лет.

Городская клиническая больница им. Д.Д. Плетнева была репрофилирована во временный инфекционный госпиталь (ВИГ) для лечения больных COVID-19 с мая по июнь 2020г. Исследование было инициировано в первых числах октября 2020г., некоторые из медицинских сотрудников имели стаж работы в репрофилированных отделениях ВИГ в течение указанного короткого срока, среди них большая часть была представлена лицами, перенесшими COVID-19.

Участники исследования были разделены на 4 группы:

Первая группа (n=16) – лица с диагнозом «Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, тяжелое течение».

Вторая группа (n=71) – лица с диагнозом «Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, среднетяжелое течение».

Третья группа (n=52) – лица с диагнозом «Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, легкое течение», в том числе с отсутствием характерной клинической симптоматики при наличии положительных лабораторных данных полимеразной цепной реакции (ПЦР), исследование иммуноглобулинов М и G к вирусу SARS-CoV-2).

Четвёртая группа (n=44) – контрольная – лица, у которых отсутствовали клинические проявления новой коронавирусной инфекции, а также документальные подтверждения о перенесенной инфекции COVID-19 (ПЦР, исследование иммуноглобулинов М и G к вирусу SARS-CoV-2) (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Дизайн I этапа исследования

Исследование включало в себя два визита и не предполагало дальнейшего наблюдения за участниками.

Визит №0 (день 0). Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие, отвечающее требованиям, изложенным в Хельсинской Декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013 г.), всеобщей декларации о биоэтике и правах человека (2005 г.), всеобщей декларации прав человека (1948 г.).

Визит №1 (день 1). В этот день проводилась оценка клинического статуса, включающая подробный сбор жалоб и медицинского анамнеза, физикальный осмотр, исследование пиковой скорости выдоха (ПСВ). Участники исследования самостоятельно заполняли опросники по оценке качества жизни SF-36 Health Status Survey (SF-36) и усталости Fatigue assessment scale (FAS), шкалы одышки Modified Medical Research Council questionnaire (mMRC) и «Язык одышки». У всех лиц также оценивался индекс коморбидности по Charlson. Осуществлялся забор слюны, соскобов эпителиальных клеток со слизистых носо- и ротоглотки. Индуцированную мокроту получали после ингаляций стерильным гипертоническим раствором 5% хлорида натрия (постоянная концентрация) не более 30 мин согласно стандартизованной методике [68].

Полученные биологические образцы направлялись в лабораторию вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний ФГБНУ «Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова».

II этап: проспективное открытое контролируемое исследование в параллельных группах по оценке эффективности и безопасности препарата на основе бактериальных лизатов у лиц, перенесших COVID-19, и неболевших в течение одного года. Медицинским работникам, вошедшим в I этап исследования, было предложено участие во II этапе. 82 участника, подписавших согласие, были разделены на 4 группы.

Первая группа (n=20) – лица, перенесшие заболевание COVID-19, которым назначался препарат.

Вторая группа (n=27) – лица, перенесшие заболевание COVID-19, которым не назначался препарат.

Третья группа (n=18) – лица, не переносившие заболевание COVID-19, которым назначался препарат.

Четвёртая группа (n=17) – лица, не переносившие заболевание COVID-19, которым назначался препарат.

Календарный план обследований включал в себя 5 визитов:

Визит №0 (день 0). Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие, отвечающее требованиям, изложенным в Хельсинской Декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013г.), всеобщей декларации о биоэтике и правах человека от 19.10.2005г., всеобщей декларации прав человека (принята Генеральной Ассамблеей Организации Объединенных Наций (ООН) 10.12.1948г.). Протокол исследования был одобрен локальным комитетом по этике ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России 21 декабря 2020г.

Визит №1 (день 1). В этот день проводился клинический осмотр, включающий подробный сбор жалоб и медицинского анамнеза, физикальный осмотр. Участники исследования самостоятельно заполняли шкалы оценки усталости FAS и качества жизни SF-36. У всех лиц также оценивали индекс коморбидности по Charlson. Осуществлялся забор биологического материала для лабораторного исследования.

Участникам основных групп (1-я и 3-я) проводили иммунизацию. Выдавалась схема для дальнейшего применения (Приложение №1), а также дневник наблюдения (Приложение №2), который участники заполняли лично.

Визит №2 (день 20-24-й) и визит №3 (день 90-97-й). Проводили клинический осмотр, анализ дневника наблюдения. Осуществлялся забор биологического материала для лабораторного исследования. При оценке нежелательных явлений (НЯ), особое внимание уделялось частоте и тяжести ОРИ обострениям хронических заболеваний респираторной системы.

Визиты №4 (6-й месяц) и №5 (12-й месяц). Телефонные звонки.

Проводилась оценка частоты развития ОРИ, обострений хронических заболеваний респираторной системы, а также сроки, длительность и тяжесть течения заболевания помощью разработанного невалидизированного опросника тяжести ОРИ (Приложение №3), который заполнялся врачом-исследователем со слов пациента (Рисунок 2).

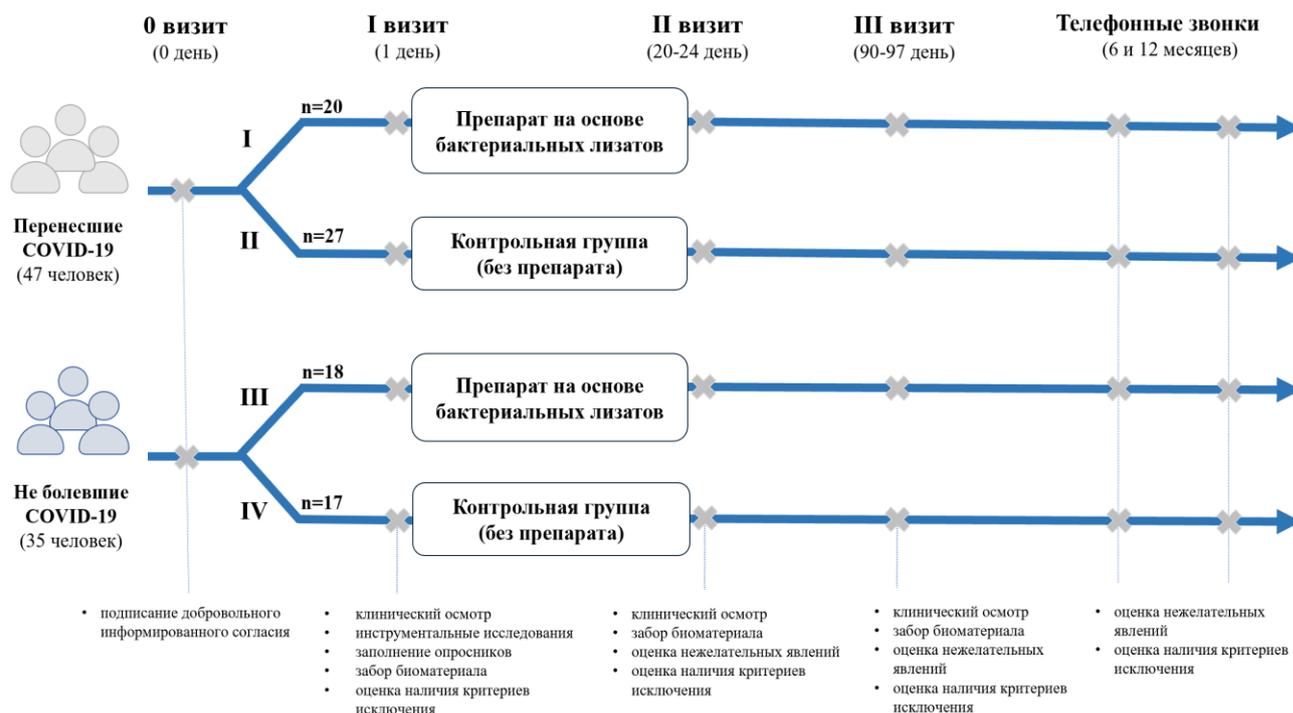


Рисунок 2 – Дизайн II этапа исследования

2.2. Материалы исследования

Участие в исследовании было предложено 236 медицинским сотрудникам ГБУЗ «ГКБ им. Д.Д. Плетнева ДЗМ», перенесшим COVID-19 и не болевшим.

Критерии включения:

- 1) возраст от 18 до 65 лет;
- 2) наличие подписанного добровольного информированного согласия, отвечающего требованиям, изложенным в Хельсинской Декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013г.), всеобщей декларации о биоэтике и правах

человека от 19.10.2005г., всеобщей декларации прав человека (принята Генеральной Ассамблеей ООН 10.12.1948г.).

Критерии невключения:

- 1) отказ пациента от исследования;
- 2) выраженные врожденные дефекты или тяжелые хронические заболевания;
- 3) наличие в анамнезе онкологических заболеваний;
- 4) положительной реакции на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), гепатиты В и С;
- 5) прием препаратов иммуноглобулина или переливание крови в течение последних трех месяцев до начала исследования;
- 6) длительное (более 14 дней) применение иммунодепрессантов, иммуномодулирующих, противовирусных препаратов в течение последних 6 мес.;
- 7) любые оперативные вмешательства, а также воспалительные изменения в ротовой полости в течение 1 месяца до включения в исследование;
- 8) любое подтвержденное или предполагаемое иммуносупрессивное, иммунодефицитное или аутоиммунное заболевания;
- 9) курение в настоящем, хроническое злоупотребление алкоголем и/или употребление наркотиков в анамнезе;
- 10) проведенная вакцинация против гриппа и пневмококка в текущем году или любой иной вакциной в течение 30 дней до включения в исследование;
- 11) предшествующая вакцинация экспериментальной или зарегистрированной вакциной против SARS-CoV-2;
- 12) период от выздоровления после острых инфекционных заболеваний менее одного месяца;
- 13) беременность или лактация;
- 14) одновременное участие в другом клиническом исследовании;
- 15) неспособность соблюдения условий протокола.

Критерии исключения:

- 1) отзыв пациентом информированного согласия;
- 2) нарушения критериев включения/невключения протокола исследования;
- 3) любое состояние пациента, требующее, по обоснованному мнению, врача-исследователя, вывода из исследования;
- 4) установленный факт беременности перед введением очередной дозы препарата;
- 5) отказ от сотрудничества, выбывание из-под наблюдения;
- 6) проведение вакцинации против сезонных респираторных инфекций в течение исследуемого периода наблюдения (12 месяцев) или любой другой вакциной в течение 30 дней до сдачи биологического материала;
- 7) прием препаратов, относящихся к группе иммуномодуляторов в течение исследуемого периода наблюдения.

Добровольное информированное согласие на участие в первом этапе исследования было подписано 212 участниками, таким образом отклик составил 89,8%. Из них критерии не включения были зафиксированы у 29 человек, основными из них были: прием иммуномодулирующих препаратов в течение последних 6 месяцев ($n=16$ (55,2%)), вакцинация против сезонных респираторных инфекций в течение 30 дней до включения в исследование ($n=9$ (31,0%)), наличие аутоиммунных ($n=4$ (13,8%)) или тяжелых соматических заболеваний ($n=2$ (6,9%)).

Таким образом, в исследование (первый этап) вошли 183 медицинских работника (21 мужчина / 162 женщины, средний возраст $47,4 \pm 12,7$).

Участие во втором этапе исследования было предложено 145 медицинским работникам, уже обследованных в ходе первого этапа. Добровольное информированное согласие было подписано 82 участниками.

2.3. Методы исследования

2.3.1. Клинический осмотр

По данным анамнеза (опрос участника и информация из медицинской документации) оценивали: наличие перенесенного заболевания COVID-19, сроки заболевания и его длительность, симптомы заболевания, получаемое лечение, сроки пребывания на листе нетрудоспособности; данные компьютерной томографии органов грудной клетки; данные лабораторных исследований на момент заболевания (наличие положительных тестов ПЦР к вирусу SARS-CoV-2 в мазках со слизистых носо- и ротоглотки, уровни специфических иммуноглобулинов М и G к вирусу SARS-CoV-2), а также показатели уровней специфических иммуноглобулинов М и G к вирусу SARS-CoV-2 после выздоровления. Тяжесть течения заболевания COVID-19 оценивалась на основании временных методических рекомендаций «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Минздрава РФ, актуальных на период проведения исследования (Версии 9 от 26.10.2020г., 10 от 08.02.2021г., 11 от 07.05.2021г.):

1) легкое течение:

- температура тела $< 38^{\circ}\text{C}$, кашель, слабость, боли в горле;
- отсутствие критериев среднетяжелого и тяжелого течения;

2) среднетяжелое течение:

- температура тела $> 38^{\circ}\text{C}$;
- частота дыхательных движений (ЧДД) $> 22/\text{мин}$;
- одышка при физических нагрузках;
- изменения при компьютерной томографии (КТ) /рентгенографии, типичные для вирусного поражения (объем поражения минимальный или средний, КТ 1-2);
- сатурация крови кислородом (oxygen saturation, SpO₂) $< 95\%$;
- С-реактивный белок (С-РБ) сыворотки крови > 10 мг/л;

3) тяжелое течение:

- ЧДД > 30/мин;
- SpO₂ ≤ 93%;
- Индекс оксигенации (arterial oxygen partial pressure (PaO₂ in mmHg) to fractional inspired oxygen (FiO₂)) ≤ 300 мм рт.ст.;
- снижение уровня сознания, агитация;
- нестабильная гемодинамика (систолическое артериальное давление (АД) менее 90 мм рт.ст. или диастолическое АД менее 60 мм рт.ст., диурез менее 20 мл/час);
- изменения в легких при КТ (рентгенографии), типичные для вирусного поражения (объем поражения значительный или субтотальный, КТ 3-4);
- лактат артериальной крови > 2 ммоль/л;
- Sequential Organ Failure Assessment Quick (qSOFA) > 2 балла;

4) крайне тяжелое течение:

- стойкая фебрильная температура тела;
- острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС);
- острая дыхательная недостаточность с необходимостью респираторной поддержки (инвазивная вентиляция легких);
- септический шок;
- полиорганная недостаточность;
- изменения в легких при КТ, типичные для вирусного поражения критической степени (объем поражения значительный или субтотальный, КТ-4) или картина ОРДС [1, 2, 3].

Также были проанализированы данные об аллергических реакциях, наличии сопутствующих заболеваний, получаемой терапии, сведений о приеме лекарственных препаратов; статусе и длительности табакокурения. Особое внимание при сборе анамнеза уделялось патологии ЛОР-органов. Оценивались частота развития острых респираторных инфекций в год, количество ОРВИ после перенесенного заболевания COVID-19. Всем пациентам проводилась оценка индекса коморбидности по Charlson [22]. Нутритивный статус анализировали при

помощи индекса массы тела (ИМТ, кг/м²). Пульсоксиметрию проводили в состоянии покоя при отсутствии оксигенотерапии. Для этого использовался портативный напалечный пульсоксиметр (УХ302 Армед, China). Для оценки дыхания проводилось определение пиковой скорости выдоха при помощи Пикфлоуметра Omron PFM-20 (United Kingdom).

2.3.2. Оценка последствий перенесенного заболевания COVID-19

2.3.2.1. Оценка качества жизни

Оценка качества жизни проводилась с помощью опросника SF-36 (SF-36 Health Status Survey). SF-36 относится к неспецифическим опросникам для оценки качества жизни, он широко распространен во многих странах мира при проведении исследований качества жизни. Перевод на русский язык и апробация методики была проведена «Институтом клинико-фармакологических исследований» (Санкт-Петербург). Данный опросник прост в заполнении, не отнимает у респондентов много времени, высоко информативен, переведен и прошел валидацию для России [26].

36 пунктов опросника сгруппированы в восемь шкал (доменов): физическая активность (низкие показатели свидетельствуют о том, что физическая активность пациента значительно ограничивается состоянием его здоровья); влияние физического состояния на жизнедеятельность (низкие показатели свидетельствуют о значимом ограничении повседневной деятельности физическим состоянием пациента); интенсивность боли (низкие показатели свидетельствуют о значительном ограничении активности пациента болевым синдромом); общее состояние здоровья (чем меньше балл, тем ниже оценка состояния здоровья пациентом); жизненная активность (низкие баллы свидетельствуют об утомлении пациента, снижении жизненной активности); социальная активность (низкие баллы свидетельствуют о значимом ограничении социальных контактов в связи с ухудшением физического и эмоционального состояния); влияние эмоционального состояния на жизнедеятельность (низкие

баллы интерпретируются как ограничение в выполнении повседневной работы, обусловленное ухудшением эмоционального состояния) и психическое здоровье (низкие показатели свидетельствуют о наличии депрессивных, тревожных переживаний, психическом неблагополучии).

Показатели каждой шкалы варьируют от 0 до 100, где больший балл указывает на более высокий уровень качества жизни. Градация показателя качества жизни для разных доменов соответствовала следующим интервалам: 0-20 баллов – низкий показатель; 21-40 баллов – пониженный показатель; 41-60 – средний показатель; 61-80 – повышенный показатель; 81 – 100 – высокий показатель качества жизни.

Шкалы группируются в два показателя "физический компонент здоровья" (физическая активность, влияние физического состояния на жизнедеятельность, интенсивность боли, общее состояние здоровья) и "психологический компонент здоровья" (психическое здоровье, влияние эмоционального состояния на жизнедеятельность, социальная активность, жизненная активность).

Расшифровка первичных данных опросника SF-36 выполнена согласно предусмотренной методике, для обработки результатов, полученных в результате анкетирования, использовались специальные формулы расчета [145].

2.3.2.2. Оценка выраженности усталости

Оценка степени усталости проводилась с помощью шкалы FAS. Опросник FAS был разработан группой нидерландских исследователей под руководством Н.Н. Michielsen и переведен на несколько европейских языков [100]. Опросник FAS состоит из 10 вопросов для оценки психической и физической усталости. Однако этот опросник является одномерным, т.е. оценивает усталость в целом. Пациенту объясняют, что 10 предложенных вопросов направлены на оценку его обычного состояния. На каждый вопрос предлагается 5 вариантов ответов по шкале Likert: от 1 (никогда) до 5 (всегда), за исключением пунктов 4 и 10, где баллы начисляются в обратном порядке (Таблица 1).

Таблица 1 – Опросник Шкала оценки усталости (FAS), балл [100]

Вопрос	Никогда					Всегда				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Меня беспокоит усталость	1	2	3	4	5					
Я очень быстро устаю	1	2	3	4	5					
Я не делаю много дел в течение дня	1	2	3	4	5					
У меня достаточно энергии для повседневной жизни	1 (5)	2 (4)	3 (3)	4 (2)	5 (1)					
Я чувствую физическое истощение	1	2	3	4	5					
Мне трудно начать что-нибудь делать	1	2	3	4	5					
Мне трудно думать четко и ясно	1	2	3	4	5					
У меня нет никакого желания что-нибудь делать	1	2	3	4	5					
Я чувствую умственное истощение	1	2	3	4	5					
Когда я делаю что-нибудь, я могу довольно хорошо сконцентрироваться	1 (5)	2 (4)	3 (3)	4 (2)	5 (1)					

Результаты опросника подсчитываются суммированием баллов. Значения по опроснику могут варьироваться от 10 до 50 баллов. Чем выше балл, тем выше степень усталости. При показателе 22 балла и выше можно говорить о наличии у пациента синдрома патологической усталости [100, 61].

2.3.2.3. Характеристика одышки

Для оценки “языка одышки” использовали перечень описаний одышки, составленный P.M.Simon et al. [123] и переведенный на русский язык двумя профессиональными переводчиками совместно с врачом, владеющим английским языком [27]. Больных просили выбрать не более 3 описаний, наиболее точно соответствующих их ощущениям. В итоге был сформирован вопросник, состоящий из 16 описаний одышки (Таблица 2). В период пандемии был впервые описан симптом «счастливой одышки», характеризующийся диспропорцией между показателями [31]. Интенсивность одышки у медицинских работников в постковидном периоде оценивалась при помощи модифицированного вопросника Британского медицинского исследовательского совета mMRC [32] (Таблица 3).

Таблица 2 – Характеристика одышки по шкале «Язык одышки» [27]

1	Не могу полностью вдохнуть
2	Приходится прилагать усилие, чтобы дышать
3	Чувствую удушье
4	Не хватает воздуха, хочется вдохнуть больше
5	Тяжело дышу
6	Не могу глубоко вдохнуть
7	Моя грудь стеснена, сдавлена снаружи
8	Выдыхаюсь
9	Приходится глубже дышать
10	Перехватывает дыхание
11	Хватаю воздух ртом
12	Дышу чаще, чем обычно
13	Поверхностное дыхание
14	Задыхаюсь
15	Не получается до конца выдохнуть
16	Сосредотачиваюсь на дыхании

Таблица 3 – Шкала одышки mMRC (Modified Medical Research Council) [32]

Степень	Тяжесть	Описание
0	Нет	Одышка не беспокоит, за исключением очень интенсивной нагрузки
1	Легкая	Одышка при быстрой ходьбе или при подъеме на небольшое возвышение
2	Средняя	Одышка заставляет больного идти более медленно по сравнению с другими людьми того же возраста, или появляется необходимость делать остановки при ходьбе в своем темпе по ровной поверхности
3	Тяжелая	Одышка заставляет больного делать остановки при ходьбе на расстояние около 100м или через несколько минут ходьбы по ровной поверхности
4	Очень тяжелая	Одышка делает невозможным для больного выход за пределы своего дома, или одышка появляется при одевании или раздевании

2.3.3. Оценка частоты и тяжести течения острых респираторных инфекций и обострений хронических заболеваний ЛОР-органов

Оценка частоты и тяжести течения острых и обострений хронических респираторных инфекций осуществлялась на третьем (через 90 дней от даты первого визита), четвертом (через шесть месяцев), пятом (через двенадцать месяцев) с помощью разработанного невалидированного опросника (см. Приложение №3). Каждый эпизод появления симптомов острой респираторной инфекции фиксировался в отдельном столбце. Для подсчета баллов учитывали локализацию инфекционного процесса (ринит – 1 балл, фарингит – 2 балла, ларингит – 2 балла, синусит – 3 балла, трахеобронхит – 3 балла, пневмония – от 4 до 6 баллов в зависимости от тяжести течения), системные проявления в виде повышения температуры тела (субфебрильная – 2 балла, фебрильная – 3 балла), длительность респираторного заболевания (1-3 дня – 1 балл, 4-7 дней – 2 балла, 8-14 дней – 3 балла, более 14 дней – 4 балла), прием антибактериального препарата – 3 балла, наличие листа нетрудоспособности – 1 балл, госпитализация – 4 балла. Проводили оценку частоты ОРИ и общий балл тяжести течения инфекции. Частоту и тяжесть обострений хронических заболеваний ЛОР-органов и COVID-19 учитывали отдельно.

2.3.4. Забор биологического материала

2.3.4.1. Забор слюны (ротовой жидкости)

Исключался прием пищи в течение 4-х часов и непосредственно перед забором биоматериала производилось трехкратное полоскание полости рта физиологическим раствором. Слюну собирали в одноразовые стерильные пробирки типа «Эпспендорф» 1,5 мл в количестве 0,5-1,0 мл.

2.3.4.2. Забор соскобов со слизистых ротоглотки

Соскобы со слизистой ротоглотки проводили щитощетками «Юнона» ТУ ВУ 300046934.013-2008 (ЗАО «Медицинское предприятие Симург», Республика

Беларусь), вращательными движениями с поверхности небных дужек, миндалин и задней стенки ротоглотки, избегая поверхности языка и слизистой щек. Рабочую часть зонда помещали в стерильные пробирки типа «Эппендорф» 1,5 мл, которые предварительно заполняли физиологическим раствором хлорида натрия (Натрия хлорид-СОЛОфарм Полифлак р-р д/инф 0.9% флаконы пластик 2 порта, ООО «Гротекс», Россия).

2.3.4.3. Забор соскобов со слизистых носоглотки

Соскобы со слизистой носоглотки проводили щитощетками «Юнона» ТУ ВУ 300046934.013-2008 (ЗАО «Медицинское предприятие Симург», Республика Беларусь). Зонд вводился легкими движениями по наружной стенке полости носа на глубину 2-3см до нижней носовой раковины, затем зонд направляли медиально вдоль латеральной стенки нижней носовой раковины до задней стенки носоглотки и удаляли вдоль наружной стенки полости носа, производя вращательные движения. Рабочую часть зонда помещали в стерильные пробирки типа «Эппендорф» 1,5 мл, которые предварительно заполнялись физиологическим раствором хлорида натрия (Натрия хлорид-СОЛОфарм Полифлак р-р д/инф 0.9% флаконы пластик 2 порта, ООО «Гротекс», Россия).

2.3.4.4. Сбор индуцированной мокроты

Исследование проводились натощак, предварительно участника просили почистить зубы и язык, перед началом индукции мокроты пациенту объясняли ход процедуры. Перед ингаляцией проводили измерение ПСВ исходно, после чего доброволец ингалировал сальбутамол 200 мкг через дозированный аэрозольный ингалятор. Через 10-15 мин - повторно измеряли ПСВ. При нормальных показателях (в соответствии с возрастом и ростом) или увеличении исходно низких значений ПСВ начинали процедуру. Согласно стандартизированной методике, проводилась ингаляция стерильным гипертоническим раствором 5% хлорида натрия (постоянная концентрация) через ультразвуковой небулайзер Little Doctor LD-250U (Германия) не более 30 мин [68]. Через каждые 5 мин ингаляции или по потребности раньше пациент ополаскивал рот водой, доброволец откашливался, отхаркивал собирав мокроту в специальную

стерильную емкость (чашка Петри). При отсутствии мокроты использовали раствор с большей концентрацией (7%) (каждые 5 мин). После каждой 5 минутной ингаляции проводилось контрольное измерение ПСВ. Если во время ингаляции появлялись признаки бронхоспазма или выявлялось снижение ПСВ на 20% от исходного уровня - процедуру останавливали. При получении удовлетворительного объема мокроты (не менее 5 мл) процедуру прекращали [4].

2.3.4.5. Забор венозной крови

Проводились опытной процедурной медсестрой в условиях процедурного кабинета по методике забора венозной крови с помощью вакуумной системы. При проведении процедуры использовались: вакуумные пробирки (Blood Collection Tube, Chengdu Puth Medical Plasting Packaging Co.,Ltd, Китай), вакуумные пробирки для исследования плазмы с литий гепарином (Санкт-Петербург), а также иглы двусторонние 21G*1 1/2" (0,8 * 38 мм) для вакуумного забора крови (Weihai Hongyu Medical Devices Co., Ltd., Китай) и переходники-держатели для вакуумных систем забора крови (HONGDA, Китай). Общий объем крови составлял 15-20 мл. Транспортировка всех биологических образцов осуществлялась в герметичных контейнерах при комнатной температуре не позднее 2-х часов от момента забора биоматериала.

2.3.5. Иммунологические исследования

2.3.5.1. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови по отношению к *S. aureus*

Культуры *S. aureus* Wood 46 смывали изотоническим раствором хлорида натрия, убивали нагреванием 96-98° С 40 минут, осаждали при центробежном ускорении 1000g 25 минут, дважды отмывали в 10 мл фосфатно-солевого буфера (ФСБ) рН 7,4. По стандарту мутности концентрацию бактерий доводили до 200 млн/мл карбонатно-бикарбонатным буфером рН 9,5. К взвеси бактерий добавляли флуоресцеина-5-изотиоцианат (ФИТЦ) в конечной концентрации для убитых бактерий 0,1 мг/мл, инкубировали при 4°С 12 часов. Затем несвязавшийся ФИТЦ

удаляли при трёхкратной отмывке при 1000 g 25 минут ФСБ. Концентрацию бактерий доводили до 500 млн. в мл по стандарту мутности. Взвесь бактерий аликвотировали и хранили при 4 °С.

Для постановки реакции использовали цельную гепаринизированную кровь. В эппендорфы помещали взвесь ФИТЦ-меченных стафилококков и клетки крови в соотношении 1:10, инкубировали при 37 °С 30 минут, затем добавляли 70 мкл лизирующего раствора Optilyse С для лизиса эритроцитов и инкубировали пробы при комнатной температуре в темноте 30 минут. Затем вносили холодный фосфатно-солевой буфер (рН 7,2-7,4) с добавлением 0,02% этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) для остановки фагоцитарной реакции. После 3-кратной отмывки изотоническим раствором ISOTON II образцы анализировали на проточном цитофлюориметре FC-500 Beckman Coulter. Настройки устанавливаются таким образом, чтобы в окне точечного графика удобно размещались три облака клеток - нейтрофилы, моноциты, лимфоциты. На экран выводили гистограммы для нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов и соответствующие статистики. Процент флуоресцирующих (фагоцитировавших) нейтрофилов и моноцитов высчитывался автоматически и выводился в соответствующих гистограммам таблицах статистики. Рекомендуемое количество собираемых событий по нейтрофилам - 3000 [24, 8].

2.3.5.2. Определение поглотительной активности гранулоцитов и макрофагов в назальных и фарингеальных соскобах

Пробирки с соскобами (мазками) центрифугировали в течение 5 минут при 1000 об/мин. Надосадок отбрасывали, а к оставшемуся осадку добавляли 25 мкл взвеси убитых *S.aureus*, меченных ФИТЦ, ресуспендировали и инкубировали 30 минут при 37° С. Затем добавляли холодный фосфатно-солевой буфер (рН 7,2-7,4) с добавлением 0,02% ЭДТА для остановки фагоцитарной реакции. После 3-кратной отмывки раствором ISOTON II, образцы анализировали на проточном цитофлюориметре FC-500 Beckman Coulter. Процент флуоресцирующих (фагоцитирующих) гранулоцитов и макрофагов высчитывался автоматически и выводился в соответствующих гистограммах таблиц статистики.

2.3.5.3. Тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест)

Из 3-4 мл гепаринизированной крови выделяли лейковзвесь. К 50 мкл лейковзвеси добавляли 50 мкл фосфатно-солевого буфера (НСТ-тест спонтанный) или 50 мкл латекса (НСТ-тест индуцированный). В обе пробы вносили 50 мкл раствора 0,02% раствора нитросинего тетразолия и тщательно перемешивали. Инкубировали 30 минут при 37°C. Затем высушивали на воздухе и фиксировали этанолом, окрашивали красителем Романовского - Гимзы.

Окрашенные препараты просматривали под микроскопом с иммерсией. Анализу подвергали 100-200 сегментоядерных нейтрофилов, высчитывая % нейтрофилов с гранулами формазана (% формазанпозитивных клеток, ФПК) в цитоплазме. Для количественной оценки все клетки делили на 4 группы. К нулевой группе относили нейтрофилы без гранул, в первую группу включали клетки с единичными гранулами или в которых площадь окраски занимали от 25 до 30%. Во вторую группу относили нейтрофилы, цитоплазма которых на 30-70% была занята гранулами формазана, в третью - нейтрофилы до 100% заполненные гранулами.

Средний цитохимический индекс (СЦИ) и индекс активации (ИА) высчитывали по формулам: $СЦИ = 1a + 2b + 3c / 100$, где а, б, с - количество клеток соответственного типа. $ИА = \text{ФПК \% в НСТ-тесте индуцированном} / \text{ФПК \% в НСТ-тесте спонтанном} \times 100\%$ [23].

2.3.5.4. Определение уровня секреторного иммуноглобулина А в слюне, индуцированной мокроте, соскобах со слизистых носо- и ротоглотки

Все биологические образцы предварительно подвергались стандартизации по общему балку в объеме пробы. Общее содержание белка измерялось с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 («Thermo Scientific»).

Метод определения основан на двухстадийном «сэндвич» - варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением моноклональных антител (МКАТ) к секреторному компоненту IgA к α - цепи IgA.

На первой стадии калибровочные пробы с известной концентрацией А и анализируемые образцы инкубировали в лунках планшета с иммобилизованными

моноклональными антителами к sIgA. На второй стадии конъюгат моноклональных антител к α -цепи IgA с пероксидазой хрена связывались с sIgA, иммобилизованным в ходе первой инкубации. Образовавшиеся иммунные комплексы «иммобилизованные МКАТ-sIgA-конъюгат» выявляли ферментативной реакцией с раствором тетраметилбензидина.

Степень окраски пропорциональна концентрации sIgA в анализируемом образце. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывали концентрацию sIgA в анализируемых образцах.

2.3.5.5. Определение уровня иммуноглобулина G в слюне, индуцированной мокроте, соскобах со слизистых носо- и ротоглотки

Метод определения основан на двухстадийном «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением моноклональных антител к IgG.

На первой стадии калибровочные образцы с известной концентрацией IgG_{общ.} и анализируемые образцы инкубировали в лунках стрипированного планшета с иммобилизованными моноклональными антителами к гамма-цепям IgG. На второй стадии связавшийся в лунках IgG обрабатывали конъюгатом МКАТ к легким (лямбда и каппа) цепям иммуноглобулинов человека с пероксидазой.

Образовавшиеся иммунные комплексы «иммобилизованные МКАТ-IgG-конъюгат» выявляли ферментативной реакцией с раствором тетраметилбенаидина. Степень окрашивания пропорциональна концентрации IgG_{общ.} в анализируемом образце. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывали концентрацию IgG_{общ.} в анализируемых образцах.

2.3.5.6. Определение специфичных антител к SARS-CoV-2

Количественное исследование антител IgG к штамму SARS-CoV-2 коронавируса основано на двухстадийном сэндвич-методе. На первом шаге образцы сыворотки крови инкубировали с парамагнитными микрочастицами,

покрытыми SARS-CoV-2 антигенами. На втором шаге в реакционную ячейку дозировался раствор конъюгата щелочной фосфатазы с моноклональными мышиными анти-человеческими IgG антителами в буфере с консервантами. При инкубации конъюгат связывался с комплексом парамагнитных частиц и SARS-CoV-2 IgG антителами. На третьем этапе в результате разложения субстрата получали хемилюминисцентную реакцию, измеряемую в относительных световых единицах (ОСЕ) при помощи встроенного фотоумножителя. Количество SARS-CoV-2 IgG антител в образце пропорционально количеству ОСЕ образованных в ходе реакции. Концентрацию SARS-CoV-2 IgG антител определяли по калибровочной кривой.

2.3.6. Назначение препарата на основе бактериальных лизатов

Препарат на основе бактериальных лизатов (Иммуновак-ВП-4, АО НПО «Микроген», Россия) для назально-орального применения (рег. №: ЛСР-001293/10 от 24.02.10г.) представляет собой лиофилизат для приготовления раствора. Одна доза содержит по 4 мг смеси водорастворимых антигенов микробных клеток *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* и *Escherichia coli*. Во флакон с препаратом непосредственно перед применением с помощью шприца вносили 2 мл растворителя (натрия хлорида раствор 0.9% для инъекций или кипяченая вода) температуры 18-25 °С и перемешивали. Время растворения не превышало 2 минут. Комбинированная назально-оральная схема назначалась через день, общий курс составил 20 дней (10 дней приема препарата) согласно инструкции по применению.

2.3.7. Статистический анализ

Статистический анализ проводился с применением пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 23 (США) с использованием параметрических и непараметрических методов. Нормальность распределения признаков

определялась с использованием критерия Шапиро-Уилка. В зависимости от вида распределения мерами центральной тенденции и рассеяния служили: среднее значение и среднее квадратическое (стандартное) отклонение ($M \pm SD$) или медиана и 25-й; 75-й процентиля ($Me [Q1; Q3]$). Статистическая значимость различий количественных показателей между группами определялась при помощи непарного Т-критерия Стьюдента при нормальном распределении признаков, а в его отсутствии - по непараметрическому тесту Манна-Уитни. Для анализа различий в двух зависимых выборках при нормальном распределении использовали парный тест Стьюдента при отсутствии нормального распределения – тест Вилкоксона. Взаимосвязь исходных данных, распределенных по нормальному закону, оценивали с помощью корреляций Пирсона, показатели, распределенные не по нормальному закону - корреляций Спирмена. Оценка силы выявленных корреляционных зависимостей проводилась по шкале Чеддока. Для выявления взаимосвязи между двумя категориальными переменными использовался хи-квадрат (χ^2), вычисляемый с помощью таблиц сопряженности. Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Одномоментное поперечное исследование мукозального иммунитета респираторной системы и фагоцитарной активности лейкоцитов крови у медицинских работников, перенесших и не переносивших COVID-19

3.1.1. Общая характеристика группы

В исследование было включено 183 медицинских работника (21 мужчина /162 женщины), средний возраст $47,4 \pm 12,7$ лет, перенесших и не переносивших COVID-19, в период с апреля 2020г. по май 2021г., соответствующих критериям включения и не имеющих критериев невключения (Рисунок 3).

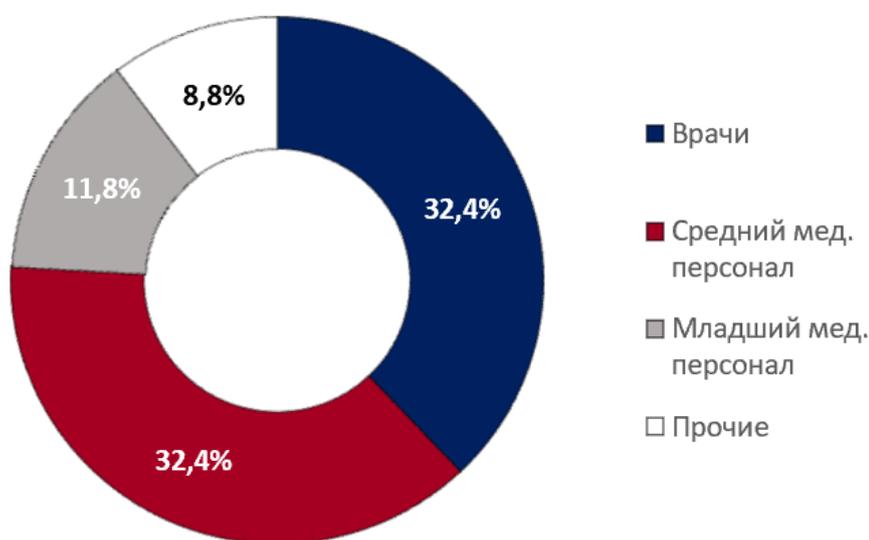


Рисунок 3 – Должности медицинских работников (n =183), %

Как видно из Рисунка 3, основная часть переболевших медицинских работников представлена контингентом лиц, имеющих больший контакт с пациентами – это врачи и средний медперсонал.

139 человек с COVID-19 в анамнезе были разделены в зависимости от

степени тяжести перенесенного заболевания на три группы: 1) тяжелого (n=16); 2) среднетяжелого (n=71); 3) легкого и бессимптомного течений заболевания (n=52) на основании нормативных документов на период исследования [1, 2, 3]. Средний срок от начала заболевания до включения в исследование среди переболевших составил $146,4 \pm 64,7$ дней. Контрольную группу составили 44 медицинских работника, не болевших COVID-19 (Таблица 4).

Таблица 4 – Клиническая характеристика групп медработников (n=183)

Параметр	Тяжелое (n=16)	Среднетяжелое (n=71)	Легкое/бес- симптомное (n=52)	Неболевшие (n=44)
Пол м/ж, n (%)	3/13 (18,8/81,3)	9/62 (12,7/87,3)	5/47 (9,6/90,4)	4/40 (9,1/90,9)
Возраст, годы, M \pm SD	55,1 \pm 6,3	52,3 \pm 10,1	40,3 \pm 13,1 ^{**#}	45,0 \pm 13,0 [#]
ИМТ, кг/м ² , Me [Q1; Q3]	31,6 [30,8;34,0]	28,4 [25,5;32,1] [*]	26,7 [22,7;33,9] [*]	27,5 [23,1;31,8] [*]
Индекс коморбидности по Charlson, баллы, Me [Q1; Q3]	2 [1;3]	1 [0;2]	0 [0;1] ^{**}	1 [0;2] [*]
Количество дней от начала заболевания до обследования, дни, M \pm SD	122,8 \pm 70,6	159,0 \pm 62,3	138,8 \pm 62,8	-
Длительность заболевания, дни, Me [Q1; Q3]	29,0 [20,8;35,0]	20,0 [12,0;30,0] [*]	10,0 [7,0;21,0] ^{**}	-
Нетрудоспособность по поводу COVID-19, дни, M \pm SD	35,4 \pm 7,9	34,7 \pm 18,9	21,4 \pm 11,7 ^{**}	-

Примечание: * – p < 0,05 в сравнении с группой тяжелого течения, ** – p < 0,005 в сравнении с группой тяжелого течения; # – p < 0,05 в сравнении с группой среднетяжелого течения

Медицинские работники с тяжёлым течением были старше и имели более высокие показатели индексов массы тела и коморбидности по Charlson в сравнении с группами среднетяжелого, легкого/бессимптомного течения и неболевших. Срок от момента появления первых симптомов заболевания до включения участников в исследование не различался между группами медицинских работников, перенесших COVID-19. Отмечались более длительное течение заболевания (29,0 [20,8;35,0] дней) и продолжительность нетрудоспособности (35,4±7,9 дней) в группе тяжелого течения.

Мы оценили функцию дыхания и выраженность одышки у медицинских работников в постковидном периоде (Таблица 5).

Таблица 5 – Пиковая скорость выдоха и степень одышки у групп медработников (n=183)

Параметр	Тяжелое (n=16)	Среднетяжелое (n=71)	Легкое/бес- симптомное (n=52)	Неболевшие (n=44)
ПСВ, л/мин, М±SD	365,0±48,0	359,6±42,9	408,1±101,2	427,4±85,8
Наличие одышки, n (%)	4 (25%)	12 (16,9%)	6 (11,5%)	4 (9,1%)
mMRC, степень одышки, Me [Q1; Q3]	2 [1;2]	1 [0;2] *	1 [0;1] **	0 [0;0,5] ** ##

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с группой тяжелого течения, ** – $p < 0,05$ в сравнении с группой тяжелого течения; ## – $p < 0,05$ в сравнении с группой среднетяжелого течения

Не было отмечено статистического значимого различия показателей пиковой скорости выдоха среди перенесших COVID-19 различной степени тяжести в сравнении с неболевшими. Медицинские работники из групп тяжелого, среднетяжелого и легкого/бессимптомного течения заболевания отмечали наличие одышки одинаково часто. При анализе опросника mMRC определялась более выраженная степень одышки у лиц из групп тяжелого и среднетяжелого течения ($p < 0,005$ в сравнении с группой неболевших).

Описание одышки по опроснику «язык одышки» у лиц, имевших данный симптом, различалось между группами. Большинство медицинских работников, перенесших тяжелую форму COVID-19, описывали одышку как «выдыхаюсь» (2 из 4 (50%)). Наиболее часто описание одышки при среднетяжелом течении заболевания в анамнезе - «моя грудь стеснена, сдавлена снаружи» (5 из 12 (41,7%)), а большинство лиц с легкой и бессимптомной формами заболевания характеризовали одышку как «мне не хватает воздуха, хочется вдохнуть больше» (3 из 6 (50%)) и «не могу полностью вдохнуть» (3 из 6 (50%)). В контрольной группе также выявлялись лица, которые отмечали наличие одышки при быстрой ходьбе или при подъеме по лестнице и характеризовали ее как «дышу чаще, чем обычно» (2 из 4 (62,5%)), что не относится к патологическим описаниям одышки и связано с клиническими характеристиками респондентов, а именно с возрастом и повышенной массой тела.

Все медицинские работники заполнили опросники качества жизни SF-36 и шкалу усталости FAS. Несмотря на то, что исследование проводилось спустя продолжительный период после перенесенного заболевания (более 3 месяцев), по данным анализа опросника SF-36 было выявлено, что все переболевшие COVID-19, вне зависимости от степени тяжести инфекции, отмечали негативное влияние физического состояния на жизнедеятельность и повышенную усталость по сравнению с неболевшими. При расшифровке первичных баллов опросника SF-36 было выявлено значительное снижение физической и жизненной активностей у лиц, перенесших заболевание в тяжелой форме в сравнении с группой неболевших. Участники со среднетяжелым течением инфекции имели сниженный показатель оценки общего состояния своего здоровья, а также ограничение социальных контактов в связи с ухудшением физического и эмоционального состояния. Снижение общего эмоционального фона определялось в группе медицинских работников с легким и бессимптомным течением заболевания COVID-19 в анамнезе. Показатель состояния психического здоровья статистически не различался между группами. При оценке шкалы FAS определялась клинически значимая усталость ($FAS > 22$) у всех лиц, перенесших

COVID-19, вне зависимости от тяжести течения инфекции, что может быть проявлением постковидного синдрома. У медицинских работников, с тяжелым течением COVID-19 в анамнезе, отмечался повышенный показатель усталости по физической характеристике (Таблица 6).

Таблица 6 – Показатели качества жизни и усталости у групп медработников (n=183), баллы, Me [Q1; Q3]

Параметр	Тяжелое (n=16)	Среднетяжелое (n=71)	Легкое/бессимптомное (n=52)	Неболевшие (n=44)
Оценка качества жизни (SF-36)				
Физическая активность	45,0 [25,0;80,0] *	60,0 [45,0;100,0]	92,0 [80,0;92,0]	92,5 [83,6;100,0]
Влияние физического состояния на жизнедеятельность	25,0 [0,0;62,5] *	75,0 [25,0;100,0] *	75,0 [50,5;100,0] *	100,0 [100,0;100,0]
Интенсивность боли	70,0 [46,5;87,0]	100,0 [41,0;100,0]	94,5 [68,0;100,0]	100,0 [100,0;100,0]
Общее состояние здоровья	72,0 [53,5;75,0]	55,0 [50,0;67,0] *	73,0 [59,5; 82,5]	77,0 [65,8;87,0]
Жизненная активность	40,0 [17,5;47,5] *	45,0 [35,0;85,0]	52,0 [40,5;72,0]	67,5 [53,8;75,0]
Социальная активность	100,0 [37,5;100,0]	62,5 [50,0;82,5] *	87,0 [62,5;100,0]	100 [87,5;100,0]
Влияние эмоционального состояния на жизнедеятельность	70,5 [33,3;100,0]	76,5 [33,5;100,0]	66,9 [33,3;100,0] *	100,0 [66,7;100,0]
Психическое здоровье	52,0 [48,0;78,0]	60,0 [48,0;80,0]	64,5 [42,0;78,5]	72,0 [58,0; 80,0]
Шкала оценки усталости (FAS)				
FAS-общий балл	31,0 [20,0;35,0] *	20,5 [18,3;23,8] *	23,0 [17,0;27,5] *	19,0 [16,0;21,0]
FAS-ментальный компонент	12,0 [8,5;14,5]	8,0 [6,3;9,0]	10,0 [7,0;12,0]	8,0 [7,0;9,0]
FAS-физический компонент	19,0 [11,5;20,0] *	13,5 [9,5;16,9]	13,0 [9,0;16,5]	11,0 [9,0;12,0]

Примечание: * – уровень значимости различий $p < 0,05$ в сравнении с группой неболевших

При проведении корреляционного анализа была выявлена обратная взаимосвязь умеренной силы между показателем физической активности с возрастом и индексом коморбидности (Таблица 7).

Таблица 7 – Основные корреляции между клиническими характеристиками медицинских работников и показателями опросника SF-36 и шкалы FAS, r

Домены опросников	Возраст, годы	ИМТ, кг/м ²	Индекс коморбидности, балл	Количество дней от начала заболевания
Оценка качества жизни (SF-36)				
Физическая активность, балл	-0,463 **	-0,211	-0,443 **	0,081
Влияние физического состояния на жизнедеятельность, балл	-0,020	-0,066	-0,062	0,369
Интенсивность боли, балл	0,025	-0,155	-0,068	0,096
Общее состояние здоровья, балл	-0,102	0,020	-0,171	-0,135
Жизненная активность, балл	0,200	0,029	0,018	-0,061
Социальная активность, балл	-0,65	0,076	-0,036	-0,067
Влияние эмоционального состояния на жизнедеятельность, балл	0,087	0,122	0,019	-0,274
Психическое здоровье, балл	0,243	0,067	0,125	-0,202
Шкала оценки усталости (FAS)				
FAS-общий балл	-0,298 *	0,037	-0,092	0,113
FAS-ментальный компонент, балл	-0,237	-0,006	-0,051	0,271
FAS-физический компонент, балл	-0,292 *	0,042	-0,104	-0,050

Примечание: * – корреляция значима на уровне 0,05 (двухсторонняя); ** – корреляция значима на уровне 0,01 (двухсторонняя)

Было отмечено, что все оставшиеся домены опросника SF-36 не имели корреляции с основными клиническими характеристиками медицинских

работников. Отмечалась обратная корреляционная взаимосвязь слабой силы между показателями FAS-общего и FAS-физического баллов с возрастом медицинских работников. Корреляционная взаимосвязь между изучаемыми параметрами и количеством дней от момента заболевания до включения в исследование отсутствовала, что может свидетельствовать о стойкости клинических симптомов в контексте постковидного синдрома.

По оценкам некоторых исследователей, около 43% лиц, перенесших инфекцию, сталкиваются с его проявлениями [36, 56]. Литературные данные свидетельствуют о том, что наиболее частыми симптомами постковидного синдрома являются утомляемость и одышка [121, 52], реже лица, перенесшие заболевание, жалуются на когнитивные и психические расстройства, головную боль, миалгию, боли в груди и суставах, нарушения обоняния и вкуса, кашель, выпадение волос, бессонницу, ринорею, отхождение мокроты и тахикардию [106]. У большинства медицинских работников сниженные показатели качества жизни и повышенная усталость могли быть обусловлены наличием сопутствующих заболеваний или иных внешних факторов. Мы детально проанализировали жалобы и анамнез медработников и выявили, что 25 медицинских работников (17,9%) имели симптомы постковидного синдрома, которые не могли быть объяснены альтернативными причинами и сохранялись на протяжении не менее двух месяцев: из группы лиц с тяжелым $n=4$ (25%), среднетяжелым $n=11$ (15,5%) и легким/бессимптомным $n=10$ (19,2%) течениями заболевания в анамнезе (критерий χ^2 не различался между группами). Наиболее распространенными симптомами среди участников исследования были: нарушения обоняния и вкуса (54,2%), тревожность (33,3%), утомляемость (20,8%), одышка (12,5%), боль в суставах (8,3%), головная боль (4,7%), повышенная потливость (4,7%). Наши данные об отсутствии взаимосвязи между наличием симптомов постковидного синдрома и тяжестью перенесенного COVID-19 согласуются с результатами работ многих авторов [92, 132, 102, 111]. Однако, некоторые исследования определили снижение показателей физической активности и качества жизни среди перенесших тяжелый COVID-19, находившихся на лечении в отделениях

интенсивной терапии, спустя три месяца от выздоровления [133, 139]. Действительно, лица, перенесшие критическое состояние, имеют высокий риск возникновения «синдрома последствий интенсивной терапии» (ПИТ-синдром, Post-intensive care syndrome, PICS), который включает долгосрочные когнитивные, психические и физические изменения вследствие гипоперфузии и повреждения органов и тканей [75].

Таким образом, можно сделать вывод, что заболевание COVID-19 имело отрицательное влияние на общее самочувствие медицинских работников, что определялось снижением качества жизни за счет общего негативного влияния физического и эмоционального состояний на жизнедеятельность, а также социальной активности, пониженной оценкой состояния здоровья и ощущением усталости через 4 и более месяцев после инфекции. Выявленные изменения потребовали более детальное изучение жалоб медицинских работников. Было определено, что около 17,9 % сотрудников клиники, перенесших COVID-19, имеют проявления постковидного синдрома, которые не могли быть объяснены альтернативными причинами. Особый интерес для нас представляло исследование параметров мукозального иммунитета и фагоцитарной активности, в том числе у этой категории лиц.

3.1.2. Результаты лабораторных исследований

Некоторые исследователи показали, что изменения легочной ткани после COVID-19, которые сохраняются спустя два месяца после госпитализации, были ассоциированы с повышенными биомаркерами системного воспаления, такими как D-димер, интерлейкин-6 и С-РБ [96, 90]. Повышение уровней С-РБ, прокальцитонина и количества нейтрофилов коррелировали со стойкими клиническими симптомами постковидного синдрома у пациентов, перенесших COVID-19 [113]. Таким образом, при наличии клинических проявлений указанные показатели могут служить потенциальными биомаркерами постковидного синдрома. Для нас большой интерес представляет изучение и

выявление изменений фагоцитарной активности лейкоцитов и локального иммунного ответа слизистых оболочек дыхательных путей в постковидном периоде и их взаимосвязь с клиническими характеристиками.

3.1.2.1. Исследование гуморального звена адаптивного иммунитета

Гуморальное звено адаптивного иммунного ответа оценивалось по показателям уровней общих sIgA и IgG на различных участках слизистых оболочек (Таблица 8).

Таблица 8 – Уровень общего sIgA на разных участках слизистых оболочек и в секретах в зависимости от тяжести COVID-19 (n=183), мкг/л, Me [Q1; Q3]

Локализация	Тяжелое (n=16)	Среднетяжелое (n=71)	Легкое/бессимп- томное (n=52)	Неболевшие (n=44)
Ротоглотка	20,5 [15,1; 28,9] *	12,4 [2,6; 23,5]	9,04 [2,3; 25,0]	6,5 [1,1; 14,2]
Носоглотка	40,4 [18,3; 70,9]	33,0 [19,8; 56,0]	48,8 [21,4; 58,2]	29,9 [19,2; 58,2]
Индукцированная мокрота	73,2 [23,3; 85,5]	64,5 [37,8; 86,7]	45,0 [11,2; 83,1]	42,9 [13,1; 69,0]
Слюна	80,0 [71,6; 121,8]	95,8 [78,4; 139,3] *	78,9 [49,7; 99,5]	71,1 [54,2; 111,9]

Примечание: * – уровень значимости различий $p < 0,005$ в сравнении с контрольной группой

У лиц с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19 в анамнезе, концентрация sIgA в слюне и в соскобах слизистой ротоглотки была статистически значимо выше по сравнению с группой неболевших. Данных различий не выявлялось при исследовании показателей sIgA в индуцированной мокроте и в соскобах со слизистой носоглотки.

Выявление наиболее значимых изменений уровней sIgA в образцах слюны в нашем исследовании не случайно. Ротовая жидкость (слюна) служит резервуаром для патогенов, включая SARS-CoV-2, находящихся как в полости рта, так и в слизистой оболочке нижних дыхательных путей и носоглотки, а также в инфицированных слюнных железах [50, 118] и является, с одной стороны, потенциальным источником заражения, а с другой – «молекулярным ключом», отражающим спектр системных иммунологических изменений, обусловленных влиянием вирусной инфекции. Гильмиярова Ф.Н. и др. показали, что в слюне пациентов с коронавирусной инфекцией наблюдается достоверное увеличение содержания белковых фракций на 117% (включая sIgA), повышение содержания мочевины на 30% (что указывает на процессы активации катаболизма белка), повышение активности гаммаглутамилтранспептидазы (фермент, обеспечивающий метаболизм глутатиона – главного антиоксиданта в организме) на 162,5%, а также лактатдегидрогеназы в 15 раз и лактата на 600% в отличие от клинически здоровых лиц [7].

Была выявлена прямая корреляция слабой силы между уровнями sIgA ротоглотки и sIgA носоглотки ($r=0,173$; $p<0,05$), а также sIgA слюны ($r=0,236$; $p<0,05$) и sIgA индуцированной мокроты и слюны ($r=0,376$; $p<0,01$). Уровень общего sIgA на всех участках слизистых оболочек обратно коррелировал с числом дней от начала заболевания до проведения исследования ($p<0,05$).

Выявленные нами изменения в уровнях общего sIgA с большой вероятностью можно объяснить наличием доли специфических иммуноглобулинов против SARS-CoV-2 и других респираторных патогенов. Исследование уровней специфичных sIgA против SARS-CoV-2 было проведено в ряде работ. Например, Isho, B., et al., выявили увеличение sIgA к рецептор-связывающему домену шиповатого белка в слюне у пациентов с COVID-19 спустя длительный период после выздоровления (до 115 дней) в сравнении с контрольной группой [76]. Уровень специфического sIgA в слюне, как и уровень общего sIgA в нашем исследовании, снижался со временем. Кроме того, авторы данной работы не выявили сильной корреляции между концентрациями IgA в

крови и в слюне, что указывает на разграничение IgA-ответа в ротовой полости и на периферии, а именно – локальную продукцию sIgA в локальных лимфоидных фолликулах.

Результаты исследования общего IgG в образцах различных локализаций дыхательных путей представлены в Таблице 9.

Таблица 9 – Уровень общего IgG на разных участках слизистых оболочек и в секретах в зависимости от тяжести COVID-19 (n=183), мкг/мл, Ме [Q1;Q3]

Локализация	Тяжелое (n=16)	Среднетяжелое (n=71)	Легкое, бессимптомное (n=52)	Неболевшие (n=44)
Ротоглотка	0,012 [0,008;0,101]	0,014 [0,009;0,0154]	0,008 [0,005;0,066]	0,008 [0,007;0,034]
Носоглотка	0,040 [0,018;0,259] *	0,023 [0,009;0,084] **	0,208 [0,040;0,369]	0,115 [0,027;0,175]
Индукцированная мокрота	0,082 [0,057;0,209] **	0,096 [0,069;0,139] **	0,079 [0,042;0,097] *	0,018 [0,005;0,057]
Слюна	0,182 [0,107;0,640] *	0,079 [0,012;0,168]	0,071 [0,022;0,137]	0,053 [0,018;0,124]

Примечание: * – уровень значимости различий $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой,

** – уровень значимости различий $p < 0,005$ в сравнении с контрольной группой

У всех переболевших определено значимое повышение концентрации данного иммуноглобулина в индуцированной мокроте по сравнению с контрольной группой. В группе тяжелого течения заболевания также отмечалось статистически значимое увеличение концентрации общего IgG в слюне. Напротив, в носоглотке у лиц, перенесших заболевание в тяжелой и среднетяжелой формах, наблюдалось снижение уровня иммуноглобулина в сравнении с группами легкого, бессимптомного течения и неболевшими.

Полученные данные о повышении уровня общего IgG в слюне и в

индуцированной мокроте у пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой формах, согласуются с результатами Isho B., et al. [76]. Оценка уровня общего IgG в индуцированной мокроте ранее не проводилась, однако выявленная взаимосвязь с показателем данного иммуноглобулина в слюне представляет интерес для дальнейшего изучения.

В соскобах эпителия носоглотки отмечались пониженные титры IgG в группах тяжелого течения в отличие от уровней данного иммуноглобулина в слюне и индуцированной мокроте. Слизистая оболочка носа относится к входным воротам новой коронавирусной инфекции. Нами было выявлено, что в случаях тяжелого или среднетяжелого течения COVID-19, наблюдается 3-х или 5-и кратное снижение исследуемого показателя, что может свидетельствовать о локальном иммунодефиците, связанным с повреждением эпителиальных клеток вирусом, а также, вероятно, возрастной атрофией эпителия слизистой носа, учитывая преобладание более возрастной категории лиц в указанных группах.

Была проведена корреляционная оценка между показателями IgG в различных локусах дыхательных путей и показателями доменов опросников качества жизни и усталости (Таблица 10).

Таблица 10 – Коэффициенты корреляция (r) уровня общего IgG с некоторыми показателями качества жизни (SF-36) и усталости (FAS)

Критерий	IgG ротоглотки, мкг/мл	IgG носоглотки, мкг/мл	IgG слюны, мкг/мл
Физическая активность, балл	-0,407 *	-	-0,514 **
Социальная активность, балл	-	0,607 **	-
Психическое здоровье, балл	-	0,536 **	-
FAS-общий балл	-0,436 *	-	-
FAS-физический компонент, балл	-0,548 **	-	-

Примечание: * – корреляция значима на уровне 0,05 (двухсторонняя); ** – корреляция значима на уровне 0,01 (двухсторонняя)

При сопоставлении основных параметров, характеризующих качество жизни и гуморальный иммунитет, определена корреляция уровня общего IgG с некоторыми показателями качества жизни по опроснику SF-36 и выраженностью усталости по шкале FAS. При анализе корреляционной зависимости была выявлена прямая взаимосвязь между уровнем sIgA и концентрацией IgG в одних и тех же исследуемых участках слизистых, а также в секретах желез верхних и средних дыхательных путей (Таблица 11).

Таблица 11 – Коэффициенты корреляции (r) уровня общего IgG и sIgA той же локализации, а также уровня специфического IgG к SARS-CoV-2 сыворотки крови

Класс иммуноглобулинов	IgG ротоглотки, мкг/мл	IgG носоглотки, мкг/мл	IgG индуцированной мокроты, мкг/мл	IgG слюны, мкг/мл
Общий sIgA (соответствующей локализации), мкг/л	0,301 **	0,336 **	0,340 *	0,316 **
IgG к SARS-CoV-2 сыворотки, Ед/мл	0,320 *	0,296 *	0,475 **	0,390 **

Примечание: * – корреляция значима на уровне 0,05; ** – корреляция значима на уровне 0,01

Уровень общего IgG на всех участках слизистых оболочек имел прямую взаимосвязь с концентрацией специфических IgG сыворотки крови против SARS-CoV-2, что объясняется проникновением данного класса иммуноглобулина в секрет слизистых дыхательных путей из системного кровотока. В исследовании Isho et al. также были показаны схожие результаты, что указывает на возможное использование слюны для неинвазивного мониторинга иммунного ответа против инфекции [76]. В отличие от sIgA не определялась взаимосвязь между значением IgG в различных образцах слизистых и сроком от начала заболевания до проведения исследования, что может быть связано с постепенным увеличением концентрации данного иммуноглобулина в течение нескольких недель от момента появления первых симптомов заболевания и постепенным снижением показателя

в течение 3х месяцев после выздоровления, что описано в литературе [76]. Важно отметить, что не было выявлено корреляционной взаимосвязи между показателями локальных уровней sIgA и IgG с такими клиническими характеристиками, как возраст, индексы массы тела и коморбидности по Charlson, то есть отсутствовала взаимосвязь с основными факторами риска тяжелого течения COVID-19.

3.1.2.2. Исследование фагоцитарной активности лейкоцитов

Состояние клеточного звена врожденного иммунитета на системном уровне (венозная кровь) представлено в Таблице 12.

Таблица 12 – Фагоцитарная активность лейкоцитов периферической крови в зависимости от тяжести перенесенного COVID-19 (n=183), Me [Q1;Q3]

Показатель	Тяжелое (n=16)	Среднетяжелое (n=71)	Легкое/бес- симптомное (n=52)	Неболевшие (n=44)
ФИ МЦ крови, %	86,4 [75,6;95,4]	87,9 [82,5; 92,4]	84,7 [75,8;90,5]	85,9 [73,3;92,3]
ФИ ГЦ крови, %	97,6 [93,9;98,4]	97,4 [93,9;98,2]	98,2 [96,2;98,5]	97,9 [96,7;99,3]
Сод. НФ НСТ спонт., %	21,5 [17,3;28,0] *	20,0 [12,3;26,0]	19,8 [12,3;26,0]	16,0 [12,0;23,0]
ЦП НСТ спонт., %	0,31 [0,19;0,38] #*	0,23 [0,16;0,31]	0,24 [0,18;0,32]	0,22 [0,16;0,32]
Сод. НФ НСТ стимул., %	42,0 [33,5;52,5]	36,0 [30,0;47,0]	47,1 [34,5;48,2] *	34,5 [28,8;48,3]
ЦП НСТ стимул., %	0,57 [0,46;0,69]	0,47 [0,36;0,62] *	0,65 [0,52;0,76]	0,61 [0,43;0,69]
Индекс активации Нейтрофилов, усл. ед.	1,96 [1,33;2,45] †*	2,10 [1,60;2,78]	2,51 [2,11;2,99]	2,40 [2,00;2,86]

Примечание: уровень значимости различий $p < 0,05$: * – в сравнении с неболевшими; # - в сравнении с группой среднетяжелого течения; † – в сравнении с группой легкого и бессимптомного течения;

У лиц, перенесших инфекцию COVID-19 различной степени тяжести, не отмечено статистически значимых изменений фагоцитарных индексов моноцитов и гранулоцитов крови в сравнении с группой неболевших. Аналогичные результаты были представлены в работе Schulte-Schrepping J. et al., однако данное исследование проводилось во временном интервале от 2 до 29 дней от начала появления симптомов заболевания [120]. В группе лиц, перенесших COVID-19 в тяжелой форме, отмечалось повышение продукции активных форм кислорода лейкоцитами - увеличение содержания формазанпозитивных нейтрофилов (21,5 [17,3;28,0] %) и цитологического показателя (0,31 [0,19;0,38] % в НСТ спонтанном тесте) по сравнению с группой неболевших (16,0 [12,0;23,0] %, $p=0,01$) и 0,22 [0,16;0,32] %, $p=0,04$, соответственно). Это может свидетельствовать об усилении окислительных реакций фагоцитирующих клеток после перенесенной инфекции. У лиц с тяжелым течением заболевания в анамнезе также выявлено снижение резерва бактерицидной активности по показателю индекса активации нейтрофилов (1,96 [1,33;2,45]) в сравнении с неболевыми (2,40 [2,00;2,86] $p=0,04$), а в группе со среднетяжелым течением заболевания – тенденция к уменьшению данного параметра (2,10 [1,60; 2,78], $p=0,07$).

Мы определили процентное соотношение лиц, имеющих отклонения показателей фагоцитарной активности нейтрофилов (Таблица 13).

Таблица 13 – Доля медработников с измененными показателями функциональной активности нейтрофилов в зависимости от тяжести COVID-19 (n=183), %

Показатель	Тяжелое (n=16)	Среднетяжелое (n=71)	Легкое/ Бессимптомное (n=52)	Неболевшие (n=44)
Сод. НФ НСТ спонт. (выше нормы > 21%)	53,8	41,1	47,9	31
Индекс активации нейтрофилов (ниже нормы < 2,3 усл.ед.)	75	61,5	44,7	47,6

У большинства (53,8%) исследуемых пациентов с тяжелым течением заболевания определены повышенные показатели продукции активных форм кислорода нейтрофилами (сод. НФ НСТ спонт.), у 75% этой группы (3/4) был выявлен пониженный резерв бактерицидной активности крови (индекс активации нейтрофилов).

Изменения функции нейтрофилов спустя почти три месяца после перенесенного заболевания могут свидетельствовать об их активном вовлечении в остром периоде COVID-19 и о формировании функциональной дисфункции клеток после тяжелой инфекции. Защитные функции нейтрофилов при определенных условиях могут привести к негативным последствиям. Избыточное высвобождение эффекторных молекул, содержащихся в гранулах нейтрофилов и активных форм кислорода, которые выделяются клетками на поздних этапах вирусного воспаления, приводит к повреждению окружающих тканей. В работе Teuwen L.A., et al. было показано, что при остром респираторном дистресс-синдроме чрезмерная активация нейтрофилов может привести к увеличению проницаемости кровеносных сосудов вследствие высвобождения дефензинов и нейтрофильной эластазы [129]. Избыточная активность нейтрофилов в острый период инфекции может приводить к замедлению разрешения воспалительных реакций и репарации тканей за счет механизмов окислительного стресса и активации процессов иммуотромбообразования.

Интересно, что в исследовании Schulte-Schrepping et al. были получены схожие результаты: при культивировании нейтрофилов с *Escherichia coli* или стимуляции форбол-12-миристан-13-ацетатом было выявлено значительное снижение продукции активных форм кислорода в нейтрофилах в стимулированном тесте у пациентов с тяжелой формой COVID-19 в период от 2 до 29 дней от начала появления симптомов заболевания в сравнении с перенесшими легкую форму COVID-19 и группой неболевших [120]. По-видимому, данные изменения в острую фазу сохраняются длительное время, что было показано в нашем исследовании.

Исследование клеток мукозального иммунитета показало снижение поглотительной активности макрофагов и гранулоцитов в слюне в группе тяжелого течения COVID-19 в сравнении с группой контроля (Таблица 14)

Таблица 14 – Фагоцитарная активность лейкоцитов слизистых оболочек дыхательных путей в зависимости от тяжести перенесенного COVID-19 (n=183), %, Me [Q1;Q3]

Показатель	Тяжелое (n=16)	Среднетяжелое (n=71)	Легкое/ бессимптомное (n=52)	Неболевшие (n=44)
ФИ МФ слюны	13,9 [7,9;23,1]*	15,5 [8,7;45,3]	30,8 [10,7;51,6]	27,5 [7,3;41,4]
ФИ ГЦ слюны	27,9 [10,6;40,5]* †	36,7 [28,7;77,5]	64,3 [25,7;83,7]	42,5 [29,3;69,6]
ФИ МФ фаринг. соскоб	50,0 [46,5;66,7]	60,0 [31,5;74,6]	56,2 [37,2;73,9]	43,1 [19,7;61,1]
ФИ ГЦ фаринг. соскоб	78,8 [65,3;84,2]	72,9 [53,5;85,4]	79,2 [66,3;88,4]	73,6 [58,4;84,1]
ФИ МФ назальный соскоб	60,2 [34,1;66,9]	60,0 [44,1;73,4]	56,2 [36,8;72,4]	54,6 [31,1;70,2]
ФИ ГЦ назальный соскоб	72,4 [60,6;77,4]	76,2 [48,1;85,4]	78,3 [67,9;86,6]	73,7 [50,8;83,8]

Примечание: уровень значимости различий $p < 0,05$: † – в сравнении с группой легкого и бессимптомного течения; * – в сравнении с группой неболевших

Определялась обратная корреляция слабой силы между значениями индекса коморбидности и показателями фагоцитарной активности макрофагов ($r = -0,263$; $p < 0,005$) и гранулоцитов ($r = -0,198$; $p < 0,05$) слюны, а также возрастом и указанными параметрами ($r = -0,296$; $p < 0,005$ и $r = -0,225$; $p < 0,05$, соответственно), что указывает на то что, пациенты старшего возраста с отягощенным анамнезом нуждаются в назначении дополнительной иммунотерапии. Была проведена

оценка иммунологических изменений у медицинских работников с постковидным синдромом. Определялась тенденция к статистически значимому снижению показателя фагоцитарного индекса макрофагов слюны при наличии последствий новой коронавирусной инфекции (14,2 [5,5;28,9] %) при сравнении с теми, у кого они отсутствовали (27,3 [9,7;58,7] %, $p=0,052$). По остальным исследуемым иммунологическим параметрам значимых различий не наблюдалось, однако необходимо принять во внимание небольшую выборку лиц с постковидным синдромом, что не позволяет сделать однозначных выводов.

Влияние возраста на иммунные механизмы хорошо изучены, в первую очередь, описаны изменения клеток врожденного иммунитета, такие как дисфункция дендритных клеток, снижение показателей противомикробной активности нейтрофилов, повышенная продукция активных форм кислорода и др. [89]. В нашем исследовании возрастное ограничение было установлено до 65 лет, тем не менее, следует принять во внимание, что лица из группы тяжелого течения COVID-19 были старше и имели более высокий показатель индекса коморбидности.

При оценке уровня локальной противомикробной активности у медицинских работников нами определялось снижение фагоцитарных индексов макрофагов и гранулоцитов в слюне в группе тяжёлого течения COVID-19. Полученный результат сложно сопоставить с литературными данными ввиду отсутствия работ по изучению несистемного фагоцитоза у этих лиц, в связи с чем изучение фагоцитарного звена на локальном уровне слизистых оболочек дыхательных путей представляет большой интерес для дальнейшего исследования.

3.2. Проспективное открытое контролируемое исследование в параллельных группах по оценке эффективности и безопасности бактериальных лизатов у лиц, перенесших COVID-19, и неболевших в течение одного года

3.2.1. Общая характеристика группы

Участие в проспективном открытом контролируемом исследовании в параллельных группах было предложено 145 медицинским работникам клинической больницы г. Москвы – врачам, медсёстрам, младшему медицинскому персоналу, которые ранее дали согласие на участие в I этапе исследования. Добровольное информированное согласие подписали 82 медицинских работника (7 мужчин и 75 женщин), среди них – 47 человек, перенесших новую коронавирусную инфекцию в период с апреля 2020 г. по май 2021г., и 35 неболевших (Таблица 15).

Таблица 15 – Клиническая характеристика исследуемых групп (n=82)

Характеристика	I группа (n=20)	II группа (n=27)	III группа (n=18)	IV группа (n=17)
Муж/жен, n (%)	3/17 (15,0/85,0)	1/26 (3,7/96,3)	2/16 (11,1/88,9)	1/16 (5,9/94,1)
Возраст, лет, M±SD	42,0±13,6	45,5±15,6	43,1±14,1	43,6±12,7
Индекс массы тела, M±SD	27,1±6,6	26,1±5,6	29,5±8,2	28,3±5,2
Количество дней от начала заболевания, M±SD	155,0±79,7	122,9±61,8	-	-
Общий балл FAS, M±SD	20,7±7,1	23,5±7,0	19,2±3,2	19,3±3,4
Индекс коморбидности по Charlson, балл, Me [Q1;Q3]	0 [0;1]	0 [0;2]	1 [0;1,5]	0 [0;1,75]
Частота ОРИ за предшествующие 12 месяцев, не включая COVID-19, %				
0	21,1	37,0	25,0	25,0
1-2	52,6	59,3	68,8	68,8
>3	26,3	3,7	6,2	6,2

Исследуемые группы были сопоставимы по возрасту, полу, ИМТ, индексу коморбидности. Группы лиц, переболевших COVID-19, не отличались по количеству дней от начала заболевания до включения в исследование, среднее значение составило $136,4 \pm 70,7$ дней. По результатам оценки шкалы усталости FAS также не было получено достоверных различий между сравниваемыми группами. В сравниваемых группах было определено количество лиц с тяжелым, среднетяжелым и легким и бессимптомным течением COVID-19 до начала исследования и получения терапии препаратом на основе бактериальных лизатов (Таблица 16).

Таблица 16 – Степень тяжести течения заболевания COVID-19 в I и II группах, n (%), $p > 0,05$

Степень тяжести заболевания	I группа n=20	II группа n=27
Легкое/бессимптомное	5 (25,0)	13 (48,2)
Среднетяжелое	13 (65,0)	10 (37,0)
Тяжелое	2 (10,0)	4 (14,8)

Как видно из представленных данных, исследуемые группы статистически значимо не различались по тяжести перенесенной инфекции.

Нежелательные явления были выявлены у 12 (31,6%) медработников, получавших препарат, из них вероятная связь с приемом препарата определялась у 7 (18,4%) человек. частота жалоб на боль и першение в горле составила 7,9% и 2,6%, соответственно.

Симптомы наблюдались у 4 пациентов, однако имели легкую степень тяжести и разрешались в течение первых дней на фоне продолженного приема препарата. Одинаково редко среди 38 участники исследования отмечали сухость, жжение слизистой и заложенность носа – в 2,6% случаев (Таблица 17).

Таблица 17 – Частота нежелательных явлений и их связь с приемом препарата на основе бактериальных лизатов (n=82), n (%)

Нежелательное явление	I группа (n=20)	II группа (n=27)	p ₁₋₂	III группа (n=18)	IV группа (n=17)	p ₃₋₄
	Вероятная связь					
Сухость слизистой носа	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS	1 (5,6%)	1 (5,9%)	NS
«Жжение» слизистой носа	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS	1 (5,6%)	0 (0,0%)	NS
Заложенность носа	1 (5,0%)	0 (0,0%)	NS	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS
Першение в горле	1 (5,0%)	0 (0,0%)	NS	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS
Боль в горле	1 (5,0%)	0 (0,0%)	NS	2 (11,1%)	0 (0,0%)	NS
	Возможная связь					
Продуктивный кашель	1 (5,0%)	0 (0,0%)	NS	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS
Обострение угревой болезни	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS	1 (5,6%)	0 (0,0%)	NS
Herpes labialis	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS	1 (5,6%)	0 (0,0%)	NS
	Маловероятная связь					
Острая респираторная инфекция	1 (5,0%)	0 (0,0%)	NS	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS
Обострение хронического тонзиллофарингита	1 (5,0%)	0 (0,0%)	NS	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS

Примечание: p₁₋₂ – уровень значимости различий между группами I и II; p₃₋₄ – уровень значимости различий между группами III и IV

Частота развития НЯ, связанных с применением терапевтической вакцины, не отличалась от группы контроля. Все реакции оценивались как легкие, за исключением обострения хронического тонзиллофарингита у одного из добровольцев, которое сопровождалось болью и першением в горле, потребовало назначения антибактериальной терапии и было отнесено к НЯ средней степени тяжести с маловероятной связью с приемом препарата.

Результаты исследования безопасности назально-оральной схемы применения препарата на основе бактериальных лизатов у лиц, перенесших

COVID-19, подтверждают полученные ранее данные. Ни одно из нежелательных явлений не имело тяжелую степень и не потребовало отмены курса принимаемого препарата [9].

3.2.2. Оценка эффективности применения бактериальных лизатов в качестве метода иммунореабилитации у лиц, перенесших COVID-19

3.2.2.1. Клиническая эффективность

Мониторинг развития острых респираторных инфекций у медицинских работников, перенесших COVID-19, проводился с 24 сентября 2020г. по 17 мая 2022г. в зависимости от даты включения в исследование. Следует принять во внимание, что большинство сотрудников клиники, принимающих участие в исследовании, были вакцинированы против новой коронавирусной инфекции в период с 15 мая 2021г. по 20 сентября 2021г., согласно приказу Минздрава РФ, вакцинами Спутник V (75,5%), КовиВак (20,8%) и ЭпиВакКорона (3,8%). В соответствии с протоколом исследования, сезонная вакцинация участников исследования против других респираторных инфекций не проводилась. Среди медицинских работников первой группы (принимавшие препарат) за указанный период было вакцинировано 19 человек (95%), во второй группе (контроль) - 18 человек (66,7%).

Следует отметить, что за предшествующий исследованию год чаще ОРИ переносили медицинские работники из группы лиц, получавших препарат. Случаи COVID-19 фиксировались отдельно. Количество острых респираторных инфекций (за исключением COVID-19) и их тяжесть оценивались с помощью невалидизированного опросника в течение первого и второго полугодий отдельно, а также за весь период (12 месяцев) наблюдения.

В указанные сроки также учитывали длительность нетрудоспособности по причине ОРИ (Таблица 18).

Таблица 18 – Количество и степень тяжести острых респираторных инфекций у лиц, перенесших COVID-19, в течение года (n=47), Me [Q1;Q3]

Показатель	I группа (n=20)	II группа (n=27)	p
ОРИ в течение первого полугодия, n	0 [0;0]	0 [0;1]	0,024 *
ОРИ в течение второго полугодия, n	0 [0;1]	0,5 [0;1]	0,411
ОРИ за период 12 месяцев, n	1 [0;1]	1 [0;2]	0,151
Тяжесть ОРИ в течение первого полугодия, балл	0 [0;0]	0 [0;7,75]	0,010 *
Тяжесть ОРИ в течение второго полугодия, балл	0 [0;5]	1 [0;8]	0,257
Тяжесть ОРИ за период 12 месяцев, балл	3 [0;5]	6 [0;14,5]	0,049 *

Примечание: * – уровень значимости различий $p < 0,05$

В течение первого полугодия наблюдалось меньшее число случаев заболевания ОРИ в группе медицинских работников, получавших препарат ($p=0,024$), а также более легкое клиническое течение инфекций за период первых 6 месяцев наблюдения и за 12 месяцев исследования. В первой группе было большее количество лиц в сравнении с группой контроля, не переносивших ОРИ за период первого полугодия исследования ($\chi^2=6,758$, $p=0,014$). Не было получено достоверных различий в количестве дней нетрудоспособности по причине респираторной инфекции среди исследуемых групп в течение первого ($p=0,357$), второго ($p=0,527$) полугодий, а также всего периода наблюдения ($p=0,494$).

Среди вакцинированных против SARS-CoV-2 медицинских работников, ранее переносивших заболевание COVID-19, повторные случаи инфекции в течение года наблюдения были зарегистрированы в первой ($n=1$) и во второй ($n=2$) группах, однако вне зависимости от получения иммунокорректора все случаи заболевания протекали в легкой форме. Число лиц без повторных случаев заражения на протяжении первого ($\chi^2=1,085$, $p=0,486$) и второго ($\chi^2=0,424$, $p=0,604$) полугодий, а также за 12 месяцев наблюдения ($\chi^2=1,247$, $p=0,339$), между группами не различалось.

В обеих группах было равное количество лиц, имеющих хроническое заболевание ЛОР-органов (тонзиллит, тонзиллофарингит, риносинусит) (n=8). Отдельно учитывалось количество обострений хронических заболеваний на фоне респираторной инфекции у этих лиц (Таблица 19).

Таблица 19 – Количество обострений хронических заболеваний ЛОР-органов у лиц, перенесших COVID-19, в течение года (n=16), Me [Q1; Q3]

Обострения, количество	I группа (n=8)	II группа (n=8)	p	χ^2	p
В течение первого полугодия	0 [0;1]	0 [0;0,75]	0,721	0,291	0,641
В течение второго полугодия	0 [0;0]	0 [0;1]	0,382	1,333	0,323
За период 12 месяцев	0 [0;1,75]	0 [0,5;1,75]	0,721	0,254	0,657

Не было отмечено статистически значимых различий в развитии обострений хронических заболеваний ЛОР-органов между группами, что, вероятно, связано с небольшим числом лиц, имеющих данную патологию, и малой выборкой.

Таким образом, в период реабилитации медицинских работников, перенесших COVID-19, была исследована клиническая эффективность иммунокорректора на основе бактериальных лизатов. Было показано положительное влияние терапевтической вакцины на показатели частоты заболеваний ОРВИ, а также тяжести их течения. Согласно инструкции по применению, повторный прием препарата рекомендован спустя 6 месяцев, что также согласуется с полученными нами данными – отсутствие достоверных различий по частоте развития ОРВИ во втором полугодии. Таким образом, лицам, перенесшим COVID-19, следует рекомендовать повторный курс приема иммунокорректора. На фоне приема препарата не было отмечено снижения частоты развития обострений хронических заболеваний ЛОР-органов, что, вероятно, связано с малым размером выборки, как и влияния препарата на возникновение повторных случаев COVID-19 у наблюдаемых лиц.

3.2.2.2. Оценка влияния бактериальных лизатов на иммунологические параметры в группах медицинских работников, перенесших COVID-19

3.2.2.2.1. Исследование уровня общего sIgA в слюне, назальном, фарингеальном соскобах и индуцированной мокроте

В Таблице 20 представлены результаты иммунологического исследования в группах медицинских работников, перенесших COVID-19.

Таблица 20 – Изменение уровня общего секреторного иммуноглобулина А в группах перенесших COVID-19 (n=47), мкг/л, Me [Q1; Q3]

Параметр	Исходно	20й день	90й день
Группа I COVID-19 в анамнезе / препарат на основе бактериальных лизатов (n=20)			
sIgA слюны	83,9 [56,7;112,5]	102,7 [83,8;142,0]	67,21 [54,5;125,5]
sIgA ротоглотки	19,3 [7,0;42,9]	19,6 [6,0;83,8]	13,6 [7,4;48,3]
sIgA носоглотки	53,4 [37,7;62,1]	61,8 [29,8;97,2]	58,3 [33,6;92,5]
sIgA индуцированной мокроты	71,9 [32,3;90,1]	101,8 [79,6;152,4] *	61,8 [58,6;101,0]
Группа II COVID-19 в анамнезе / без препарата (n=27)			
sIgA слюны	82,2 [57,2;110,1]	91,0 [82,6;105,8]	83,9 [33,0;122,5]
sIgA ротоглотки	18,5 [5,0;32,1]	4,9 [1,9;7,6] #*	1,8 [1,3;24,7] *
sIgA носоглотки	35,6 [23,9; 62,2]	56,8 [35,2;82,4] #	52,3 [31,1;70,2]
sIgA индуцированной мокроты	47,2 [27,1;72,2]	59,3 [37,6;66,3]	72,2 [58,3; 96,5] #

Примечание: * – уровень значимости различий $p < 0,05$ между группами, # – уровень значимости различий $p < 0,05$ в сравнении с исходными показателями внутри группы

Все исходные исследуемые показатели системного и мукозального иммунитета статистически значимо не различались в изучаемых группах. При сравнении уровней общего sIgA в соскобах со слизистой ротоглотки у лиц, не получавших препарат, отмечалось статистически значимое уменьшение титра антител по сравнению с исходным уровнем на 20-й и 90-й день исследования.

Данных изменений не наблюдалось в основной группе медицинских работников, принимавших терапевтическую вакцину. В индуцированной мокроте к моменту окончания курса приема препарата (20-й день) титр локального иммуноглобулина статистически значимо увеличивался у лиц, принимавших препарат, в сравнении с данным показателем группы контроля.

Как уже описывалось ранее, секреторный IgA - основной класс антител, присутствующий на поверхностях слизистых оболочек. Этот подкласс иммуноглобулина играет важную роль в ранней защите от респираторных патогенов и является одним из основных составляющих мукозального иммунитета. В общем титре мукозальных иммуноглобулинов выявляется доля специфичных антител против SARS-CoV-2 [135]. У лиц, перенесших COVID-19 в тяжелой форме, в I этапе исследования было выявлено статистически значимое увеличение уровня sIgA слизистой ротоглотки, однако при динамическом наблюдении у лиц с анамнезом COVID-19 отмечалось снижение данного параметра к 90-му дню исследования. На фоне приема иммунокорректирующего препарата в 1 группе наблюдалось сохранение исходного титра общего sIgA данной локализации и его увеличение в индуцированной мокроте в отличие от лиц, не получавших терапевтическую вакцину. Сохранение исходного уровня общего sIgA и его увеличение на фоне приема препарата на основе бактериальных лизатов может свидетельствовать об иммунорегуляторном влиянии препарата на гуморальное звено мукозального иммунитета, включая поддержание и увеличение титра общего sIgA, не исключено также увеличение нейтрализующих антител против SARS-CoV-2 за счет неспецифической перекрестной активации адаптивного иммунитета.

3.2.2.2.2. Оценка динамики противомикробных свойств лейкоцитов слизистых дыхательных путей и крови на фоне приема препарата на основе бактериальных лизатов

В Таблице 21 представлены результаты исследования фагоцитарной активности лейкоцитов на локальном и системном уровнях.

Таблица 21 – Фагоцитарный индекс лейкоцитов в группах перенесших COVID-19 (n=47), %, Me [Q1;Q3]

Параметр	Исходно	20й день	90й день
Группа I COVID-19 в анамнезе / препарат на основе бактериальных лизатов (n=20)			
ФИ моноцитов крови	82,4 [73,7;89,8]	86,1 [70,9;90,3]	90,2 [74,6;95,8]
ФИ гранулоцитов крови	97,7 [96,3;98,6]	97,8 [96,3;98,9]	99,0 [98,2;99,3]
ФИ макрофагов слюны	11,8 [5,3;40,9]	13,9 [9,5;57,5]	26,4 [14,1;57,4] [#]
ФИ макрофагов назальный соскоб	19,27 [7,0; 42,9]	19,6 [6,0;83,8]	13,6 [7,4;48,3]
Группа II COVID-19 в анамнезе / без препарата (n=27)			
ФИ моноцитов крови	87,1 [82,9;91,1]	88,5 [76,0;93,2]	88,9 [80,2; 94,9]
ФИ гранулоцитов крови	98,2 [97,2;99,1]	98,7 [97,4;99,2]	98,7 [97,9;99,5]
ФИ макрофагов слюны	39,6 [14,4;57,4]	21,7 [7,7;43,0] [#]	25,9 [12,2;40,9] [#]
ФИ макрофагов назальный соскоб	18,5 [5,0;32,1]	4,9 [1,8;7,6] ^{#*}	1,8 [1,3;24,7] ^{#*}

Примечание: * – уровень значимости различий $p < 0,05$ между группами, [#] – уровень значимости различий $p < 0,05$ в сравнении с исходными показателями внутри группы

При оценке влияния бактериальных лизатов на иммунологические параметры слизистых дыхательных путей было выявлено статистически значимое повышение противомикробной активности макрофагов (с 11,8 до 26,4 %, $p=0,01$) и гранулоцитов слюны (с 31,2 до 43,2 %, $p=0,04$) на 90-й день исследования.

В то же время в группе лиц, не получавших препарат, напротив, наблюдалось статистически значимое снижение фагоцитарного индекса

макрофагов с 39,6 до 25,9 %, $p=0,02$. Поглощительная (фагоцитарная) активность лейкоцитов в назальном соскобе на фоне приема препарата не изменилась, тогда как в группе не получавших терапевтическую вакцину, выявлялось его статистически значимое снижение на 20-й и 90-й дни исследования относительно исходного уровня ($p<0,05$).

Изменение фагоцитарного индекса макрофагов в фарингеальном соскобе на фоне приема препарата отмечалось при разделении исходных значений на показатели выше и ниже средних (Рисунок 4).

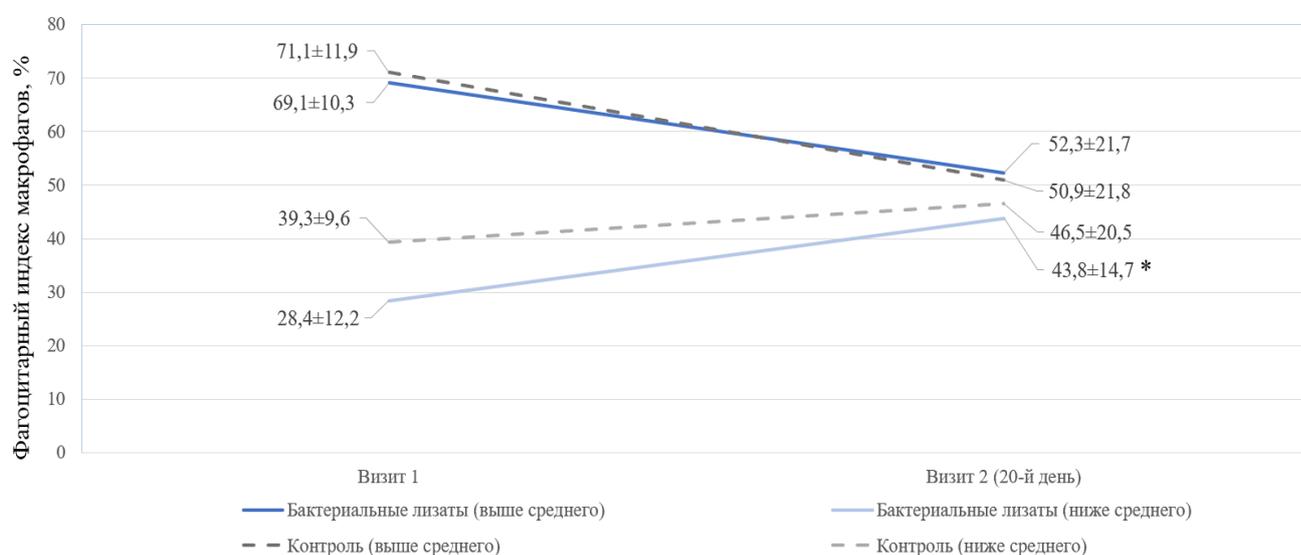


Рисунок 4 – Показатели фагоцитарных индексов макрофагов в фарингеальных соскобах на фоне приема препарата на основе бактериальных лизатов (n=47)

Примечание: * – уровень значимости различий $p = 0,05$

Была отмечена тенденция к статистически значимому повышению изучаемого параметра на фоне приема препарата при исходно сниженных показателях на 20-й день с $28,4\pm 12,2$ % до $43,8\pm 14,7$ % ($p = 0,05$). При сравнении средних значений фагоцитарных индексов гранулоцитов и моноцитов крови в группе принимавших иммунокорректирующий препарат не отмечалось статистически значимых различий относительно показателей группы контроля.

Статистически значимые изменения фагоцитарного индекса гранулоцитов крови у медработников, принимавших препарат на основе бактериальных лизатов, также отмечались при разделении исходных параметров на показатели выше и ниже средних (Рисунок 5).

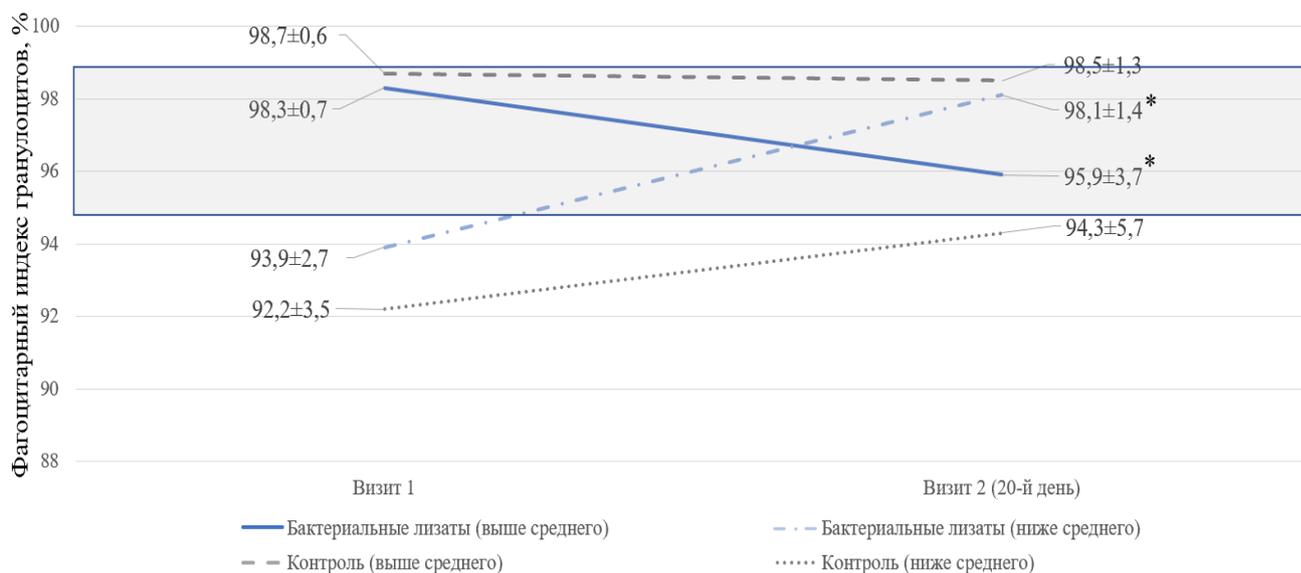


Рисунок 5 – Показатели фагоцитарного индекса гранулоцитов крови у лиц, перенесших COVID-19, на фоне приема бактериальных лизатов (n=47)

Примечание: * – уровень значимости различий $p < 0,05$; – область референсных значений выделена серым цветом (95-98%)

Определялось разнонаправленное иммуномодулирующее влияние препарата на данный иммунологический параметр показатель: при первоначально сниженном значении фагоцитарного индекса отмечалось его статистически значимое увеличение к моменту завершения приема препарата (визит 2) (с $93,9 \pm 2,7$ до $98,1 \pm 1,4$ %, $p=0,03$), а при исходно повышенном - снижение (с $98,3 \pm 0,7$ до $95,9 \pm 3,7$ %, $p=0,04$) в пределах референсных значений. Таким образом, было отмечено положительное влияние препарата на фагоцитарную активность лейкоцитов крови и мукозального иммунитета слизистых верхних дыхательных путей, а именно на показатели противомикробной активности лейкоцитов в слюне, а также в фарингеальных соскобах.

Полученные нами данные свидетельствуют о влиянии назально-оральной схемы приема иммунокорректирующего препарата как на локальный, так и на системный уровни иммунной защиты. Известно, что при попадании PAMPs на поверхность слизистых дыхательных путей и кишечника, происходит «захват» антигена дендритными и М-клетками с последующей презентацией в локальные лимфоидные фолликулы и афферентацией в регионарные лимфатические узлы. За счет указанных механизмов происходит «переключение» локального иммунного ответа на системный уровень, однако влияние на показатели фагоцитарной активности крови в исследуемой нами группе было менее выражено.

В ранее проведенных экспериментах на мышах и *ex vivo* на людях дендритные клетки при стимуляции сублингвальной полибактериальной вакциной MV130 продуцировали интерлейкины IL-12-p70 и фактор некроза опухолей альфа, усиливающие пролиферацию Т-хелперов 1 типа, а также IL-6, IL-1 β , IL-8, стимулирующие развитие клеток Th17 [58, 41]. Были показаны длительные иммунологические эффекты (до 12 месяцев), что связано с влиянием тренированного иммунитета на миелоидные клетки-предшественники костного мозга [101]. При поиске литературных источников не было найдено работ, посвященных изучению роли бактериальных лизатов на показатели мукозального и системного иммунитета у лиц, перенесших COVID-19, однако, принимая во внимание предшествующие исследования и данные нашей работы, можно заключить, что данная группа препаратов может быть рекомендована в качестве метода иммунотерапии в постковидном периоде за счет активации неспецифических механизмов врожденного иммунитета [30, 17].

3.2.2.2.3. Оценка продукции активных форм кислорода нейтрофилами крови

У лиц, получавших бактериальные лизаты, не выявлялось статистически значимой динамики показателей бактерицидной активности в НСТ-тестах (спонтанном и стимулированном), исходные значения сохранялись на первоначальном уровне на протяжении 3-х месяцев (Таблица 22) [21].

Таблица 22 – Показатели бактерицидной активности клеток врожденного иммунитета в группах перенесших COVID-19 (n=47), Me [Q1;Q3]

Параметр	Исходно	20й день	90й день
Группа I COVID-19 в анамнезе / препарат на основе бактериальных лизатов (n=20)			
НСТ спонтанный, %	16,0 [10,5;22,0]	14,5 [12,3;18,8]	16,0 [9,0;20,0]
ЦП НСТ спонт., %	0,2 [0,15;0,3]	0,2 [0,18;0,3]	0,2 [0,14;0,3]
НСТ стимул., %	43,0 [30,3;50,3]	38,5 [31,8;48,0]	31,0 [23,0;43,0]
ЦП НСТ стимул., %	0,6 [0,42;0,7]	0,6 [0,5;0,8]	0,4 [0,3;0,7]
Индекс активации, усл. ед.	2,25 [1,9;3,0]	2,4 [1,9;3,1]	2,9 [1,9;3,1]
Группа II COVID-19 в анамнезе / без препарата (n=27)			
НСТ спонтанный, %	23,0 [13,0;28,0]	19,0 [14,5;23,0]	20,0 [14,0;25,0]
ЦП НСТ спонт., %	0,3 [0,2;0,4]	0,2 [0,2;0,3]	0,2 [0,2;0,3]
НСТ стимул., %	45,0 [30,0;54,0]	38,0 [32,5;49,5]	45,0 [31,0;52,0]
ЦП НСТ стимул., %	0,6 [0,5;0,7]	0,6 [0,5;0,7]	0,6 [0,5;0,8]
Индекс активации, усл. ед.	2,1 [1,9;2,5]	2,5 [1,9;3,7]	2,7 [1,9;3,4]

Примечание: * – уровень значимости различий $p < 0,05$ внутри группы, # – уровень значимости различий $p < 0,05$ между сравниваемыми группами

В группе контроля также не отмечалось статистически значимых изменений показателей продукции активных форм кислорода в НСТ-спонтанном и стимулированных тестах. Влияние препаратов на основе бактериальных лизатов на показатели продукции активных форм кислорода в литературе не описано, в

нашем исследовании не отмечалось значимых изменений продукции активных форм кислорода и резерва бактерицидной активности нейтрофилов крови.

3.2.3. Оценка эффективности применения бактериальных лизатов в качестве метода иммунопрофилактики у лиц, не перенесших COVID-19

3.2.3. Клиническая эффективность

Мониторинг развития острых респираторных инфекций у медицинских работников, не болевших COVID-19, проводился с 24 сентября 2020г. по 26 июня 2022г. в зависимости от даты включения в исследование. Среди медицинских работников, принимавших препарат (группа III), за исследуемый период против SARS-CoV-2 было вакцинировано 13 человек (72,2%), в контрольной группе лиц, не получавших препарат на основе бактериальных лизатов (группа IV), было также вакцинировано 13 человек (76,5%).

Количество и тяжесть ОРИ оценивались за периоды первого и второго полугодия, а также за 12 месяцев исследования (Таблица 23).

Таблица 23 – Количество и тяжесть острых респираторных инфекций у лиц, не перенесших COVID-19, в течение 12 месяцев (n=35), Me [Q1;Q3]

Показатель	III группа (n=18)	VI группа (n=17)	p
ОРИ в течение первого полугодия, n	0 [0;0]	0 [0;1]	0,076
ОРИ в течение второго полугодия, n	0 [0;1]	1 [0;2]	0,433
ОРИ за период 12 месяцев, n	0 [0;2]	2 [0;3]	0,033*
Тяжесть ОРИ в течение первого полугодия, балл	0 [0;0]	0 [0;12]	0,069
Тяжесть ОРИ в течение второго полугодия, балл	0 [0;7,5]	5 [0;9]	0,502
Тяжесть ОРИ за период 12 месяцев, балл	0 [0;9]	9 [0;18]	0,049*

Примечание: * – уровень значимости различий $p < 0,05$

При оценке количества острых респираторных инфекций в течение первого и второго полугодия в группах лиц, не перенесших COVID-19, не было получено достоверных различий. Однако, при сравнении данного показателя за весь исследуемый период (12 месяцев), отмечалось меньшее число случаев ОРИ у лиц, принимавших бактериальные лизаты. Так же, как и в группах перенесших COVID-19, отмечалось более легкое течение респираторных инфекций на протяжении 12 месяцев в группе медицинских работников, принимавших иммунокорректор. Не было выявлено статистически значимой разницы по количеству дней нетрудоспособности в обеих группах за период первого ($p=0,526$) и второго ($p=0,852$) полугодий, а также всего периода наблюдения ($p=0,628$). В третьей группе (получавшие препарат) было большее количество лиц, не переносивших ОРИ как за первое полугодие ($\chi^2=5,106$, $p=0,035$), так и за весь год наблюдения ($\chi^2=5,042$, $p=0,041$) в сравнении с группой контроля.

Была проведена оценка наличия хронических заболеваний ЛОР-органов в группах медицинских работников, не переносивших COVID-19: в группе получавших препарат – $n=6$, и не получавших терапевтическую вакцину – $n=4$. На фоне приема препарата не отмечалось достоверных различий по количеству обострений ЛОР-заболеваний в течение первого ($\chi^2=2,860$, $p=0,290$) и второго ($\chi^2=1,667$, $p=0,287$) полугодий, а также всего исследуемого периода ($\chi^2=3,407$, $p=0,198$). Данное наблюдение противоречит результатам исследования Егоровой Н.Б. и соавторам, где наблюдалось снижение числа эпизодов ОРИ и их бактериальных осложнений у лиц на фоне приема бактериальных лизатов в течение до 14 недель, однако, следует указать, что в данной работе был использован метод подкожного введения препарата [11].

Влияние терапевтической вакцины, содержащей антигены условно-патогенных микроорганизмов, на частоту развития острых респираторных инфекций может быть обусловлено активацией неспецифических механизмов иммунной защиты, таких как: коррекция количества и функциональной активности субпопуляций лимфоцитов (CD3, CD8, CD 16, CD72), программирование пролиферации и активации CD4 Т-лимфоцитов по Th1 пути,

увеличение продукции IFN γ , коррекция синтеза изотипов иммуноглобулинов в сторону повышения IgG, IgA, sIgA [10].

Проводилась оценка количества случаев заболевания COVID-19 среди медицинских работников, вакцинированных против SARS-CoV-2, ранее не болевших новой коронавирусной инфекцией (Таблица 24).

Таблица 24 – Количество случаев новой коронавирусной инфекции среди лиц, ранее не переносивших COVID-19, в течение 12 месяцев (n=35), n, Me [Q1;Q3]

Показатель	III группа (n=18)	VI группа (n=17)	p
COVID-19 в течение первого полугодия	0 [0;0]	0 [0;0]	0,720
COVID-19 в течение второго полугодия	0 [0;1]	0 [0;1]	0,756
COVID-19 за период 12 месяцев	0 [0;1]	1 [0;1]	0,550

Примечание: * – уровень значимости различий $p < 0,05$

Статистически значимых различий между группами в зависимости от приема препарата не было. В группе получавших иммунокорректор COVID-19 в легкой форме перенесли 80% лиц, в среднетяжелой форме – 20%, тяжелые случаи заболевания в данной группе не регистрировались. Среди медицинских работников, не получавших терапевтическую вакцину, легкое течение инфекции наблюдалось у 71,4%, среднетяжелое – у 28,6%. Достоверных различий между группами не выявлено.

На основании имеющихся литературных данных о влиянии бактериальных лизатов на заболеваемость острыми респираторными инфекциями, препарат назначался медицинским работникам, ранее не болевшим COVID-19, в условиях пандемии с профилактической целью. Было отмечено меньшее количество случаев ОРВИ в группе лиц, получавших препарат, а также более низкий показатель тяжести перенесенных инфекций за период 12 месяцев. Однако препарат не влиял на частоту развития обострений хронических ЛОР-заболеваний на фоне респираторных инфекций, частоту заболевания и тяжесть течения

COVID-19 у исследуемых лиц. Возможно, требуются дальнейшие исследования с большим количеством добровольцев, а также сравнительная оценка эффективности различных методов введения препарата.

3.2.3.2. Оценка влияния бактериальных лизатов на иммунологические параметры в группах медицинских работников, не перенесших COVID-19

3.2.3.2.1. Исследование уровня общего sIgA в слюне, назальном, фарингеальном соскобах и индуцированной мокроте

Результаты исследования влияния препарата на основе бактериальных лизатов на уровень sIgA у медработников, не переносивших COVID-19, представлены в Таблице 25.

Таблица 25 – Уровень секреторного иммуноглобулина А в группах не болевших COVID-19 (n=35), мкг/л, Me [Q1;Q3]

Параметр	Исходно	20й день	90й день
Группа III Неболевшие/ препарат на основе бактериальных лизатов (n=18)			
sIgA слюны	67,5 [48,8;129,7]	79,7 [49,6;111,2]	62,8 [51,6;149,3]
sIgA ротоглотки	11,9 [5,4;36,8]	13,1 [2,2;45,2]	6,1 [1,8;41,3]
sIgA носоглотки	30,3 [16,8;61,3]	46,9 [24,3;67,9]	58,7 [39,1;163,2]
sIgA мокроты	62,2 [41,9;93,6]	81,2 [48,2;105,1]	40,7 [26,2;83,0]
Группа IV Неболевшие/ без препарата (n=17)			
sIgA слюны	73,1 [58,5;102,2]	101,1 [68,7;143,9]	74,4 [59,9;161,4]
sIgA ротоглотки	8,9 [3,3;23,3]	20,4 [8,7;106,2]	10,4 [4,1;25,9]
sIgA носоглотки	28,2 [20,9;50,4]	77,8 [36,1;113,4]	33,7 [25,8;92,5]
sIgA мокроты	40,9 [18,1;80,9]	54,8 [36,9;76,6]	83,6 [32,4;134,3]

Не было отмечено статистически значимой динамики sIgA на участках слизистых дыхательных путей у медработников, не переносивших COVID-19, в

обеих группах. Отсутствие влияния на иммунологические параметры может быть обусловлено сравнительно небольшой выборкой, а также, возможно, низкой терапевтической дозой препарата.

3.2.3.2.2. Оценка динамики противомикробных свойств лейкоцитов слизистых дыхательных путей и крови на фоне приема препарата на основе бактериальных лизатов

Результаты исследования влияния бактериальных лизатов на показатели фагоцитарной активности лейкоцитов крови и локального фагоцитоза представлены в Таблице 26.

Таблица 26 – Показатели клеточного звена иммунитета в группах не болевших COVID-19 (n=35), %, Me [Q1;Q3]

Параметр	Исходно	20й день	90й день
Группа III Неболевшие/ препарат на основе бактериальных лизатов (n=18)			
ФИ моноцитов крови	79,1 [72,3;88,9]	82,6 [67,9;95,0]	93,3 [90,2;96,2] #
ФИ гранулоцитов крови	98,1 [96,4;98,8]	98,2 [94,9;99,2]	98,5 [98,1;99,2]
ФИ лейкоцитов слюны	27,5 [13,6;39,8]	27,9 [19,9;71,4]	86,0 [30,4;90,7] *
ФИ лейкоцитов назальный соскоб	11,9 [5,4;36,8]	13,11 [2,2;45,2]	6,1 [1,8;41,3]
Группа IV Неболевшие/ без препарата (n=17)			
ФИ моноцитов крови	87,3 [75,8;93,0]	79,9 [71,1;92,6]	90,8 [86,4;96,4]
ФИ гранулоцитов крови	97,7 [96,8;98,9]	97,5 [95,8;98,5]	98,5 [96,3;99,6]
ФИ лейкоцитов слюны	16,7 [5,4;31,4]	43,9 [19,3;56,4]	18,3 [12,2;60,9]
ФИ лейкоцитов назальный соскоб	8,9 [3,3;23,3]	20,4 [8,7;106,2]	10,4 [4,1;25,9]

Примечание: * – p<0,05- уровень значимости между группами, # – p<0,05 - уровень значимости различий в сравнении с исходными показателями внутри группы

На фоне приема препарата увеличивались фагоцитарный индекс моноцитов крови и активность лейкоцитов в слюне. Поглотительная активность лейкоцитов

слюны повысилась в 4,7 раз по сравнению с показателями группы, не получавшей препарат. В назальном соскобе значимой динамики поглотительной активности лейкоцитов не было отмечено.

Таким образом, препарат на основе бактериальных лизатов способствует повышению активности лейкоцитов в слюне и ее поддержанию в назальных соскобах, что свидетельствует об усилении неспецифических механизмов на участках слизистых. Положительное влияние препарата было отмечено также на системном уровне - увеличение показателя фагоцитарного индекса моноцитов крови на 90-й день от начала исследования. Также было показано, что препарат на основе бактериальных лизатов значительно увеличивает поглотительную активность макрофагов в слюне при сравнении с группой контроля. Мы не смогли сопоставить наши данные с результатами других исследований, так как они ранее не выполнялись.

3.2.3.2.3. Оценка продукции активных форм кислорода нейтрофилами крови

Тест восстановления нитросинего тетразолия позволяет исследовать бактерицидную активность фагоцитов и комплексно оценить состояние фагоцитарной системы, возможность участия фагоцитирующих клеток в патогенезе инфекционного заболевания.

Данное исследование проводилось в группе относительно здоровых медицинских работников, не переносивших COVID-19, для оценки состояния фагоцитарного звена иммунного ответа ввиду особенностей профессиональной деятельности, связанной с работой в условиях повышенной инфекционной нагрузки. Результаты исследования влияния препарата на основе бактериальных лизатов на продукцию активных форм кислорода лейкоцитами в данной группе лиц представлены в Таблице 27.

Таблица 27 – Показатели клеточного звена иммунитета в группах не болевших COVID-19 (n=35), Me [Q1;Q3]

Параметр	Исходно	20й день	90й день
Группа III Неболевшие/ препарат на основе бактериальных лизатов (n=18)			
НСТ спонтанный, %	15,0 [12,0;17,8]	18,0 [13,5;21,8]	17,0 [15,0;23,0]
ЦП НСТ спонт., %	0,2 [0,2;0,3]	0,3 [0,2;0,3]	0,2 [0,2;0,4]
НСТ стимул., %	33,5 [25,8;46,5]	44,0 [33,8;54,3]	42,0 [30,0;58,0]
ЦП НСТ стимул., %	0,5 [0,4;0,6]	0,6 [0,5;0,7]	0,6 [0,5;0,9] *
Индекс активации, усл. ед.	2,2 [1,9;3,2]	2,5 [1,9;2,9]	2,6 [1,8;3,3]
Группа IV Неболевшие / без препарата (n=17)			
НСТ спонтанный, %	18,0 [10,5;22,5]	21,0 [17,3;26,8]	21,0 [10,8;27,0]
ЦП НСТ спонт., %	0,2 [0,2;0,3]	0,3 [0,2;0,4]	0,3 [0,2;0,3]
НСТ стимул., %	35,0 [31,0;54,0]	46,0 [37,0;50,0]	45,0 [28,8;56,8]
ЦП НСТ стимул., %	0,7 [0,5;0,7]	0,7 [0,6;0,8]	0,7 [0,5;1,0]
Индекс активации, усл. ед.	2,5 [2,0;2,9]	2,6 [2,1;2,9]	2,5 [1,6;5,4]

Примечание: * – уровень значимости различий $p < 0,05$ внутри группы

В группе не болевших COVID-19 и получавших бактериальные лизаты, отмечалось сохранение исходного уровня спонтанной бактерицидной активности нейтрофилов (НСТ спонт.), в то время как у лиц, не получавших препарат, имелась тенденция к повышению показателя к 3му визиту ($p=0,058$) При исследовании результатов НСТ-стимулированного теста выявлено повышение цитологического показателя на 90-й день исследования ($p=0,028$).

В группе медицинских работников, не болевших COVID-19, не отмечалось достоверной динамики показателей продукции активных форм кислорода и резерва бактерицидной активности нейтрофилов крови в сравнении с группой контроля, за исключением увеличения цитологического показателя в НСТ стимулированном тесте, что свидетельствуют о том, что фагоцитарная активность нейтрофилов и моноцитов периферической крови является малоизменчивой и сохранной функцией иммуногемеостаза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на беспрецедентные усилия остановить пандемию COVID-19, вирус SARS-CoV-2 по-прежнему наносит непоправимый медико-социальный ущерб. В условиях постпандемического распространения инфекции вследствие недостаточного охвата населения специфической вакцинацией и появления новых вирусных штаммов возникает необходимость переоценки уже имеющихся и разработки новых подходов по профилактике респираторных инфекций.

Слизистые оболочки дыхательных путей, как основные входные ворота для инфекционных патогенов, защищены сложным, многоуровневым, саморегулирующимся защитным механизмом - мукозальным иммунитетом. Усиление локальных защитных иммунных реакций слизистых дыхательных путей за счет активации неспецифических иммунных реакций, в частности, под воздействием препаратов на основе бактериальных лизатов, и создания «мукозальных» вакцин против SARS-CoV-2 являются перспективными подходами, направленными на сдерживание и завершение пандемии. Изменения мукозального иммунитета у лиц в постковидном периоде и подходы по иммунокоррекции остаются малоизученными, что и определило цели нашего исследования.

Исследование состояло из двух этапов: первый – одномоментное поперечное исследование мукозального иммунитета респираторной системы и фагоцитарной активности лейкоцитов у медицинских работников, перенесших COVID-19, и неболевших; второй - проспективное открытое контролируемое исследование в параллельных группах по оценке эффективности и безопасности препарата на основе бактериальных лизатов у лиц, перенесших COVID-19, и неболевших в течение одного года.

В наше исследование были включены медицинские работники городской клинической больницы г. Москвы, так как именно данная категория лиц относится к группе высокого риска заражения новой коронавирусной инфекцией и бессимптомного носительства вируса. Все этапы исследования проводились на

базах ГБУЗ «ГКБ им. Д.Д. Плетнева ДЗМ» и ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» в период с 2020-2022гг.

В одномоментное исследование было включено 183 медицинских работника (21 мужчина /162 женщины), средний возраст $47,4 \pm 12,7$ лет, перенесших новую коронавирусную инфекцию, в период с апреля 2020г. по май 2021г., и неболевших. Пациенты были распределены по группам в зависимости от тяжести перенесенного заболевания на основании временных методических рекомендаций «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции» Минздрава РФ, актуальных на момент проведения исследования. Лица, не болевшие COVID-19, составили контрольную группу. Нами было выявлено, что пациенты групп тяжелого и среднетяжелого течения были старше по возрасту и имели высокие показатели ИМТ и коморбидности, что согласуется с ранее определенными основными факторами, увеличивающими риск тяжелого течения COVID-19 [1].

Несмотря на то, что исследование было проведено спустя более трех месяцев ($146,4 \pm 64,7$ дней) с момента начала заболевания, у всех медицинских работников, перенесших COVID-19, вне зависимости от степени тяжести инфекции, были выявлены отклонения показателей критериев качества жизни (опросник SF-36) и усталости (шкала усталости FAS). Наиболее выраженные изменения у лиц из группы тяжелого течения, по результатам анализа опросников SF-36, касались показателя жизненной активности, в группе среднетяжелого течения наблюдалось ограничение социальной сферы жизни, а медицинские работники, перенесшие COVID-19 в легкой и бессимптомной форме, отмечали негативное влияние эмоционального состояния на жизнедеятельность. Также важно отметить, что у всех лиц, имеющих анамнез заболевания COVID-19, вне зависимости от тяжести перенесенной инфекции, была выявлена повышенная усталость, оцениваемая по результатам шкалы усталости FAS. Полученные нами данные у некоторых лиц соответствовали определению постковидного синдрома ВОЗ, проявления которого наблюдались на протяжении более двух месяцев от начала заболевания и не могли быть объяснены альтернативными причинами. По

результатам некоторых исследований, 50-80% пациентов, перенесших COVID-19, сообщали о неспецифических симптомах, чаще всего об усталости, головной боли, одышке, anosмии и нарушениях памяти [112, 95]. В нашем исследовании 25 медицинских работников (17,9%) имели симптомы постковидного синдрома, частота которого не различалась между группами (легкое/бессимптомное течение (n=10, 19,2%), среднетяжелое течение (n=11, 15,5%), тяжелое течение (n=4, 25%) COVID-19 в анамнезе), что свидетельствует об отсутствии влияния тяжести перенесенного заболевания на его развитие. Наиболее распространенными симптомами среди участников исследования были: нарушение обоняния и вкуса (54,2%), тревожность (33,3%), утомляемость (20,8%), одышка (12,5%), боль в суставах (8,3%), головная боль (4,7%), повышенная потливость (4,7%).

Для оценки гуморального звена адаптивного иммунитета на участках слизистых оболочек дыхательных путей мы исследовали показатели общих sIgA и IgG. sIgA в соскобах со слизистых ротоглотки определялся в повышенной концентрации у лиц тяжелого течения COVID-19 (20,5 [15,1;28,9] мкг/л), в сравнении с группой неболевших (6,5 [1,1;14,2] мкг/л, $p < 0,005$), у лиц среднетяжелого течения - в образцах слюны (95,8 [78,4;139,3] и 71,1 [54,2;111,9] мкг/л, в сравнении с группой неболевших, $p < 0,005$). Было выявлено, что уровень общего IgG на всех участках слизистых дыхательных путей коррелировал с показателями sIgA тех же локализаций, с уровнем антител класса G сыворотки крови против вируса SARS-CoV-2, а также с некоторыми критериями общего самочувствия по опроснику качества жизни SF-36 (физическая и социальная активность, психическое здоровье) и шкалы усталости FAS (общий балл FAS, физический компонент FAS). Повышенный уровень общего IgG отмечался в слюне у лиц, перенесших тяжелое течение COVID-19, в сравнении с группой контроля (0,182 [0,107;0,640] и 0,053 [0,018;0,124] мкг/мл, $p < 0,05$), а также в индуцированной мокроте во всех группах лиц, перенесших инфекцию, относительно показателей группы неболевших. Учитывая литературные данные, выявленные нами изменения в уровнях общих sIgA и IgG с большой вероятностью можно объяснить наличием доли нейтрализующих

иммуноглобулинов против SARS-CoV-2 [76], хотя специфичные мукозальные антитела против вируса в нашей работе не определялись. А корреляция показателей IgG в образцах соскобов и секретов дыхательных путей открывает перспективы по их использованию для неинвазивной диагностики напряженности иммунного ответа против новой коронавирусной инфекции. Выявленные изменения свидетельствуют о наличии сильного локального гуморального иммунного ответа после перенесенного заболевания, однако, большой интерес представляла оценка указанных параметров в постковидном периоде в динамике.

При исследовании фагоцитарных свойств лейкоцитов на системном уровне у медицинских работников, перенесших COVID-19, нами было отмечено отсутствие изменений фагоцитарной функции моноцитов и гранулоцитов периферической крови спустя три месяца после перенесенной инфекции, однако была выявлена избыточная функциональная активность лейкоцитов крови, которая проявлялась в повышенной продукции активных форм кислорода нейтрофилами (сод. нейтрофилов в НСТ спонт. тесте 21 [17,3;28,0] %, $p < 0,05$), а также снижении резерва бактерицидной активности по показателю индекса активации нейтрофилов (1,96 [1,33;2,45] усл.ед., $p < 0,05$) в группе перенесших заболевание в тяжелой форме, в сравнении с группой неболевших. У медицинских работников со среднетяжелым и легким течениями заболевания показатели также были увеличены, но различия не были достоверными по сравнению с неболевшими лицами. При исследовании секретов слизистых дыхательных путей выявлялось снижение поглотительной активности (ФИ) макрофагов (13,9 [7,9;23,1] %, $p < 0,05$) и гранулоцитов (27,9 [10,6;40,5] %, $p < 0,05$) в слюне в группе тяжелого течения COVID-19 в сравнении с группой контроля. Литературные данные и выявленные нами изменения у лиц, перенесших инфекции в тяжелой форме, могут указывать на активное вовлечение клеток врожденного иммунитета в острый период COVID-19 и о формировании дисфункции врожденных механизмов иммунного ответа у этих лиц спустя три и более месяцев после заболевания [34].

Перспективное открытое контролируемое исследование в параллельных

группах у лиц, перенесших COVID-19 и не болевших новой коронавирусной инфекцией, в течение одного года было проведено с целью оценки параметров мукозального иммунитета в динамике, а также эффективности методов иммунореабилитации и иммунопрофилактики у медицинских работников в период пандемии с применением препарата на основе бактериальных лизатов. Во втором этапе исследования приняли участие 82 медицинских работника (7 мужчин и 75 женщин), среди них – 47 человек, перенесших новую коронавирусную инфекцию в период с апреля 2020г. по май 2021г., и 35 неболевших. Участники исследования были распределены на 4 группы: 1 и 2 группы составили лица с COVID-19 в анамнезе; 3 и 4 группы – медицинские работники, не переносившие новую коронавирусную инфекцию. Сравнимые группы были сопоставимы по возрасту, полу, ИМТ, индексу коморбидности. Участникам 1 (с целью иммунореабилитации) и 3 групп (с целью иммунопрофилактики) назначался препарат на основе бактериальных лизатов.

Эффективность использования терапевтических вакцин на основе бактериальных лизатов была ранее доказана при различных заболеваниях, однако возможность их применения в период текущей пандемии в настоящее время не определена. Было найдено ограниченное число работ по исследованию эффективности и безопасности применения препаратов данной группы в условиях текущей пандемии. Терапевтические подходы с использованием лекарственных средств, оказывающих усиление локального иммунного ответа на участках слизистых оболочек за счет неспецифических механизмов, являются актуальными при возникновении угрозы появления новых инфекционных агентов, когда не доступны средства специфической профилактики или прошло недостаточное количество времени для формирования стойкого адаптивного иммунного ответа.

В проведенном нами исследовании был использован отечественный иммуномодулирующий препарат на основе бактериальных лизатов, который ранее доказал свою эффективность в профилактике развития ОРВИ и их бактериальных осложнений. Назально-оральная схема применения препарата имеет ряд преимуществ: отсутствие инвазивного вмешательства, высокий уровень

приверженности пациента и экономическая выгода. В нашей работе были оценены параметры безопасности и клинической эффективности препарата в условиях пандемии, а также исследовано влияние терапевтической вакцины не только на параметры системных механизмов врожденного иммунного ответа, но и на показатели мукозального иммунитета - первой линии защиты от различных респираторных патогенов, включая вирус SARS-CoV-2.

Нежелательные явления, связанные с применением терапевтической вакцины, достоверно не отличались по частоте развития от группы контроля и были выявлены у 12 лиц (31,6%), из них вероятная связь с приемом препарата определена у 18,4%. Основными жалобами были боль (7,9%) и першение в горле (2,6%), которые наблюдались у 4 из 38, однако имели легкую степень тяжести и разрешались в течение первых дней на фоне продолженного приема препарата. Реже добровольцы жаловались на сухость (2,6%), жжение слизистой (2,6%) и заложенность носа (2,6%). Все реакции оценивались как легкие и не требовали отмены курса получаемого препарата.

В группе медицинских работников, перенесших COVID-19 и получавших препарат, отмечались меньшее число случаев заболевания ОРВИ в течение первого полугодия исследования ($p < 0,05$), а также более легкое клиническое течение инфекций в первые 6 месяцев ($p < 0,05$) и всего периода наблюдения (12 месяцев) ($p < 0,05$). В группе принимавших иммунокорректор также было большее количество лиц, не переносивших ОРВИ за период первого полугодия исследования ($\chi^2 = 6,758$, $p = 0,014$), в сравнении с группой контроля. На фоне приема препарата не было отмечено снижения частоты развития обострений хронических заболеваний ЛОР-органов, как и влияния препарата на возникновение повторных случаев COVID-19, однако ограниченная численность выборки не позволяет сделать однозначные выводы.

При исследовании sIgA в соскобах со слизистой ротоглотки у лиц, не получавших бактериальные лизаты в постковидном периоде, отмечалось статистически значимое уменьшение титра антител по сравнению с исходным уровнем на 20-й и 90-й день исследования ($p < 0,05$). Данные изменения не

наблюдались в основной группе медицинских работников, принимавших иммунокорректор, у которых отмечалось сохранение исходного значения sIgA в слизистой ротоглотки и повышение уровня sIgA в индуцированной мокроте относительно исходного уровня на 20й день приема препарата (71,9 [32,3;90,1] и 101,8 [79,6;152,4] мкг/л, $p < 0,005$). Сохранение исходного уровня общего sIgA в слизистой ротоглотки и его увеличение в секрете индуцированной мокроты на фоне приема препарата свидетельствует об иммунорегуляторном влиянии препарата на гуморальное звено мукозального иммунитета, включая поддержание и, возможно, увеличение титра специфичных антител против SARS-CoV-2 после перенесенной инфекции за счет перекрестной активации гуморального звена адаптивного иммунного ответа. Также на фоне приема препарата у лиц в постковидном периоде отмечалось повышение противомикробной активности макрофагов (с 11,8 [5,3;40,9] до 26,4 [14,1;57,4] %, $p = 0,01$) и гранулоцитов слюны (с 31,2 [22,6;76,9] до 43,2 [21,2;76,7] %, $p = 0,04$) на 90-й день исследования относительно исходных показателей.

Нами не было выявлено влияния бактериальных лизатов на параметры системного фагоцитоза у лиц, перенесших COVID-19, в частности фагоцитарных индексов моноцитов и гранулоцитов крови, а также продукции активных форм кислорода нейтрофилами по средним показателям, что свидетельствуют о сохранности и малой изменчивости врожденных механизмов иммуногемеостаза. Однако, при разделении исходных параметров фагоцитарного индекса гранулоцитов крови на показатели выше и ниже средних было выявлено разнонаправленное иммуномодулирующее влияние препарата: при первоначально сниженном фагоцитарном индексе отмечалось его статистически значимое увеличение к моменту завершения приема препарата (визит 2) (с $93,9 \pm 2,7$ до $98,1 \pm 1,4$ %, $p = 0,03$), а при исходно повышенном - снижение (с $98,3 \pm 0,7$ до $95,9 \pm 3,7$ %, $p = 0,04$) в пределах референсных значений.

У лиц, не переносивших COVID-19 и получавших препарат с профилактической целью, не было отмечено статистически значимого уменьшения частоты развития ОРВИ отдельно в течение первого и второго

полугодия, однако, за весь исследуемый период (12 месяцев) было зарегистрировано меньшее число случаев ОРВИ у лиц, принимавших препарат ($p < 0,05$). В данной группе также было большее количество медицинских работников, не переносивших ОРВИ в течение первого полугодия ($\chi^2 = 5,106$, $p = 0,035$) и за весь период наблюдения ($\chi^2 = 5,042$, $p = 0,041$) в сравнении с группой контроля. Как и у лиц, перенесших COVID-19, не было получено достоверных данных о положительном влиянии терапевтической вакцины на частоту развития обострений хронических ЛОР-заболеваний на фоне респираторных инфекций и на частоту заболеваний COVID-19. Было также показано положительное влияние препарата на параметры системного фагоцитоза и мукозального иммунитета в данной группе лиц: отмечалось статистически значимое повышение фагоцитарного индекса моноцитов крови в сравнении с исходным уровнем на 90й день исследования (79,1 [72,3;88,9] и 93,3 [90,2;96,2] %, $p < 0,05$) в пределах референсных значений; поглотительная активность лейкоцитов слюны повысилась в 4,7 раз по сравнению с показателями группы, не получавшей препарат ($p < 0,05$), что свидетельствует об иммунокорригирующем влиянии препарата на основе бактериальных лизатов на клеточные реакции системного фагоцитоза и врожденного иммунитета на уровне слизистых оболочек верхних дыхательных путей.

Защита слизистых оболочек респираторного тракта является главной задачей в разработке профилактических мер против существующих и вновь возникающих инфекционных патогенов. Полученные нами данные свидетельствуют о наличии дефектов мукозальной защиты и фагоцитарной активности у медицинских работников, перенесших COVID-19. Было показано положительное влияние бактериальных лизатов на механизмы врожденного и адаптивного звеньев мукозального иммунитета дыхательных путей и системного иммунного ответа, а также доказана клиническая эффективность и безопасность применения терапевтической вакцины у медицинских работников в постковидном периоде в качестве метода иммунокорригирующей терапии, а также у не болевших COVID-19, получавших препарат с профилактической целью.

ВЫВОДЫ

1. У медицинских работников в постковидном периоде через $146,4 \pm 64,7$ дней от начала заболевания отмечается статистически значимое снижение качества жизни и повышенное ощущение усталости вне зависимости от тяжести перенесенного COVID-19, постковидный синдром выявлен у 17,9 %.

2. В группах тяжелого и среднетяжелого течения COVID-19 спустя 3 и более месяцев отмечено статистически значимое повышение уровня sIgA в соскобах со слизистой ротоглотки (20,5 мкг/л) и в слюне (95,8 мкг/л) в сравнении с неболевшими (6,5 и 71,1 мкг/л, соответственно). Выявлено повышение уровня IgG в образцах индуцированной мокроты в группах тяжелого (0,082 мкг/мл) и среднетяжелого (0,096 мкг/мл) течения в сравнении с группой неболевших (0,018 и 0,053 мкг/мл, соответственно), а также в образцах слюны в группе тяжелого течения (0,182 мкг/л) в сравнении с контролем (0,053 мкг/л), $p < 0,05$.

3. Выявлено статистически значимое снижение фагоцитарных индексов (27,9 %) гранулоцитов и макрофагов (13,9 %) слюны в группе тяжелого течения COVID-19 в сравнении с неболевшими (42,5 и 27,5 %, соответственно), а также повышение продукции активных форм кислорода нейтрофилами (21,5 %) и уменьшение показателей резерва бактерицидной активности крови (1,96 усл. ед.) в сравнении с не переносившими COVID-19 (16,0 % и 2,40 усл. ед., соответственно).

4. В постковидном периоде назначение иммунокорректирующего препарата на основе бактериальных лизатов привело к статистически значимому уменьшению количества респираторных инфекций в течение 6 месяцев и их тяжести за период 12 месяцев. В группе перенесших COVID-19 отмечалось стойкое сохранение высоких значений sIgA в слизистой ротоглотки (19,6 мкг/л) по сравнению с контрольной группой (4,9 мкг/л, $p < 0,05$) и увеличение фагоцитарного индекса макрофагов слюны (с 11,8 до 26,4 %, $p < 0,05$) на 90-й день исследования.

5. Иммуномодулирующий эффект бактериальных лизатов на показатель фагоцитарного индекса гранулоцитов крови имел зависимость от исходных уровней: при сниженных показателях наблюдалось увеличение противомикробной активности (с $93,9 \pm 2,7$ до $98,1 \pm 1,4$ %, $p < 0,05$), при первоначально высоких значениях – их уменьшение в пределах референсных значений (с $98,3 \pm 0,7$ до $95,9 \pm 3,7$ %, $p < 0,05$).

6. У не болевших COVID-19 медицинских работников применение препарата на основе бактериальных лизатов с профилактической целью привело к статистически значимому уменьшению количества ОРВИ и их тяжести в течение 12 месяцев наблюдения в сравнении с группой контроля. Выявлено повышение фагоцитарной активности моноцитов крови (с 79,1 до 93,3 %, $p < 0,05$) и лейкоцитов слюны (с 27,5 до 86,0 %, $p < 0,05$) на 90-й день исследования.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Медицинским работникам, перенесшим тяжелую форму COVID-19, рекомендована оценка параметров мукозального иммунитета (sIgA, фагоцитарный индекс лейкоцитов слюны) и фагоцитарной активности лейкоцитов (НСТ тест восстановления нитросинего тетразолия (спонтанный и индуцированный)) позволяют выявить дефекты противоинфекционной защиты после перенесенного COVID-19, оценить эффективность иммунореабилитации пациентов в постковидном периоде.

2. Пациентам, перенесшим COVID-19, с целью реабилитации рекомендуется назначение иммуностропной терапии препаратами на основе бактериальных лизатов в виде назально-оральной формы приема.

3. Медицинским работникам, осуществляющим деятельность в условиях повышенной вирусной нагрузки, показано применение назально-оральной формы иммуностропного препарата на основе бактериальных лизатов с целью профилактики респираторных инфекций в период эпидемиологически неблагоприятных условий.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение №1.

Способ применения и дозировка препарата на основе бактериальных лизатов для назально-орального применения

Препарат принимают по комбинированной схеме интраназально, затем внутрь. Во флакон с препаратом непосредственно перед применением с помощью шприца вносят 2 мл растворителя (натрия хлорида раствор 0.9% для инъекций или кипяченая вода) температуры 18-25 °С и перемешивают. Время растворения не должно превышать 2 мин. Растворенный препарат можно хранить при температуре от 2° до 8°С в течение 3 сут и применять при отсутствии помутнения.

Препарат вводят интраназально медицинской пипеткой. При пероральном введении необходимый объем препарата набирают шприцем и переносят содержимое шприца в ложку.

Прием пищи не менее чем за 1 ч до приема препарата, следующий прием пищи не менее чем через 2 ч после приема препарата.

При введении очередной пероральной и интраназальной дозы препарата необходимо учитывать интенсивность реакции на его предыдущее использование

Схема введения препарата для назально-орального применения

Дни приема препарата	Доза препарата per os, мл	Доза препарата назально капли/ в каждую половину носа
1 день	2	4 (по 2 капли в каждую половину носа)
2 день	-	-
3 день	2	4 (по 2 капли в каждую половину носа)
4 день	-	-
5 день	2	4 (по 2 капли в каждую половину носа)
6 день	-	-
7 день	2	4 (по 2 капли в каждую половину носа)
8 день	-	-
9 день	2	4 (по 2 капли в каждую половину носа)
10 день	-	-
11 день	2	4 (по 2 капли в каждую половину носа)
12 день	-	-
13 день	2	4 (по 2 капли в каждую половину носа)
14 день	-	-
15 день	2	4 (по 2 капли в каждую половину носа)
16 день	-	-
17 день	2	4 (по 2 капли в каждую половину носа)
18 день	-	-
19 день	2	4 (по 2 капли в каждую половину носа)

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД – артериальное давление	ОРИ – острых респираторных инфекций
АМП – Антимикробные пептиды	ОСЕ – относительные световые единицы
АПФ 2 – рецептора ангиотензинпревращающего фермента 2 типа	ПИТ – синдром - синдром последствий интенсивной терапии
ВДП – верхние дыхательные пути	ПСВ – пиковой скорости выдоха
ВИГ – временный инфекционный госпиталь	ПЦР – полимеразной цепной реакции
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека	С-РБ – С-реактивный белок
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения	СЦИ – средний цитохимический индекс
ГЦ – гранулоциты	ФИ – фагоцитарный индекс
ИА – индекс активации	ФИТЦ – флуоресцеина-5-изотиоцианат
ИМТ – индекса массы тела	ФНО- α – фактор некроза опухолей альфа
КТ – компьютерная томография	ФПК – формазанпозитивные клетки
МАЛТ – мукозо-ассоциированная лимфоидная ткань	ФСБ – фосфатно-солевого буфер
МКАТ – моноклональные антитела	ЦП – цитологический показатель
МЦ – моноциты	ЧДД – частота дыхательных движений
НВЛ – нейтрофильных внеклеточных ловушек	ЭДТА – этилендиаминтетрауксусной кислоты
НСТ-тест – тест восстановления нитросинего тетразолия	AdCOVID5 – vector 5 vaccine
НФ – нейтрофилы	BCR – B-cell receptor
НЯ – нежелательные явления	CCR9 – C-C chemokine receptor type 9
ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром	CD – cluster of differentiation
	COVID-19 – Coronavirus disease 2019

FAS – Fatigue assessment scale	PRRs – Patternrecognition receptors
FiO ₂ – fractional inspired oxygen	qSOFA – Sequential Organ Failure Assessment Quick
IFN – interferon	RBD – receptor-binding domen
IgG – immunoglobulin G	RLRs – RIG-like receptors
IgM – immunoglobulin M	SARS-CoV-2 – Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus
IL – Interleukin	SF-36 – Health Status Survey SF-36
mMRC –Modified Medical Research Council questionnaire	sIgA – secretory immunoglobulin A
NK – Natural killer cells	SpO ₂ – oxygen saturation
NLR –2- nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor 2	TCR – T-cell receptor
NLR-1 – nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor 1	Th – helper cells
PAMP – Pathogen-associated molecular patterns	TLRs – Toll-like receptors
PaO ₂ – arterial oxygen partial pressure	TMPRSS2 – Transmembrane protease serine 2
PICS – Post-intensive care syndrome	
pIgR – polymeric immunoglobulin receptor	
PNEC – pulmonary neuroendocrine cells	

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев, С.Н. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19): Временные методические рекомендации. Версия 9 от 26.10.2020 г. / С.Н. Авдеев, Л.В. Адамян, Е.И. Алексеева [и др.]. – Москва: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2020. – 236 с.
2. Авдеев, С.Н. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19): Временные методические рекомендации / С.Н. Авдеев, Л.В. Адамян, Е.И. Алексеева [и др.]. Том Версия 10. – Москва: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2021. – 260 с.
3. Авдеев, С.Н. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19): Временные методические рекомендации / С.Н. Авдеев, Л.В. Адамян, Е.И. Алексеева [и др.]. Том Версия 11. – Москва: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2021. – 225 с.
4. Амелина, Е.Л. Мукоактивная терапия/ Е.Л. Амелина, Э.Х. Анаев, С.А. Красовский и др.// ИД«Атмосфера»– 2006.– С. 99 -101.
5. Афанасьев, С.С. Микробиоценозы открытых полостей и мукозальный иммунитет / С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин, Е.А. Воропаева [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2013. – № 27. – С. 6-11.
6. Ахматова, Н.К. Молекулярные и клеточные основы иммунорегуляции, иммунодиагностики и иммунокоррекции/ Н.К. Ахматова, Н.Б. Егорова, И.Б. Семенова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8, № 2-3. – С. 113-194.
7. Гильмиярова, Ф.Н. Молекулярный профиль ротовой жидкости при новой коронавирусной инфекции / Ф.Н. Гильмиярова, О.А. Гусякова, Д.Ю. Константинов [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2021. – Т. 66, № 3. – С. 133-138.
8. Дьяконова, В.А. Пособие для врачей клинической лабораторной диагностики «Оценка функциональной активности фагоцитарной системы человека в норме и при патологии» / В.А. Дьяконова, В.Г. Пак, А.С. Будихина [и др.]

др.]. – Москва : МБК Консалтинг, 2009. – 35 с.

9. Егорова, Н.Б. Иммуновак-ВП-4 в профилактике острых респираторных заболеваний в детских организованных коллективах / Н.Б. Егорова, Е.А. Курбатова, И.М. Грубер, И.Б. Семенова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2010. – № 6. – С. 35-40.

10. Егорова, Н.Б. Иммунотерапевтическая концепция использования микробных антигенов при атопии и патологии, ассоциированной с условно-патогенной микрофлорой (на примере поликомпонентной вакцины Иммуновак-ВП-4) / Н.Б. Егорова, Е.А. Курбатова // Медицинская иммунология. – 2008. – Т. 10, № 1. – С. 13-20.

11. Егорова, Н.Б. Поликомпонентная вакцина Иммуновак-ВП-4 и иммуно-терапевтическая концепция ее использования для профилактики и лечения заболеваний, вызываемых условно патогенными микроорганизмами / Н. Б. Егорова, Е.А. Курбатова, Н.К. Ахматова, И.М. Грубер // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2019. – № 1. – С. 43-49.

12. Каннер, Е.В. Мукозальная иммунная система пищеварительного и респираторного трактов: возможности профилактики и лечения инфекционных заболеваний / Е.В. Каннер, А.В. Горелов, Д.В. Печкуров [и др.] // Медицинский совет. – 2019. – № 11. – С. 100-107.

13. Караулов, А.В. Новое в физиологии мукозального иммунитета / А.В. Караулов, В.А. Алешкин, С.С. Афанасьев [и др.]. – Москва: Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 2015. – 168 с.

14. Козлов, И.Г. Микробиота, мукозальный иммунитет и антибиотики: тонкости взаимодействия / И.Г. Козлов // РМЖ. – 2018. – Т. 26, № 8-1. – С. 19-27.

15. Костинов, М.П. Иммунокоррекция в педиатрии: Практическое руководство для врачей / М.П. Костинов, В.А. Булгакова, З.Р. Абаева [и др.] – 2-е издание, дополненное. – Москва: Медицина для всех, 2001. – 240 с.

16. Костинов, М.П. Приоритетная вакцинация респираторных инфекций в период пандемии SARS-COV-2 и после ее завершения: Пособие для врачей / М.П.

Костинов, А.Г. Чучалин, Л.С. Намазова-Баранова [и др.] ; Российское респираторное общество. – Москва : Группа МДВ, 2020. – 32 с.

17. Костинов, М.П. Иммунопатогенные свойства SARS-CoV-2 как основа для выбора патогенетической терапии / М.П. Костинов // Иммунология. – 2020. – Т. 41, № 1. – С. 83-91.

18. Костинов, М.П. Потенциальная иммунопрофилактика COVID-19 у групп высокого риска инфицирования : Временное пособие для врачей / М.П. Костинов, О.А. Свитич, Е.В. Маркелова. – Москва: Группа МДВ, 2020. – 60 с.

19. Костинов, М.П. Основы иммунореабилитации при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) : Пособие для врачей / Под редакцией М.П. Костинова. – Москва : Группа МДВ, 2020. – 112 с.

20. Крюкова, Н.О. Бактериальные лиганды в реабилитации медицинских работников после COVID-19 / Н.О. Крюкова, Н.Д. Абрамова, Е.А. Хромова [и др.] // Пульмонология. – 2022 – Т.32, №5 – С.716-727.

21. Крюкова, Н.О. Секреторный иммуноглобулин А респираторной системы и COVID-19 / Н.О. Крюкова, Е.Б. Ракунова, М.П. Костинов [и др.] // Пульмонология. – 2021 – Т.31, №6 – С.792-798.

22. Методика расчета индекса коморбидности Charlson – M, 2005. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://boris.bikbov.ru/2010/08/10/metodika-rascheta-indeksa-komorbidnosti-charlson/>

23. Нестерова, И.В. Методы комплексной оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии : Методические рекомендации для иммунологов-аллергологов, врачей и биологов клинической лабораторной диагностики / И.В. Нестерова, Г.А.Чудилова, С.В. Ковалева, Л.В.Ломтатидзе, Н.В.Колесникова, А.А.Евглевский. – Краснодар, 2017. – 51 с.

24. Нормативные параметры фагоцитарной системы человека, определенные с помощью проточной цитофлуориметрии : Пособие для врачей клинической лабораторной диагностики. / Н.С. Олиферук, С.С. Аршинова, А.И. Мартынов, Б.В. Пинегин. – Москва : МБК Консалтинг, 2009. – 44 с.

25. Пашенков, М.В. Физиология клеток врожденной иммунной системы:

дендритные клетки / М.В. Пащенко, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2006. – Т. 27, № 6. – С. 368-378.

26. Сенкевич, Н.Ю. Оценка влияния образовательных программ в пульмонологии (астма-школы) на качество жизни больных бронхиальной астмой (первый опыт применения в России опросника SF-36 в пульмонологии) / Н.Ю. Сенкевич, А.С. Белевский, А.Г. Чучалин // Пульмонология. – 1997. – № 3. – С. 18-22.

27. Трушенко, Н.В. Вербальные характеристики одышки у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких и бронхиальной астмой / Н. В. Трушенко, С.Ю. Чикина, Е.П. Лукашенко, А.Г. Чучалин // Пульмонология. – 2011. – № 3. – С. 70-80.

28. Хаитов, М.Р. Мукозальный иммунитет респираторного тракта и его роль при профессиональных патологиях / М.Р. Хаитов, Н.И. Ильина, Л.В. Лусс, А.А. Бабахин // Медицина экстремальных ситуаций. – 2017. – Т. 61, № 3. – С. 8-24.

29. Хасанова, А.А. Особенности секреторного иммуноглобулина А у пациентов после перенесенной COVID-19-инфекции / А.А. Хасанова, М.П. Костинов, И.Л. Соловьева [и др.] // Инфекционные болезни. – 2022. – Т. 20, № 3. – С. 17-25.

30. Чучалин, А.Г. Мукозальный иммунитет у пациентов с covid- 19: лечение и реабилитация / А.Г. Чучалин, Н.Д. Абрамова, Н.К. Ахматова, И.В. Бишева [и др.]. – Москва : Группа МДВ, 2022. – 128 с.

31. Чучалин, А.Г. Одышка: актуальные проблемы современной медицины / А.Г. Чучалин //Терапевтический архив. – 2022. – Т.94, №3. – С367-371.

32. Чучалин, А.Г. Респираторная медицина: Руководство: в 3 т. / под ред. А.Г. Чучалина //М.: Литтера, 2017. – Т. 1. – 636с.

33. Щубелко, Р.В. Мукозальный иммунитет верхних дыхательных путей / Р.В. Щубелко, И.Н. Зуйкова, А.Е. Шульженко // Иммунология. – 2018. – Т. 39, № 1. – С. 81-88.

34. Agafonova, E. Mucosal Immunity After Novel COVID-19 Infection -

Virus-Induced Immunosuppression: Preliminary Study / E. Agafonova, I. Reshetnikova, F. Rizvanova // *Bionanoscience*. – 2022. – N 12 (4). – P. 1473-1481.

35. Ahmed, A. Human Antimicrobial Peptides as Therapeutics for Viral Infections / A. Ahmed, A. Siman-Tov, G. Hall [et al.] // *Viruses*. – 2019. – N11 (8). – P. 704.

36. Altmann, D.M. Decoding the unknowns in long covid / D.M. Altmann, R.J. Boyton // *BMJ*. – 2021. – N 372. – P. 132.

37. Amanat, F. SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report / F. Amanat, F. Krammer // *Immunity*. – 2020. – N 52 (4). – P. 583-589.

38. Azkur, A.K. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19 / A.K. Azkur, M. Akdis, D. Azkur // *Allergy*. – 2020. – N 75 (7). – P. 1564-1581.

39. Baker, K. Immunoglobulin Transport and Immunoglobulin Receptors / K. Baker, R.S. Blumberg, C.S. Kaetzel // *Mucosal Immunology: Fourth Edition*. – 2015. – N 1. – P. 349-407.

40. Basil, M.C. The Cellular and Physiological Basis for Lung Repair and Regeneration: Past, Present, and Future / M.C. Basil, J. Katzen, A.E. Engler [et al.] // *Cell Stem Cell*. – 2020. – N 26 (4). – P. 482-502.

41. Benito-Villalvilla, C. MV140, a sublingual polyvalent bacterial preparation to treat recurrent urinary tract infections, licenses human dendritic cells for generating Th1, Th17, and IL-10 responses via Syk and MyD88 / C. Benito-Villalvilla, C. Cirauqui, C.M. Diez-Rivero [et al.] // *Mucosal Immunol.* – 2017. – N 10 (4) – P. 924-935.

42. Bidgood, S.R. Translocalized IgA mediates neutralization and stimulates innate immunity inside infected cells / S.R. Bidgood, J.C. Tam, W.A. McEwan [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2014. – N 111 (37) – P. 13463-8.

43. Bin Hafeez, A. Antimicrobial Peptides: An Update on Classifications and Databases / A. Bin Hafeez, X. Jiang, P.J. Bergen, Y. Zhu // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – N 22 (21). – P. 11691.

44. Blanco-Melo, D. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives

Development of COVID-19 / D. Blanco-Melo, B.E. Nilsson-Payant, W.C. Liu, S. Uhl [et al.] // *Cell*. – 2020. – N 181 (5). – P. 1036-1045.e9.

45. Bleier, B.S. COVID-19 Vaccines May Not Prevent Nasal SARS-CoV-2 Infection and Asymptomatic Transmission / B.S. Bleier, M. Ramanathan, A.P. Lane // *Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2020 – P. 194599820982633.

46. Borges, R.C. Dendritic cells in COVID-19 immunopathogenesis: insights for a possible role in determining disease outcome / R.C. Borges, M.S. Hohmann, S.M. Borghi // *Int. Rev. Immunol.* – 2021. – N 40 (1-2) – P. 108-125.

47. Branchfield, K. Pulmonary neuroendocrine cells function as airway sensors to control lung immune response // K. Branchfield, L. Nantie, J.M. Verheyden [et al.] // *Science*. – 2016. – N 351 (6274). – P. 707-10.

48. Brandtzaeg, P. Secretory immunity with special reference to the oral cavity / P. Brandtzaeg // *J. Oral Microbiol.* – 2013. – N 5.

49. Brann, D.H. Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system suggests mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia / D.H. Brann, T. Tsukahara, C. Weinreb [et al.] // *Sci. Adv.* – 2020. – N 6 (31). – P. eabc5801.

50. Braz-Silva, P.H. Performance of at-home self-collected saliva and nasoro-pharyngeal swabs in the surveillance of COVID-19. / P.H. Braz-Silva, A.C. Mamana, C.M. Romano [et al.] // *J. Oral Microbiol.* – 2020. – N 13 (1). – P. 1858002.

51. Campbell, D.J. Rapid acquisition of tissue-specific homing phenotypes by CD4(+) T cells activated in cutaneous or mucosal lymphoid tissues / D.J. Campbell, E.C. Butcher // *J. Exp. Med.* – 2002. – N 195 (1). – P. 135-41.

52. Cares-Marambio, K. Prevalence of potential respiratory symptoms in survivors of hospital admission after coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis / K. Cares-Marambio, Y. Montenegro-Jiménez, R. Torres-Castro [et al.] // *Chron. Respir. Dis.* – 2021. – N 18. – P. 14799731211002240.

53. Carney, S.M. Methods in Lung Microbiome Research. S.M. Carney, J.C. Clemente, M.J. Cox [et al.] // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 2020. – N 62 (3). – P. 283-299.

54. Carty, M. Detection of Viral Infections by Innate Immunity / M. Carty, C. Guy, A.G. Bowie // *Biochem. Pharmacol.* – 2021. – N 183 – P. 114316.
55. Cervia, C. Systemic and mucosal antibody responses specific to SARS-CoV-2 during mild versus severe COVID-19 / C. Cervia, J. Nilsson, Y. Zurbuchen [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2021. – N 147 (2) – P. 545-557.e9.
56. Chen, C. Global Prevalence of Post-Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Condition or Long COVID: A Meta-Analysis and Systematic Review / C. Chen, S.R. Haupt, L. Zimmermann [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2022. – N 226 (9) – P. 1593-1607.
57. Chen, C.H. Development and Challenges of Antimicrobial Peptides for Therapeutic Applications / C.H. Chen, T.K. Lu // *Antibiotics (Basel)*. – 2020. – N 9 (1). – P. 1593-1607.
58. Cirauqui, C. Human dendritic cells activated with MV130 induce Th1, Th17 and IL-10 responses via RIPK2 and MyD88 signalling pathways / C. Cirauqui, C. Benito-Villalvilla, S. Sánchez-Ramón [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 2018. – N 48 (1) – P. 180-193.
59. Coffey, J.W. Oral Biologic Delivery: Advances Toward Oral Subunit, DNA, and mRNA Vaccines and the Potential for Mass Vaccination During Pandemics / J.W. Coffey, G.D. Gaiha, G. Traverso // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2021. – N 61 – P. 517-540.
60. Conley, M.E. Intravascular and mucosal immunoglobulin A: two separate but related systems of immune defense? / M.E. Conley, D.L. Delacroix // *Ann. Intern. Med.* – 1987. – N 106 (6) – P. 892-9.
61. De Vries, J. Drent M. Measuring fatigue in sarcoidosis: the Fatigue Assessment Scale (FAS) / J. De Vries, H. Michielsen, G.L. Van Heck, M. Drent // *Br. J. Health P.* – 2004. – N 9 (Pt 3) – P. 279-91.
62. Deo, P.N. Oral microbiome: Unveiling the fundamentals / P.N. Deo, R. Deshmukh // *J. Oral Maxillofac. Pathol.* – 2019. – N 23 (1) – P. 122-128.
63. Ellinghaus, D. Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure / D. Ellinghaus, F. Degenhardt, L. Bujanda [et al.] // *N. Engl. J.*

Med. – 2020. – N 383 (16) – P. 1522-1534.

64. Evans, S.E. Inhaled innate immune ligands to prevent pneumonia / S.E. Evans, M.J. Tuvim, C.J. Fox [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2011. – N 163 (1) – P. 195-206.

65. Fang, L. OM-85 Broncho-Vaxom®, a Bacterial Lysate, Reduces SARS-CoV-2 Binding Proteins on Human Bronchial Epithelial Cells / L. Fang, L. Zhou, M. Tamm, M. Roth // *Biomedicines.* – 2021. – N 9 (11) – P. 1544.

66. Faustini, S.E. Detection of antibodies to the SARS-CoV-2 spike glycoprotein in both serum and saliva enhances detection of infection / S.E. Faustini, S.E. Jossi, M. Perez-Toledo [et al.] // *medRxiv.* – 2020. – N 164 (1) – P. 135-147.

67. Grifoni, A. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals / A. Grifoni, D. Weiskopf, S.I. Ramirez [et al.] // *Cell.* – 2020. – N 181 (7) – P. 1489-1501.

68. Guiot, J. Methodology for Sputum Induction and Laboratory Processing / J. Guiot, S. Demarche, M. Henket [et al.] // *J. Vis. Exp.* – 2017. – N 130 – P. 56612

69. Hassan, A.O. A Single-Dose Intranasal ChAd Vaccine Protects Upper and Lower Respiratory Tracts against SARS-CoV-2 / A.O. Hassan, N.M. Kafai, I.P. Dmitriev [et al.] // *Cell.* – 2020. – N 183 (1) – P. 169-184.

70. Hirano, T. COVID-19: A New Virus, but a Familiar Receptor and Cytokine Release Syndrome / T. Hirano, M. Murakami // *Immunity.* – 2020. – N 52 (5) – P. 731-733.

71. Holmgren, J. Mucosal immunity and vaccines / J. Holmgren, C. Czerkinsky // *Nat. Med.* – 2005. – N 11 (4) – P. S45-53.

72. Hou, Y.J. SARS-CoV-2 Reverse Genetics Reveals a Variable Infection Gradient in the Respiratory Tract / Y.J. Hou, K. Okuda, C.E. Edwards [et al.] // *Cell.* – 2020. – N 182 (2) – P. 429-446.

73. Hui, K.P.Y. Tropism, replication competence, and innate immune responses of the coronavirus SARS-CoV-2 in human respiratory tract and conjunctiva: an analysis in ex-vivo and in-vitro cultures / K.P.Y. Hui, M.C. Cheung, R.A.P.M. Perera [et al.] // *Lancet Respir. Med.* – 2020. – N 8 (7) – P. 687-695.

74. Idris, M.M. Down regulation of defensin genes during SARS-CoV-2 infection / M.M. Idris, S. Banu, A.B. Siva [et al.] // *Acta Virol.* – 2022. – N 66 (3) – P. 249-253.
75. Inoue, S. Post-intensive care syndrome: its pathophysiology, prevention, and future directions / S. Inoue, J. Hatakeyama, Y. Kondo [et al.] // *Acute Med. Surg.* – 2019. – N 6 (3) – P. 233-246.
76. Isho, B. Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients / B. Isho, K.T. Abe, M. Zuo [et al.] // *Sci. Immunol.* – 2020. – N 5 (52) – P. eabe5511.
77. Iwasaki, A. Early local immune defences in the respiratory tract / A. Iwasaki, E.F. Foxman, R.D. Molony // *Nat. Rev. Immunol.* – 2017. – N 17 (1) – P. 7-20.
78. Jiménez-Alcázar, M. Host DNases prevent vascular occlusion by neutrophil extracellular traps / M. Jiménez-Alcázar, C. Rangaswamy, R. Panda [et al.] // *Science.* – 2017. – N 358 (6367) – P. 1202-1206.
79. Jogalekar, M.P., A. Veerabathini, and P. Gangadaran, SARS-CoV-2 variants: A double-edged sword? / M.P. Jogalekar, A. Veerabathini, P. Gangadaran // *Exp. Biol. Med. (Maywood).* – 2021. – N 246 (15) – P. 1721-1726.
80. Kasuga, Y. Innate immune sensing of coronavirus and viral evasion strategies / Y. Kasuga, B. Zhu, K.J. Jang [et al.] // *Exp. Mol. Med.* – 2021. – N 53 (5) – P. 723-736.
81. King, R.G. Single-dose intranasal administration of AdCOVID elicits systemic and mucosal immunity against SARS-CoV-2 in mice / R.G. King, A. Silva-Sanchez, J.N. Peel [et al.] // *bioRxiv.* – 2020. – N 9 (8) – P. 881.
82. Ku, M.W. Intranasal vaccination with a lentiviral vector protects against SARS-CoV-2 in preclinical animal models / M.W. Ku, M. Bourguine, P. Authié [et al.] // *Cell Host Microbe.* – 2021. – N 29 (2) – P. 236-249.
83. Kupferschmidt, K. Fast-spreading U.K. virus variant raises alarms / K. Kupferschmidt // *Science.* – 2021. – N 371 (6524) – P. 9-10.
84. Lagunas-Rangel, F.A. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and lymphocyte-to-C-reactive protein ratio in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19):

A meta-analysis / F.A. Lagunas-Rangel // *J. Med. Virol.* – 2020. – N 92 (10) – P. 1733-1734.

85. Lavelle, E.C. Mucosal vaccines - fortifying the frontiers / E.C. Lavelle, R.W. Ward // *Nat. Rev. Immunol.* – 2022. – N 22 (4) – P. 236-250.

86. Leiva-Juárez, M.M. Lung epithelial cells: therapeutically inducible effectors of antimicrobial defense / M.M. Leiva-Juárez, J.K. Kolls, S.E. Evans // *Mucosal Immunol.* – 2018. – N 11 (1) – P. 21-34.

87. Li, Y. The Effects of Secretory IgA in the Mucosal Immune System / Y. Li, L. Jin, T. Chen // *Biomed Res. Int.* – 2020. – N 2020 – P. 2032057.

88. Li, Z.J. Broad Impacts of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic on Acute Respiratory Infections in China: An Observational Study / Z.J. Li, L.J. Yu, H.Y. Zhang [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2022. – N 75 (1) – P. e1054-e1062.

89. Lian, J. Immunosenescence: a key player in cancer development / J. Lian, Y. Yue, W. Yu [et al.] // *J. Hematol. Oncol.* – 2020. – N 13 (1) – P. 151.

90. Liao, B. Longitudinal clinical and radiographic evaluation reveals interleukin-6 as an indicator of persistent pulmonary injury in COVID-19 / B. Liao, Z. Liu, L. Tang [et al.] // *Int. J. Med. Sci.* – 2021. – N 18 (1) – P. 29-41.

91. Lu, R. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding / R. Lu, X. Zhao, J. Li [et al.] // *Lancet.* – 2020. – N 395 (10224) – P. 565-574.

92. Lu, Y. Cerebral Micro-Structural Changes in COVID-19 Patients - An MRI-based 3-month Follow-up Study / Y. Lu, X. Li, D. Geng [et al.] // *EClinicalMedicine.* – 2020. – N 25 – P. 100484.

93. Ma, A. High Levels of Circulating IL-8 and Soluble IL-2R Are Associated With Prolonged Illness in Patients With Severe COVID-19 / A. Ma, L. Zhang, X. Ye [et al.] // *Front. Immunol.* – 2021. – N 12 – P. 626235.

94. Ma, H. Serum IgA, IgM, and IgG responses in COVID-19 / H. Ma, W. Zeng, H. He [et al.] // *Cell Mol Immunol.* – 2020. – N 17 (7) – P. 773-775.

95. Mahmud, R. Post-COVID-19 syndrome among symptomatic COVID-19 patients: A prospective cohort study in a tertiary care center of Bangladesh / R.

Mahmud, M.M. Rahman, M.A. Rassel [et al.] // PLoS One. – 2021. – N 16 (4) – P. e0249644.

96. Marvisi, M. First report on clinical and radiological features of COVID-19 pneumonitis in a Caucasian population: Factors predicting fibrotic evolution / M. Marvisi, F. Ferrozzi, L. Balzarini [et al.] // Int. J. Infect. Dis. – 2020. – N 99 – P. 485-488.

97. Mason, R.J. Pathogenesis of COVID-19 from a cell biology perspective / R.J. Mason // Eur. Respir. J. – 2020. – N 55 (4) – P. 2000607.

98. Mestecky, J. Mucosal immunology of the genital and gastrointestinal tracts and HIV-1 infection / J. Mestecky, Z. Moldoveanu, P.D. Smith [et al.] // J. Reprod. Immunol. – 2009. – N 83 (1-2) – P. 196-200.

99. Mestecky, J. Mucosal immunology / J. Mestecky, W. Strober, M.W. Russell [et al.] – Academic Press, 2015. – 2423 p.

100. Michielsen, H.J. Psychometric qualities of a brief self-rated fatigue measure: The Fatigue Assessment Scale / H.J. Michielsen, J. De Vries, G.L. Van Heck // J. Psychosom. Res. – 2003. – N 54 (4) – P. 345–352.

101. Mitroulis, I. Modulation of Myelopoiesis Progenitors Is an Integral Component of Trained Immunity / I. Mitroulis, K. Ruppova, B. Wang [et al.] // Cell. – 2018. – N 172 (1-2) – P. 147-161.

102. Miyazato, Y. Prolonged and Late-Onset Symptoms of Coronavirus Disease 2019 / Y. Miyazato, S. Morioka, S. Tsuzuki [et al.] // Open Forum Infect. Dis. – 2020. – N 7 (11) – P. ofaa507.

103. Mudgal, R. Prospects for mucosal vaccine: shutting the door on SARS-CoV-2 / R. Mudgal, S. Nehul, S. Tomar // Hum. Vaccin. Immunother. – 2020. – N 16 (12) – P. 2921-2931.

104. Mulay, A. SARS-CoV-2 infection of primary human lung epithelium for COVID-19 modeling and drug discovery / A. Mulay, B. Konda, G. Garcia Jr. [et al.] // Cell Rep. – 2021. – N 35 (5) – P. 109055.

105. Neutra, M.R. Mucosal vaccines: the promise and the challenge / M.R. Neutra, P.A. Kozlowski // Nat. Rev. Immunol. – 2006. – N 6 (2) – P. 148-158.

106. O'Dwyer, D.N. Lung Microbiota Contribute to Pulmonary Inflammation and Disease Progression in Pulmonary Fibrosis / D.N. O'Dwyer, S.L. Ashley, S.J. Gurczynski [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2019. – N 199 (9) – P. 1127-1138.
107. Ong, E.Z. A Dynamic Immune Response Shapes COVID-19 Progression / E.Z. Ong, Y.F.Z. Chan, W.Y. Leong [et al.] // *Cell Host Microbe.* – 2020. – N 27 (6) – P. 879-882.
108. Pabst, R. Tissue distribution of lymphocytes and plasma cells and the role of the gut / R. Pabst, M.W. Russell, P. Brandtzaeg // *Trends Immunol.* – 2008. – N 29 (5) – P. 206-208.
109. Pilette, C. Lung mucosal immunity: immunoglobulin-A revisited / C. Pilette, Y. Ouadrhiri, V. Godding [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2001. – N 18 (3) – P. 571-588.
110. Pollán, M. SARS-CoV-2 seroprevalence in Spain - Authors' reply / M. Pollán, B. Pérez-Gómez, R. Pastor-Barriuso [et al.] // *Lancet.* – 2020. – N 396 (10261) – P. 1484-1485.
111. Poyraz, B.Ç. Psychiatric morbidity and protracted symptoms after COVID-19 / B.Ç. Poyraz, C.A. Poyraz, Y. Olgun [et al.] // *Psychiatry Res.* – 2021. – N 295 – P. 113604.
112. Puntmann, V.O. Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) / V.O. Puntmann, M.L. Carerj, I. Wieters [et al.] // *JAMA Cardiol.* – 2020. – N 5 (11) – P. 1265-1273.
113. Raman, B. Medium-term effects of SARS-CoV-2 infection on multiple vital organs, exercise capacity, cognition, quality of life and mental health, post-hospital discharge / B. Raman, M.P. Cassar, E.M. Tunnicliffe [et al.] // *EClinicalMedicine.* – 2021. – N 31 – P. 100683.
114. Ren, L. Dynamics of the Upper Respiratory Tract Microbiota and Its Association with Mortality in COVID-19 / L. Ren, Y. Wang, J. Zhong [et al.] // *Am. J. Respir. Crit Care Med.* – 2021. – N 204 (12) – P. 1379-1390.

115. Ritchie, H. Causes of death / H. Ritchie, F. Spooner, M. Roser // [Electronic resource]. – Available at: <https://ourworldindata.org/causes-of-death>
116. Rouse, B.T. Immunity and immunopathology to viruses: what decides the outcome? / B.T. Rouse, S. Sehrawat // *Nat. Rev. Immunol.* – 2010. – N 10 (7) – P. 514-526.
117. Russell, M.W. Mucosal Immunity in COVID-19: A Neglected but Critical Aspect of SARS-CoV-2 Infection / M.W. Russell, Z. Moldoveanu, P.L. Ogra [et al.] // *Front. Immunol.* – 2020. – N 11 – p. 611337.
118. Sapkota, D. Saliva testing for COVID-19? / D. Sapkota, S.B. Thapa, B. Hasséus [et al.] // *Br. Dent. J.* – 2020. – N 228 (9) – P. 658-659.
119. Schoggins, J.W. Interferon-Stimulated Genes: What Do They All Do? / J.W. Schoggins // *Annu. Rev. Virol.* – 2019. – N 6 (1) – P. 567-584.
120. Schulte-Schrepping, J. Severe COVID-19 Is Marked by a Dysregulated Myeloid Cell Compartment / J. Schulte-Schrepping, N. Reusch, D. Paclik [et al.] // *Cell.* – 2020. – N 182 (6) – P. 1419-1440.
121. Shah, W. Managing the long term effects of covid-19: summary of NICE, SIGN, and RCGP rapid guideline / W. Shah, T. Hillman, E.D. Playford [et al.] // *BMJ.* – 2021. – N 372 – P. n136.
122. Shi, Y. COVID-19 infection: the perspectives on immune responses / Y. Shi, Y. Wang, C. Shao [et al.] // *Cell Death Differ.* – 2020. – N 27 (5) – P. 1451-1454.
123. Simon, P.M. Distinguishable types of dyspnea in patients with shortness of breath / P.M. Simon, R.M. Schwartzstein, J.W. Weiss [et al.] // *Am. Rev. Respir. Dis.* – 1990 – N 142 (5) – P.1009–1014.
124. Solanki, S.S. Promising role of defensins peptides as therapeutics to combat against viral infection / S.S. Solanki, P. Singh, P. Kashyap [et al.] // *Microb. Pathog.* – 2021. – N 155 – P. 104930.
125. Spassky, N. The development and functions of multiciliated epithelia / N. Spassky, A. Meunier // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2017. – N 18 (7) – P. 423-436.
126. Sreeramkumar, V. Neutrophils scan for activated platelets to initiate inflammation / V. Sreeramkumar, J.M. Adrover, I. Ballesteros [et al.] // *Science.* –

2014. – N 346 (6214) – P. 1234-1238.

127. Steffen, U. IgA subclasses have different effector functions associated with distinct glycosylation profiles / U. Steffen, C.A. Koeleman, M.V. Sokolova [et al.] // *Nat. Commun.* – 2020. – N 11 (1) – P. 120.

128. Sungnak, W. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes / W. Sungnak, N. Huang, C. Bécavin [et al.] // *Nat. Med.* – 2020. – N 26 (5) – P. 681-687.

129. Teuwen, L.A. COVID-19: the vasculature unleashed / L.A. Teuwen, V. Geldhof, A. Pasut [et al.] // *Nat. Rev. Immunol.* – 2020. – N 20 (7) – P. 389-391.

130. Tlaskalová-Hogenová, H. Mucosal immunity: its role in defense and allergy / H. Tlaskalová-Hogenová, L. Tucková, R. Lodinová-Zádníková [et al.] // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2002. – N 128 (2) – P. 77-89.

131. Tomar, B. Neutrophils and Neutrophil Extracellular Traps Drive Necroinflammation in COVID-19 / B. Tomar, H.J. Anders, J. Desai // *Cells.* – 2020. – N 9 (6) – P. 1383.

132. Townsend, L. Persistent fatigue following SARS-CoV-2 infection is common and independent of severity of initial infection / L. Townsend, A.H. Dyer, K. Jones [et al.] // *PLoS One.* – 2020. – N 15 (11) – P. e0240784.

133. Truffaut, L. Post-discharge critical COVID-19 lung function related to severity of radiologic lung involvement at admission / L. Truffaut, L. Demey, A.V. Bruyneel [et al.] // *Respir. Res.* – 2021. – N 22 (1) – P. 29.

134. Tschernig, T. Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) is not present in the normal adult lung but in different diseases / T. Tschernig, R. Pabst // *Pathobiology.* – 2000. – N 68 (1) – P. 1-8.

135. Tsukinoki, K. Detection of cross-reactive immunoglobulin A against the severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 spike 1 subunit in saliva / K. Tsukinoki, T. Yamamoto, K. Handa [et al.] // *PLoS One.* – 2021. – N 16 (11) – P. e0249979.

136. Tukhvatulin, A.I. Immunogenicity and protectivity of intranasally delivered vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine Sputnik V in mice and non-

human primates / A.I. Tikhvatulin, I.V. Gordeychuk, I.V. Dolzhikova [et al.] // *Emerg. Microbes Infect.* – 2022. – N 11 (1) – P. 2229-2247.

137. Tuvim, M.J. Synergistic TLR2/6 and TLR9 activation protects mice against lethal influenza pneumonia / M.J. Tuvim, B.E. Gilbert, B.F. Dickey [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – N 7 (1) – P. e30596.

138. Vabret, N. Immunology of COVID-19: Current State of the Science / N. Vabret, G.J. Britton, C. Gruber [et al.] // *Immunity.* – 2020. – N 52 (6) – P. 910-941.

139. Valent, A. Three-month quality of life in survivors of ARDS due to COVID-19: A preliminary report from a French academic centre / A. Valent, E. Dudoignon, Q. Ressaire [et al.] // *Anaesth. Crit. Care Pain Med.* – 2020. – N 39 (6) – P. 740-741.

140. Van Ginkel, F.W. Vaccines for mucosal immunity to combat emerging infectious diseases / F.W. van Ginkel, H.H. Nguyen, J.R. McGhee // *Emerg. Infect. Dis.* – 2000. – N 6 (2) – P. 123-132.

141. Vieira Braga, F.A. A cellular census of human lungs identifies novel cell states in health and in asthma / F.A. Vieira Braga, G. Kar, M. Berg [et al.] // *Nat. Med.* – 2019. – N 25 (7) – P. 1153-1163.

142. Wan, S. Clinical features and treatment of COVID-19 patients in northeast Chongqing / S. Wan, Y. Xiang, W. Fang [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2020. – N 92 (7) – P. 797-806.

143. Wang, D. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China / D. Wang, B. Hu, C. Hu [et al.] // *JAMA.* – 2020. – N 323 (11) – P. 1061-1069.

144. Wang, Z. Enhanced SARS-CoV-2 neutralization by dimeric IgA / Z. Wang, J.C.C. Lorenzi, F. Muecksch [et al.]. *Sci. Transl. Med.* – 2021. – N 13 (577) – P. eabf1555.

145. Ware, J.E. SF-36 Physical and Mental Health Summary Scales: A User's Manual / J.E. Ware, M. Kosinski and S. Keller // The N.E.M.C.B. Health Institute, Mass. – 1994. – 190 p.

146. Wolff, D. Risk factors for Covid-19 severity and fatality: a structured

literature review / D. Wolff, S. Nee, N.S. Hickey [et al.] // *Infection*. – 2021. – N 49 (1) – P. 15-28.

147. Woof, J.M. Structure and function relationships in IgA / J.M. Woof, M.W. Russell // *Mucosal Immunol.* – 2011. – N 4 (6) – P. 590-597.

148. World Health Organization. A clinical case definition of post COVID-19 condition by a Delphi consensus. – 2021. [Electronic resource]. – Available at: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Post_COVID-19_condition-Clinical_case_definition-2021.1

149. Xue, M. Predictive effects of IgA and IgG combination to assess pulmonary exudation progression in COVID-19 patients / M. Xue, T. Zhang, H. Hu [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2021. – N 93 (3) – P. 1443-1448.

150. Yang, D. Attenuated Interferon and Proinflammatory Response in SARS-CoV-2-Infected Human Dendritic Cells Is Associated With Viral Antagonism of STAT1 Phosphorylation / D. Yang, H. Chu, Y. Hou [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2020. – N 222 (5) – P. 734-745.

151. Yang, D. The impact of lung microbiota dysbiosis on inflammation / D. Yang, Y. Xing, X. Song [et al.] // *Immunology*. – 2020. – N 159 (2) – P. 156-166.

152. Yao, X.H. Pathological evidence for residual SARS-CoV-2 in pulmonary tissues of a ready-for-discharge patient / X.H. Yao, Z.C. He, T.Y. Li [et al.] // *Cell Res.* – 2020. – N 30 (6) – P. 541-543.

153. Yong, C.Y. Recent Advances in the Vaccine Development Against Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus / C.Y. Yong, H.K. Ong, S.K. Yeap [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2019. – N 10 – P. 1781.

154. Zaura, E. Acquiring and maintaining a normal oral microbiome: current perspective / E. Zaura, E.A. Nicu, B.P. Krom [et al.] // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2014. – N 4 – P. 85.

155. Zhang, Q. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19 / Q. Zhang, P. Bastard, Z. Liu [et al.] // *Science*. – 2020. – N 370 (6515) – P. eabd4570.

156. Zhang, Y. An Update on Innate Immune Responses during SARS-CoV-2

Infection / Y. Zhang, S. Chen, Y. Jin [et al.] // Viruses. – 2021. – N 13 (10) – P. 2060.

157. Zhang, Y. Human oral microbiota and its modulation for oral health / Y. Zhang, X. Wang, H. Li [et al.] // Biomed. Pharmacother. – 2018. – N 99 – P. 883-893

158. Zhao, Y. Abnormal immunity of non-survivors with COVID-19: predictors for mortality / Y. Zhao, H.X. Nie, K. Hu [et al.] // Infect. Dis. Poverty. – 2020. – N 9 (1) – P. 108.

159. Zhou, P. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin / P. Zhou, X.L. Yang, X.G. Wang [et al.] // Nature. – 2020. – N 579 (7798) – P. 270-273.

160. Zhou, R. Acute SARS-CoV-2 Infection Impairs Dendritic Cell and T Cell Responses / R. Zhou, K.K. To, Y.C. Wong [et al.] // Immunity. – 2020. – N 53 (4) – P. 864-877.

161. Zhu, N. Morphogenesis and cytopathic effect of SARS-CoV-2 infection in human airway epithelial cells / N. Zhu, W. Wang, Z. Liu [et al.] // Nat. Commun. – 2020. – N 11 (1) – P. 3910.