

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

На правах рукописи

ПОЗДНЯКОВА ДАРЬЯ ДМИТРИЕВНА

ПОСТКОВИДНЫЙ СИНДРОМ: РЕАБИЛИТАЦИОННАЯ ПРОГРАММА С
ПРИМЕНЕНИЕМ ОКСИДА АЗОТА И ВОДОРОДА

3.1.29. Пульмонология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор

Баранова Ирина Александровна

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Постковидный синдром.....	13
1.2. Оксид азота.....	21
1.3. Молекулярный водород.....	29
1.4. Возможное комбинированное использование iNO/iH ₂ у пациентов с постковидным синдромом.....	34
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	37
2.1. Дизайн исследования	37
2.2. Материалы исследования	44
2.2.1. Открытое несравнительное проспективное исследование по оценке безопасности применения однократной комбинированной ингаляции оксидом азота и молекулярным водородом у здоровых добровольцев	44
2.2.2. Проспективное открытое контролируемое исследование в параллельных группах у пациентов с бронхолегочными проявлениями ПКС.....	46
2.3. Методы исследования	48
2.3.1. Клинический осмотр	48
2.3.2. Лабораторная диагностика	49
2.3.3. Оценка функциональных легочных объемов и диффузионной способности легких	50
2.3.4. Исследование параметров гемодинамики	51
2.3.5. Оценка клинических проявлений постковидного синдрома.....	51
2.3.6. Оценка параметров микроциркуляции. Подбор индивидуальной дозы NO.....	54
2.3.7. Методика проведения ингаляции.....	55
2.3.8. Методы оценки безопасности.....	56
2.3.9. Методы статистической обработки данных.....	57
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	59
3.1. Открытое несравнительное проспективное исследование по оценке	

безопасности применения однократной комбинированной ингаляции оксидом азота и молекулярным водородом у здоровых добровольцев.....	59
3.1.1. Общая характеристика группы	59
3.1.2. Исследование влияния на витальные показатели.....	59
3.1.3. Исследование влияния на газовый состав кров.....	60
3.1.4. Исследование влияния на параметры микроциркуляции	61
3.1.5. Динамика параметров гемодинамики.....	62
3.1.6. Исследование влияния на функциональные легочные показатели.....	62
3.1.7. Оценка клинической безопасности	63
3.2. Проспективное открытое контролируемое исследование в параллельных группах у пациентов с бронхолегочными проявлениями ПКС.....	64
3.2.1. Общая характеристика групп.....	64
3.2.2. Определение кластеров постковидного синдрома	68
3.2.3. Оценка клинической эффективности ингаляционной терапии	72
3.2.4. Результаты лабораторных исследований	75
3.2.5. Оценка динамики параметров микроциркуляции	78
3.2.6. Влияние ингаляционной терапии на параметры гемодинамики.....	80
3.2.7. Динамика функциональных показателей респираторной системы.....	80
3.2.8. Определение выраженности ответа на проводимую терапию.....	82
3.2.9. Оценка клинической безопасности	85
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	87
ВЫВОДЫ	95
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	97
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	98
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	100
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	105

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Пандемия COVID-19 официально завершена, тем не менее, циркуляция различных штаммов SARS-CoV-2 продолжается до сих пор, приобретая характер сезонной инфекции. В то же время, у 10-20% (Soriano J.B., et. al., 2022) среди переболевших COVID-19 все чаще выявляются стойкие и часто изнурительные последствия этой болезни, называемые постковидным синдромом (ПКС) или длительным COVID (National Institute for Health and Care Excellence (NICE), 2024). Респираторные нарушения, такие как одышка, кашель, остаются одними из наиболее частых проявлений постковидного синдрома.

К основным патофизиологическим механизмам постковидного синдрома относят длительную персистенцию вируса и его прямую токсичность, нарушение регуляции иммунной системы с аутоиммунным ответом, развитие эндотелиита и эндотелиальной дисфункции, окислительный стресс, нарушение мукозального иммунитета. Учитывая разнообразие механизмов, влияющих на процесс формирования данного патологического состояния, особый интерес представляет разработка новых подходов к терапии и реабилитации пациентов с ПКС. Применение медицинских газов (NO и H₂) может влиять на основные патофизиологические механизмы ПКС.

Отмечается, что одним из значительных механизмов клеточного повреждения при COVID-19 является окислительный стресс. Известно, что молекулярный водород играет важную роль в окислительно-восстановительных реакциях и является мощным антиоксидантом, который связывает свободные радикалы гидроксила и пероксинитрита, что помогает снизить патологическое влияние от развития окислительного стресса (Alwazeer D et. al., 2021). Учитывая описанные выше эффекты, H₂ потенциально может быть использован как терапевтическое средство в реабилитации пациентов с ПКС.

NO в свою очередь обладает противовирусной активностью за счет своих

цитотоксических свойств (А.Ф. Ванин, 2024), а также оказывает противовоспалительный эффект, подавляя выработку избыточного количества цитокинов (Kaplsh D et. al., 2024). Кроме того, iNO снижает выраженность эндотелиальной дисфункции за счет влияния на сосудистый гомеостаз в тканях, защищает кровеносные сосуды от повреждения тромбоцитами и циркулирующими клетками (Kamenshchikov N.O. et. al., 2022).

Комбинация NO и H₂ может привести к снижению образования сильнейшего оксиданта пероксинитрила. Также предполагается, что сочетанное применение ингаляций этих медицинских газов будет иметь больший эффект на параметры гемодинамики, микроциркуляции, окислительно-восстановительного статуса нежели только ингаляции оксидом азота. Таким образом, совместное применение iNO и iH₂ может зарекомендовать себя в качестве эффективной и безопасной терапии пациентов в постковидном периоде.

Степень научной разработанности темы

По данным литературных источников не найдено клинических исследований по комбинированному использованию оксида азота и молекулярного водорода, однако проведенные экспериментальные работы на лабораторных животных показали, что комбинация iNO и iH₂ способствует сокращению объема ишемии миокарда за счет снижения уровня свободных радикалов и активных форм кислорода (T. Shinbo et al., 2012), а также уменьшает активность провоспалительных цитокинов, легочной миелопероксидазы и полиморфноядерных нейтрофилов при остром повреждении легочной ткани, вызванном введением липополисахаридов (Huiying Liu et al., 2015).

На сегодняшний день отсутствуют данные о применении iNO при ПКС. В острый период COVID-19 ингаляции оксида азота применялись у пациентов с различной степенью тяжести заболевания. Было показано, что при легком течении заболевания ингаляционный NO способствовал значительному снижению РНК SARS-CoV-2 (Tandon M et. al., 2022). Применение iNO приводило к элиминации

вируса, повышению оксигенации и предотвращало развитие гипоксемической дыхательной недостаточности у пациентов с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2 (Signori D., et al., 2022, Safaee Fakhr B. et al., 2020). Нами не найдено данных, посвященных определению терапевтической дозы ингаляционного оксида азота. В большинстве случаев концентрация NO назначалась эмпирически (Prakash A. Et al., 2021, Di Fenza R. et al., 2023), за исключением исследования, в котором эффективность ингаляций NO в дозах 25 ppm, 50 ppm и 75 ppm оценивалась с помощью методов пальцевой фотоплетизмографии и видеокапилляроскопии (Н.Х. Кыонг, 2024).

Опубликовано ограниченное количество работ по применению H₂ в период острого течения COVID-19, а также при ПКС. Использование ингаляционного молекулярного водорода у пациентов, перенесших COVID-19, было безопасным и показало свою эффективность в виде снижения тяжести заболевания и гипоксемии, а также улучшения клинических показателей (Guan W.J. et al., 2020). Ингаляции H₂ у больных ПКС способствовали повышению толерантности к физическим нагрузкам, увеличению парциального давления кислорода в газовом составе артериальной крови, а также снижению фракции внутрилегочного шунтирования крови (M. Votek et al., 2022, Шогенова Л.В. et al., 2021).

Среди проанализированных публикаций найдено крайне мало информации по определению фенотипов ПКС. Большинство авторов связывают тяжесть симптомов ПКС с тяжестью перенесенного COVID-19 и сопутствующими патологиями (Zhang H. et al., 2023). Некоторые исследователи выделяют кластеры постковидного синдрома на основании легочных, нейropsychиатрических, сердечно-сосудистых нарушений, а также снижения диффузионной способности легких (Reese J.T. et al. 2021, Глушкова Т.В., 2023).

Цель исследования

Усовершенствование лечебно-профилактических мероприятий у пациентов с бронхолегочными проявлениями постковидного синдрома на основании данных

об эффективности и безопасности комбинированной ингаляционной терапии оксидом азота и водорода.

Задачи исследования

1. Оценить безопасность однократной комбинированной ингаляционной терапии iNO/iH₂ по клиническим данным, функциональным легочным показателям, параметрам микроциркуляции, гемодинамики, газового состава крови и уровня метгемоглобина у здоровых добровольцев.
2. Выделить кластеры постковидного синдрома у пациентов с бронхолегочными проявлениями постковидного синдрома.
3. Изучить клиническую эффективность и влияние iNO/iH₂ на функциональные легочные показатели, параметры гемодинамики, микроциркуляции, окислительного стресса у пациентов с бронхолегочными проявлениями постковидного синдрома.
4. Оценить ответ на проводимую терапию и ее безопасность у пациентов с различными кластерами постковидного синдрома.

Научная новизна результатов исследования

Впервые проведено комплексное исследование по оценке безопасности и эффективности комбинированной ингаляционной терапии NO и H₂ у пациентов с постковидным синдромом.

Впервые был проведен анализ микроциркуляторных нарушений у пациентов с ПКС на основании неинвазивного капилляроскопического исследования конъюнктивы глаза. Для оценки ответа на проводимую терапию iNO применен метод анализа динамики скоростных и объемных показателей сосудов микроциркуляторного русла при капилляроскопии бульбарной конъюнктивы.

Впервые проведен комплексный анализ окислительно-восстановительных нарушений у пациентов с ПКС по данным уровня суррогатных показателей окислительного повреждения и уровня антиоксидантной защиты в сыворотке крови.

Доказана безопасность применения комбинированных ингаляций iNO/iN₂ на основании клинических данных, а также лабораторных и инструментальных показателей как у здоровых добровольцев, так и у пациентов с бронхолегочными проявлениями ПКС.

Была показана клиническая эффективность комбинированной ингаляционной терапии iNO/iN₂ на основании снижения выраженности клинических проявлений ПКС, улучшения показателей микроциркуляции, снижении уровня окислительного стресса и повышения толерантности к физическим нагрузкам. Отмечено сохранение эффекта ингаляционной терапии в течение 2 месяцев.

Теоретическая и практическая значимость работы

С помощью кластерного анализа выделено 3 кластера ПКС. Первый кластер включает пациентов, перенесших среднетяжелое и тяжелое течение COVID-19, с одышкой по ВАШ (6,0 [5,0; 8,0]) и mMRC (2,0 [2,0; 3,0]), сниженными показателями пройденной дистанции ($380,9 \pm 85,3$ м) и физического компонента качества жизни по SF36 (31,3 [29,9; 34,0]), изменениями на КТ в виде ретикулярных изменений и сохранением феномена «матового стекла», а также нарушениями по данным ФВД (ОФВ1 67,0 [56,0; 76,0] %, ФЖЕЛ 64,0 [58,0; 70,0] %) и снижением DLCO (58,0 [46,0; 71,0] %). Второй кластер представлен пациентами со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19, однако менее выраженной одышкой (ВАШ (4,0 [3,0; 5,0]), mMRC (1,5 [1,0; 2,0])), физическим компонентом качества жизни (40,5 [32,2; 42,9]) и пройденной дистанцией ($463,1 \pm 62,2$ м), ретикулярными изменениями по КТ и нормальными показателями ФВД и DLCO. Третий кластер включал пациентов, перенесших легкое течение

COVID-19, минимальной одышкой (БАШ (2,0 [2,0; 3,0]), mMRC (1,0 [1,0; 1,0])), с отсутствием или минимальными ретикулярными изменениями на КТ и нормальными показателями ФВД и DLCO, наилучшими данными пройденной дистанции ($495,1 \pm 46,3$ м) и физического компонента качества жизни (44,0 [39,4; 46,3]). Показатели окислительного повреждения и микроциркуляции не внесли существенный вклад в определение кластеров, поскольку исходно были изменены у всех пациентов.

У пациентов с ПКС применение комбинированных ингаляций iNO/iH₂ в концентрации iNO – 60 ppm и iH₂ - не более 4% в газовой смеси (скорость потока – 4 л/мин), в комплексной терапии привело к значительному снижению выраженности клинических проявлений ПКС и повышению качества жизни. Была показана более значимая клиническая эффективность терапии iNO/iH₂ в сравнении с iNO, а именно: повышение толерантности пациентов к физическим нагрузкам и снижение показателей окислительного повреждения.

Методология и методы исследования

Исследование проведено на базе ГБУЗ «ГКБ им. Д.Д. Плетнева ДЗМ» в период с декабря 2022 года по февраль 2024 года. В первом этапе исследования по оценке безопасности однократного применения iNO/iH₂ приняли участие 10 здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 60 лет. На втором этапе обследовано 60 пациентов с бронхолегочными проявлениями постковидного синдрома в рамках оценки эффективности и безопасности сочетанного применения iNO/iH₂. В ходе исследования использовались стандартные современные методы обследования, а также лабораторные (газовый состав артериальной крови, окислительно-восстановительный статус) и инструментальные (ФВД, ЭХО-КТ, капилляроскопия, тест 6-минутной ходьбы) исследования. Статистический анализ проводился с применением пакета IBM SPSS Statistics версии 23 (США).

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Применение комбинированных ингаляций iNO/iH₂ безопасно как у здоровых добровольцев, так и у пациентов с ПКС.
2. Назначение iNO и комбинированной терапии iNO/iH₂ у пациентов с ПКС способствует значимому снижению выраженности клинических проявлений ПКС, повышению качества жизни, улучшению показателей микроциркуляции. Кроме того, комбинированная терапия iNO/iH₂ приводит к снижению показателей окислительного стресса и возрастанию толерантности к физическим нагрузкам.
3. Выделено 3 кластера ПКС в зависимости степени тяжести перенесенного COVID-19, выраженности одышки, изменений на КТ, снижения функциональных легочных показателей и диффузионной способности, а также качества жизни пациентов. Ответ на проводимую ингаляционную терапию и ее безопасность не зависел от кластера ПКС.

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 подтверждаются 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 XXXIII, XXXIV Национальных конгрессах по болезням органов дыхания (г. Москва, 2023, 2024 гг.), XXX, XXXI Российских национальных конгрессах «Человек и лекарство» (г. Москва, 2023, 2024 гг.).

Внедрение в практику

Результаты диссертационной работы внедрены в клиническую практику пульмонологического и терапевтического отделений ГБУЗ «ГКБ им. Д.Д. Плетнева ДЗМ» (главный врач Демидов А.В.), программу «Бронхолегочная реабилитация» санатория «Виктория» - пушкинский филиал АО «ЦСТЭ» (холдинг) (директор - главный врач Найденов В.И.), а также используется во время обучения студентов, ординаторов, аспирантов на кафедре госпитальной терапии Института материнства и детства (заведующий кафедрой – академик РАН, д.м.н., профессор Чучалин А.Г.) ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности «3.1.29. Пульмонология». Результаты исследования соответствуют области исследования специальности, а именно пунктам 2, 3, 4, 5 паспорта научной специальности «Пульмонология (медицинские науки)»

Личный вклад автора

Автор принимал активное участие в наборе групп здоровых добровольцев и пациентов с ПКС с последующим анализом критериев включения и исключения, исследовании клинических и функциональных характеристик респираторной системы, оценке результатов шкал и опросников, проведении анализа лабораторных и инструментальных методов диагностики, мониторинге витальных показателей и клинического состояния, а также развития возможных нежелательных реакций у участников исследования. Автор лично выполнял забор биологических материалов и проводил исследования, такие как определение газового состава артериальной крови, лабораторное исследование показателей

окислительного стресса и антиоксидантной защиты, тест 6-минутной ходьбы, капилляроскопия бульбарной конъюнктивы, подбор индивидуальной дозы медицинских газов, а также проведение ингаляций. Статистическая обработка, написание диссертации и автореферата проведены лично автором.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 3 печатные работы, опубликованные в научных изданиях, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки РФ. Получен 1 патент на изобретение.

Объем и структура диссертации

Научная работа изложена на 118 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы. Работа включает 25 таблицы и 13 рисунков. Список литературы содержит 126 источников, из которых 23 отечественных и 103 зарубежных. Диссертация изложена на русском языке.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Постковидный синдром.

Определение постковидного синдрома

В конце 2019 года в провинции Ухань, Китай впервые зафиксированы случаи возникновения атипичной пневмонии неизвестной этиологии. В дальнейшем у пациентов с данной клинической картиной был выявлен новый штамм коронавируса – SARS-CoV-2, принадлежащий к тому же семейству вирусов, которые вызывают тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС) и ближневосточный респираторный синдром (MERS) [47]. Уже через несколько месяцев случаи заражения COVID-19 были зарегистрированы по всему миру и в марте 2020 года Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила о начале пандемии.

С начала пандемии и по мере развития вируса SARS-CoV-2 ВОЗ выделила несколько вариантов COVID-19 на основании скорости их распространения, а также склонности к быстрой мутации и замены предыдущих вариантов с формированием новых волн с более высокой циркуляцией [117]. На данный момент идентифицированы пять вариантов, представляющих опасность (Variants of Concern (VOC)): «Альфа», «Бета», «Гамма», «Дельта» и «Омикрон». К 8 вариантам, представляющим интерес (Variants of Interest (VOI)) отнесены «Эпсилон», «Эта», «Каппа», «Мю», «Лямбда», «Тета», «Дзета» и «Лота» [111]. Наибольший пик заболеваемости пришелся на конец 2021 года и начало 2022 года, а также на начало 2023 года (Рисунок 1). В этот период отмечена максимальная циркуляция штаммов «Дельта» и «Омикрон», однако более высокий процент смертности связывают с распространением штамма «Омикрон».

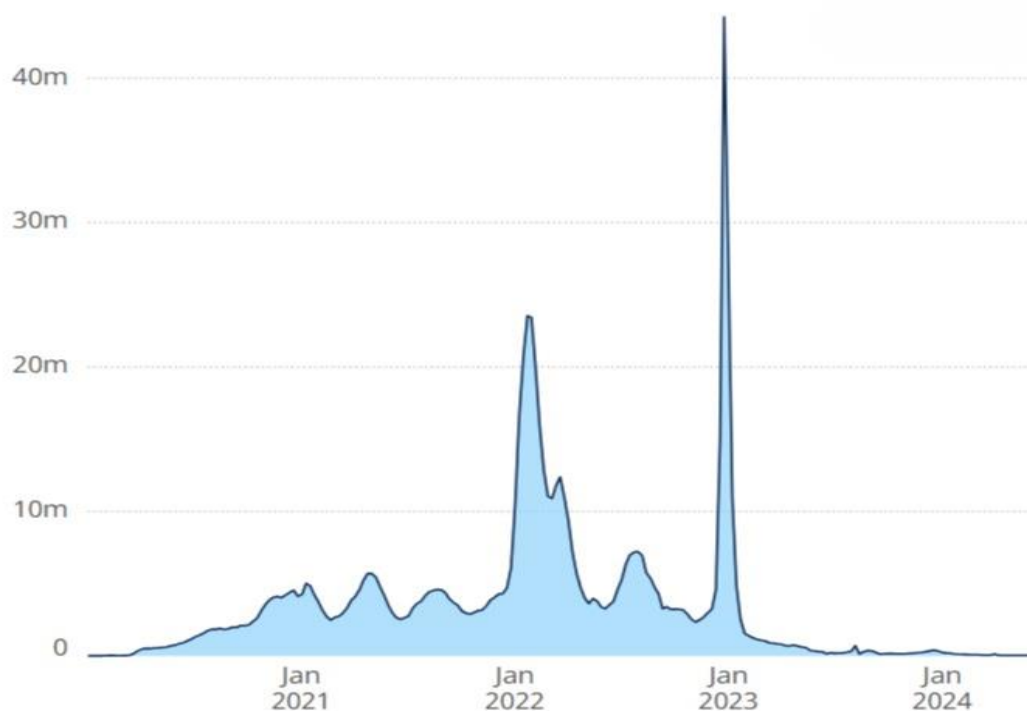


Рисунок 1 – Общее количество случаев COVID-19 в мире, по данным ВОЗ

Пандемия продолжалась более трех лет и унесла более 7 млн. жизни. 5 мая 2023 г. глава ВОЗ доктор Тедрос Адханом Гебрейесус официально объявил о ее окончании. Однако до сих пор продолжают регистрироваться новые случаи заболевания, а SARS-CoV-2 начинает приобретать характер сезонной инфекции. И если в начале пандемии основное внимание было направлено на помощь пациентам в остром периоде заболевания, то сегодня на первый план выходят последствия перенесенной новой коронавирусной инфекции, которые значительно ухудшают состояние здоровья и снижают качество жизни людей. У 10-20% пациентов [46], перенесших инфекцию SARS-CoV-2, отмечается длительное сохранение симптомов после окончания острой фазы заболевания. Такое состояние, развивающееся после перенесенного COVID-19 к третьему месяцу от начала заболевания и характеризующееся симптомами, которые длятся в течение двух месяцев и не могут быть объяснены альтернативным диагнозом, было определено экспертами ВОЗ в 2021 году, как «постковидный синдром» (ПКС) [44].

Для определения длительного течения COVID-19 в различных источниках также используют термины «длительный COVID», «постострый синдром COVID-19», «продолжающееся симптоматическое течение COVID-19», «хронический COVID-19» и др. Национальный институт здравоохранения и совершенствования медицинской помощи (NICE) выделяет следующие категории:

- острую форму COVID-19, при которой признаки и симптомы COVID-19 сохраняются в течение до 4 недель;
- продолжающееся симптоматическое течение COVID-19 – признаки и симптомы COVID-19 длятся от 4 до 12 недель;
- постковидный синдром COVID-19: признаки и симптомы, которые развиваются вовремя или после инфекции, соответствующей COVID-19, сохраняются более 12 недель и не объясняются альтернативным диагнозом [45].

Распространенность и факторы риска постковидного синдрома

По данным мета-анализа и системного обзора С. Chen et. al., опубликованного в 2022 году, общая распространенность ПКС составила 43% (34% среди негоспитализированных пациентов и 54% госпитализированных). Отмечено, что более высокая распространенность наблюдалась среди женщин (0,49 (95% ДИ: [0,35, 0,63]), чем среди мужчин (0,37 (95% ДИ [0,24, 0,51])) [39]. Похожие данные были получены при проведении мета-анализа Ruhana Sk. Abd. Razak et. al. в 2024 году. На основании результатов 16 исследований общая распространенность ПКС составила 41,79% (95% ДИ [39,70%, 43,88%]). Однако в отличие от предыдущего исследования распространенность постковидного синдрома в зависимости от пола значительно не отличалась и составила 47,23% у мужчин (95% ДИ [44,03%, 50,42%]) и 52,77% у женщин (95% ДИ [49,58%, 55,97%]). [111]. Следует отметить, что признаки ПКС встречаются не только у пациентов, перенесших тяжелую и среднетяжелую форму COVID-19, но также после легкого и бессимптомного течения заболевания [51, 60, 105].

В настоящее время выделено несколько основных факторов риска,

способствующих развитию стойких изменений после перенесенного SARS-CoV-2. К ним относят тяжесть перенесенной инфекции, женский пол, пожилой возраст, курение, сопутствующие заболевания (включая респираторные заболевания и депрессию) [41]. Также получены данные о том, что наличие в анамнезе сахарного диабета 2 типа, заболеваний соединительной ткани, аллергических заболеваний (таких как аллергический ринит и хроническая крапивница) способствуют большей распространенности ПКС [33, 58]. Он более распространен в некоторых этнических группах, например, у пациентов с латиноамериканским происхождением [41].

Клинические проявления постковидного синдрома

После перенесенной острой COVID-19 разнообразные клинические симптомы, функциональные и рентгенологические изменения имеют различную выраженность и динамику и могут сохраняться в течение неопределенно долгого времени (Рисунок 2) [1, 33, 103].

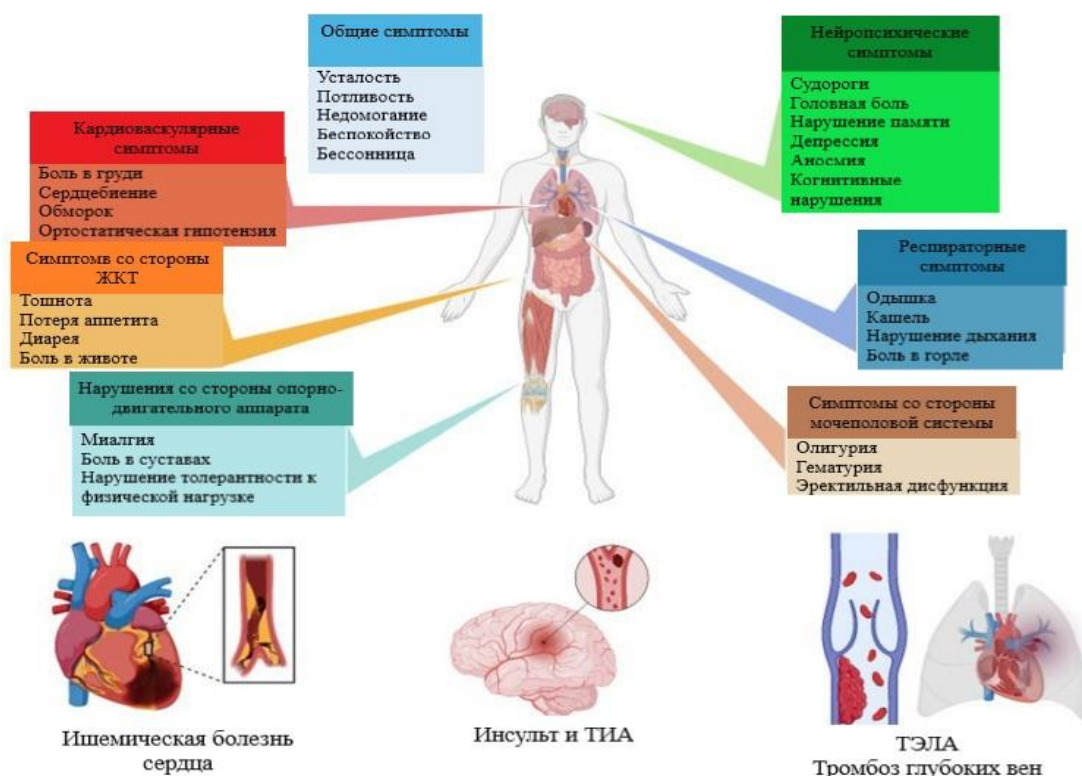


Рисунок 2 – Клинические проявления ПКС [103]

К основным проявлениям ПКС относят общеклинические, неврологические, психологические, кардиореспираторные, желудочно-кишечные нарушения [103].

По данным мета-анализа Arun Natarajan et. al. одышка и кашель являются наиболее часто встречающимися жалобами со стороны системы органов дыхания у пациентов с постковидным синдромом. Авторы отмечают, что распространенность одышки составила 21,48% (95% ДИ [14,37%; 21,2%]), а кашля - 17,83% (95% ДИ [13,34; 23,86%]) [89]. Стойкие рентгенологические изменения чаще всего представлены феноменами «матового стекла», ретикулярных изменений; возможно формирование бронхоэктазов и фиброзных изменений в легких. По данным исследований подобные нарушения коррелируют с более тяжелым течением острого COVID-19 [9, 84]. Нарушения функциональных легочных параметров, включая снижение диффузионной способности легких (DLCO), форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) являются наиболее часто регистрируемыми патологическими изменениями и, по-видимому, также связаны с тяжестью течения острого заболевания.

Помимо респираторных нарушений ПКС проявляется когнитивной дисфункцией (нарушениями памяти (20-26%) и сна (24-26%), формированием тревоги и депрессией (20-23%), выраженной утомляемостью (44-63%), миалгией и суставной болью (19-24%), потерей вкуса/обоняния (7-23%), головной болью (2-18%) и пр.) [57, 87], а также изменениями со стороны сердечно-сосудистой системы (в том числе нарушения ритма сердца (6%)) и т.д. [1, 9, 31, 104].

Хотя инфекция SARS-CoV-2 в первую очередь поражает систему органов дыхания, COVID-19 может проявляться как полиорганное заболевание из-за развития эндотелиальной дисфункции, при котором происходит смещение сосудистого равновесия в сторону вазоконстрикции, воспаления и прокоагулянтного состояния [103]. Нарушения тромбообразования, включая диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови и тромбозы/тромбоэмболии в различные органы - известные проявления острого COVID-19 [76, 98]. Частота венозных тромбозов после острой стадии COVID-19 составляет менее 5% [93].

Патобиологические механизмы постковидного синдрома

На сегодняшний день все еще остаются не до конца изученными патобиологические механизмы, способствующих формированию ПКС.

Наиболее убедительными считаются следующие:

- прямая токсичность вируса, приводящая к повреждению тканей (например, легких, головного мозга и сердца), тем самым влияя на формирование длительного сохранения симптомов [32].
- Продолжительная персистенция SARS-CoV-2 или патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (белки вируса и/или РНК вируса определяют в сердечно-сосудистой, репродуктивной системах, мышцах, глазах, головном мозге, тканях молочной железы, лимфатических узлах, печени, легких, кале, моче, плазме) [76, 90].
- Нарушения регуляции иммунной системы с аутоиммунным ответом. У пациентов с ПКС наиболее значимые изменения отмечены со стороны функции Т-лимфоцитов (истощенные Т-клетки), количестве В - и Т-лимфоцитов (снижение клеток CD4⁺ и CD8⁺, снижение наивных Т- и В-клеток), а также в повышенной экспрессии PD-1 и интерферона типа I и типа III. Таким образом, у пациентов с длительным течением SARS-CoV-2 возможны реактивация и повторное инфицирование другими ранее инфицированными патогенами (в том числе вирусом Эпштейн-Барра и вируса герпеса 6 подтипа), тем самым способствуя продолжительному сохранению симптомов. Кроме того, у пациентов с ПКС определяется повышение уровня цитокинов (IL-1b, IL-6 и ФНО). Отмечается, что при ПКС наблюдается наличие повышение уровня аутоантител, ответственных за аутоиммунный ответ, который нацелен на различные ткани, органы или системные иммуномодулирующие белки. [49, 103, 116].
- Нарушение мукозального иммунитета. Помимо описанных выше нарушений иммунной системы определены изменения мукозального иммунитета – первой линии защиты организма от различных патогенов. В частности, было показано, что у пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой

форме, спустя 3 месяца после перенесенного острого COVID-19 отмечается повышение уровня sIgA в соскобах слизистой ротоглотки и в слюне, а также уровня IgG в образцах индуцированной мокроты в сравнении с не болевшими. Кроме того, отмечено статистически значимое снижение фагоцитарных индексов гранулоцитов и макрофагов слюны [12].

- Развитие эндотелиита и эндотелиальной дисфункции. Известно, что вирус SARS-CoV2 связывается с рецепторами ангиотензинпревращающего фермента 2, которые локализуются в эндотелиальных клетках многих органов, в том числе альвеоцитах II типа, бронхах, тонком кишечнике, сердце, сосудах и другое, тем самым вызывая проявления полиорганной дисфункции путем развития эндотелиита [57, 62, 64, 114, 120]. Реплицируясь в эндотелиоцитах, SARS-CoV-2 разрушает клетки, оголяя тромбогенную и провоспалительную субэндотелиальную поверхность, что способствует развитию коагулопатии, периваскулярному воспалению, отеку тканей и прокоагулянтному статусу. SARS-CoV-2 может вызывать эндотелиопатию посредством прямого (через вирусную инфекцию) и косвенного (через цитокиновый шторм) механизмов. Так в исследовании, проведенном на базе НМИЦ кардиологии, при изучении образцов периферической крови путем электронной микроскопии обнаружены многочисленные отверстия на мембране эндотелиоцитов, сопоставимых размерам суперкапсида вируса [4]. Таким образом, формируется эндотелиальная дисфункция, при которой возникает смещение сосудистого равновесия в сторону вазоконстрикции, воспаления и прокоагулянтного состояния [103]. Отмечается также, что у пациентов с COVID-19, а также в постковидном периоде происходит трансформация формы эритроцитов, часть из которых превращается в эхиноциты, а также формируются сладжи.

- Окислительный стресс. Некоторые симптомы длительного COVID-19 могут быть напрямую связаны с дефицитом продукции митохондриальной аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). При развитии митохондриальной дисфункции происходит усиленное образование активных форм кислорода (АФК), избыток которых в свою очередь способствует развитию окислительного

стресса. Повышенный уровень АФК может вызывать повреждение клеточных структур, включая липиды, белки и ДНК, наблюдаемое при ПКС [34, 85, 90].

- Помимо этого, некоторые авторы отмечают, что избыточное образование АФК с развитием окислительного стресса приводит к выраженной вазоконстрикции за счет снижения биодоступности молекул вазодилататоров, в частности оксида азота (NO) [86]. Избыток АФК также приводит к усиленной выработке провоспалительных цитокинов и стимулирует экспрессию молекул адгезии, усиливая адгезию лейкоцитов и экстравазацию в сосудистую стенку. Таким образом, окислительный стресс предрасполагает к формированию провоспалительной среды с эффектом вазоконстрикции, а также играет роль в ремоделировании микрососудистой среды [103].

Учитывая разнообразие механизмов, влияющих на процесс формирования данного патологического состояния, особый интерес представляет разработка новых подходов к терапии и реабилитации пациентов с постковидным синдромом. На сегодняшний день преобладающее большинство реабилитационных программ направлено на восстановление функций той или иной системы органов, которая в большей степени требует динамического подхода к лечению и реабилитации. Активно применяют физиотерапевтические методы лечения, кинезитерапию, дыхательные тренажеры, разработаны новые программы лечебной физкультуры [13]. Они носят исключительно симптоматический характер и не влияют на патогенетические механизмы постковидного синдрома. В связи с этим представляет интерес применение медицинских газов – ингаляционного оксида азота (iNO) и молекулярного водорода (iH₂), способных повлиять на развитие и прогрессирование постковидного синдрома.

1.2 Оксид азота

Эндогенный оксид азота

Начало изучения биофизических свойств оксида азота связано с именами выдающихся ученых СССР и РФ. Первые работы в середине XX века на тему роли оксида азота в транспорте кислорода в гемической структуре гемоглобина принадлежат члену-корреспонденту Академии наук СССР Л.А. Блюменфельду. В дальнейшем цикл работ по изучению NO продолжил ученик Л.А. Блюменфельда – профессор А.Ф. Ванин. В его научных трудах описаны новые представления о химической связи между двухвалентным железом гема гемоглобина и NO с образованием динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) с тиол-содержащими лигандами (ТСЛ), позволяя глубже изучить процессы транспорта кислорода в организме человека [22]. Позже, в 1998 году, Нобелевская премия по физиологии и медицине была присуждена трем американским ученым (Р. Ферчготт, Ф. Мурад, Л. Дж. Игнарро) за открытие роли оксида азота как сигнальной молекулы в регуляции сердечно-сосудистой системы.

Оксид азота – уникальное соединение, это одна из наиболее важных сигнальных молекул, влияющих на регуляцию метаболических процессов в организме человека. Источники NO могут быть эндогенными (ферментативными) или экзогенными (препаративными).

Важнейшим источником эндогенного NO является L-аргинин (L-Arg). Именно нарушение продукции NO из аргинина привлекло внимание исследователей в связи с симптоматическими осложнениями COVID-19 в результате цитокинового шторма [5, 6].

L-аргинин превращается в L-цитруллин под действием окислительных ферментов (NO-синтаз) с высвобождением NO. Три изоформы NO-синтазы (NOS) определены у человека: эндотелиальная (eNOS или NOSI), индуцибельная (iNOS или NOSII) и нейрональная (nNOS или NOSIII) [5, 6, 109].

eNOS является конститутивной формой в эндотелиальных клетках, поэтому она вносит основной вклад в уровень NO в сосудах в физиологических условиях.

pNOS является конститутивно экспрессируемой формой NOS, которая присутствует в нейронах, также сосудистых гладкомышечных клетках, фибробластах, эндотелиальных клетках и кардиомиоцитах. Активность pNOS подвержена ингибированию по принципу обратной связи NO. Эта особенность определяет пульсирующее производство NO вместо устойчивых низких уровней.

iNOS широко экспрессируется в клетках млекопитающих, особенно в иммунных клетках (таких как дендритные клетки, NK-клетки, тучные клетки и фагоцитарные клетки (включая моноциты, макрофаги, микроглию, клетки Купфера, эозинофилы и нейтрофилы)). NO выполняет сложную функцию в иммунных клетках: антимикробную (через пероксинитрит – продукт реакции $\cdot\text{NO}$ и O_2) и иммуномодулирующую (через многочисленные пути ингибирования лимфоцитов и апоптоза). Экспрессия iNOS описана также в эпителии дыхательных путей под влиянием воспалительных стимулов. В кровеносных сосудах активация iNOS может привести к накоплению избыточной концентрации NO и серьезному нарушению сосудистой функции.

Помимо образования NO из аргинина в последние годы обсуждается другой, пока менее изученный, пищевой путь образования NO из нитратов [22].

Большая часть эндогенного NO включается в моноядерные и биядерные динитрозильные комплексы железа (М-ДНКЖ и Б-ДНКЖ) с тиол-содержащими лигандами (ТСЛ), при этом половина NO превращается в нитрозоний (NO^+). Комплексы ДНКЖ с ТСЛ обеспечивает стабилизацию и перенос NO, а также выступают в качестве донора как нейтральных молекул NO, преимущественно положительно влияющих на живые организмы, так и NO^+ , обладающих цитотоксическим воздействием [5].

К основному биологическому эффекту эндогенного оксида азота относят регуляцию сосудистого тонуса, в частности его влияние на микроциркуляторное кровообращение (капилляры и вены) [18, 22]. Большинство эффектов NO в сердечно-сосудистой системе опосредованы активацией растворимой

гуанилатциклазы, которая катализирует образование циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) из гуанозин-5'-трифосфата (ГТФ); в свою очередь цГМФ активирует протеинкиназу G, снижающую концентрацию внутриклеточного Ca^{2+} через воздействие на некоторые типы калиевых каналов, управляемые потенциалом кальциевые каналы, через подавление выброса Ca^{2+} из внутриклеточных депо и удаление его из цитоплазмы, что приводит к расслаблению сосудов. Отмечено, что NO способен также оказывать защитное воздействие на эндотелий сосудов и обеспечивает сосудистый гомеостаз, снижает пролиферацию гладких мышц сосудов, агрегацию тромбоцитов и связывание лейкоцитов с эндотелием [109]. Оксид азота также участвует в ограничении избыточного окислительного фосфорилирования в митохондриях, функция которых может быть вовлечена в регуляцию клеточных биохимических процессов и апоптоза [55, 109]. Кроме того, в ряде работ описана роль NO на мужскую репродуктивную систему, в частности оксид азота является физиологическим стимулятором эректильной функции [2]. Таким образом, основные биологические эффекты эндогенного NO можно представить в виде схемы (Рисунок 3).



Рисунок 3 – Биологические эффекты эндогенного оксида азота

Ингаляционный оксид азота

Ингаляционный экзогенный NO полностью не имитирует биологическое воздействие эндогенного NO. Его вазодилатирующее действие преимущественно распространяется на малый круг кровообращения, при этом отсутствует системный гипотензивный эффект даже в концентрациях 500, 1000, 2000 ppm [6]. В определенной мере это может быть объяснено связыванием экзогенного NO с гемоглобином (при небольших концентрациях ингаляционного NO), а также возможным окислением свободного NO до NO₂ с последующим образованием катионов нитрозония, не оказывающих гипотензивного действия [5].

Механизмом повышения биодоступности NO при его экзогенном введении является S-нитрозилирование белка и увеличение концентрации метаболитов NO-NOx в сыворотке (нитратов, нитритов, S-нитрозотиола, N-нитрозамина и т. д.), которые служат резервными донорами NO в организме. Накопление этих метаболитов вне легких в других органах-мишенях может реализовывать отдаленные органопротекторные эффекты экзогенного NO [71].

Экзогенный NO, применяемый на практике в газообразной форме в виде ингаляций, длительное время используется в различных областях медицины. Описаны его положительные эффекты при лечении заболеваний бронхолегочной, сердечно-сосудистой и др. систем. Так iNO применяют в комплексной терапии первичной легочной гипертензии [43], острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) взрослых [71], хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), бронхолегочной дисплазии, интерстициальных легочных заболеваний (ИЗЛ) [37, 73]. Учитывая описанный характер воздействия, а также органопротективные свойства на большинство органов, в том числе на почки, сердце, головной мозг [109], iNO применяют во время оперативных вмешательств у пациентов на фоне ишемии и повреждения миокарда во время проведения реперфузии, а также при операциях на сердце, трансплантации органов [18] и в комплексной терапии острой и хронической неонатальной легочной гипертензии на фоне врожденных и приобретенных критических синдромов у новорожденных

и недоношенных детей [3, 43]. Известно, что iNO способен восстанавливать функцию эндотелиоцитов, вызывать селективную вазодилатацию легочных сосудов, снижать давление в легочной артерии и восстанавливать вентиляционно-перфузионный градиент [37, 43].

Что касается возможных токсических эффектов терапии iNO, описаны следующие нежелательные механизмы: образование диоксида азота (NO_2) за счёт окисления оксида азота кислородом, образование метгемоглобина (MetHb) на фоне воздействия NO на эритроциты, а также возможное ингибирование тромбоцитов [3, 46]. Однако подобные явления могут развиваться преимущественно на фоне применения высоких доз iNO, превышающих 80 ppm.

Новым этапом в применении ингаляционного NO стало создание различных моделей генераторов NO. Во многих странах ингаляции NO осуществляются путем доставки этого газа из баллонных источников, что является достаточно дорогостоящим методом лечения. Помимо этого, концентрация NO в баллонах крайне неустойчива, за счёт процесса окисления и формирования NO_2 , приводящего к токсическому воздействию на организм. В РФ подобные проблемы решены при участии В.Д. Селемира и его команды, которые на базе ФГУП «РФЯЦ-ВНИИЭФ» разработали не имеющий в мире аналога портативный аппарат АИТ-NO-01 ТУ 32.50.21-001-07623615-2017 (торговое название «Тианокс», регистрационное удостоверение на медицинское изделие № РЗН 2020/10977 от 22 июня 2020 года). Установка позволяет генерировать NO из неравновесной плазмы электрическим разрядом. Данный аппарат имеет преимущество за счёт удобства использования у постели больного, низких затрат и минимального содержания примеси диоксида азота в газовой смеси [17].

Ингаляционный NO и COVID-19

Важная роль NO в функционировании сердечно-сосудистой, дыхательной и иммунной систем позволяет рассматривать iNO в качестве лечебного средства при остром течении COVID-19 и ПКС.

1. Противовирусный эффект. NO играет роль в патогенезе многих вирусных инфекций, он обладает прямой (инактивация вирусных частиц, ингибирование их репликации) или опосредованной противовирусной активностью (модуляция иммунного ответа хозяина) [119]. Цитотоксический эффект NO прежде всего связывают с катионами нитрозония, донорами которых являются комплексы ДНКЖ с ТСЛ [5, 6].

К двум основным механизмам противовирусного действия NO, доказанным в исследованиях *in vitro* с использованием S-нитрозо-N-ацетилпенициллина (донора NO), относят:

- снижение пальмитоилирования S белка, что препятствует проникновению вируса в клетку;
- подавление цистеиновых протеаз, и как следствие снижение репликации вируса [109, 119].

Изучение противовирусной активности NO не ограничены исследованиями *in vitro*. По данным некоторых клинических исследований с использованием iNO в дозе 80 ppm продемонстрировано, что у лиц в остром периоде заболевания SARS-CoV-2 наблюдалось более быстрое снижение вирусной нагрузки в образцах мокроты и крови [50].

Кроме того, эндогенный NO также увеличивает частоту биения ресничек эпителия носовых дыхательных путей, способствуя выведению патогенов [28].

2. Воздействие на другие патогены (бактерии, грибы). Вирусная инфекция часто сопровождается присоединением бактериальной и даже грибковой патогенной флоры. Резистентность к антибактериальным средствам и хронизация бактериальной инфекции зачастую связана с образованием биопленок. В настоящее время iNO рассматривается как новая терапевтическая стратегия для контроля и преодоления резистентности биопленок. Использование низких доз iNO стимулирует восстановление чувствительности биопленок и свободных бактерий к действию антимикробных препаратов и повышает эффективность антибиотикотерапии, а увеличение времени экспозиции iNO подавляет образование биопленок. В то же время прерывистое воздействие

высоких концентраций NO оказывает прямое разрушающее действие на биопленки грамотрицательных и грамположительных бактерий, включая нозокомиальных возбудителей. Применение терапии iNO может снизить формирования субстрата долгосрочной устойчивости к антибиотикам после COVID-19 [71].

3. Влияние на воспаление. Исследования показали, что NO играет ключевую роль практически на каждой стадии воспалительного процесса. NO подавляет выработку большого количества цитокинов в лимфоцитах, эозинофилах, моноцитах и других иммунных клетках, включая ключевые провоспалительные цитокины [72]. Кроме этого, в ряде исследований показано, что NO ингибирует сигнальный путь NF-κB – один из основных регуляторов воспалительного процесса при инфекции, вызванной SARS-CoV-2 [63]. Активация NF-κB происходит не только в острую стадию COVID-19, но и под влиянием длительной гипоксии при ПКС [63].

4. Влияние на эндотелиальную дисфункцию. NO поддерживает физиологический сосудистый гомеостаз в тканях и защищает кровеносные сосуды от повреждения тромбоцитами и циркулирующими клетками. Уменьшение продукции эндотелиального NO, характерное для COVID-19, является признаком эндотелиальной дисфункции и тромботических осложнений. Снижение или прекращение высвобождения NO приводит к накоплению свободного Ca^{2+} в гладкомышечных клетках сосудов, постоянной вазоконстрикции, активации тромбоцитов.

Терапия iNO потенциально может предотвратить развитие цитокинового шторма, а также снизить риск системных осложнений за счет антиагрегантных, лейкоцитарно-антиадгезивных и противовоспалительных эффектов NO. Кроме того, наличие NO во внелегочных тканях снижает риск тромбоза и адгезии лейкоцитов к системному сосудистому эндотелию за счет механизма S-нитрозилирования белков [71].

5. Эффект вазодилатации и уменьшение гипоксии. Вазоконстрикция в ответ на гипоксию является отличительной чертой легочной сосудистой сети, в то

время как системные сосуды, наоборот, расширяются, чтобы увеличить доставку кислорода тканям. iNO избирательно действует на сосудистую сеть, связанную с вентилируемыми единицами легких: только на те конкретные сосуды, которые подвергаются воздействию вдыхаемого газа, диффундирующего через альвеолярно-капиллярную мембрану. Избирательное расширение этих сосудов улучшает вентиляционно-перфузионное соотношение [119].

В настоящее время имеется достаточно большое количество публикаций результатов клинических исследований применения iNO в острый период COVID-19. Наибольшая его эффективность определена на ранней стадии течения болезни, а также среди пациентов с явлениями вирусной пневмонии без тяжелой дыхательной недостаточности. На этих стадиях заболевания iNO оказывает противовирусные свойства, приводит к улучшению оксигенации и уменьшению воспаления [92, 100, 109].

Также оценена эффективность применения iNO на фоне искусственной вентиляции легких (ИВЛ) у пациентов с ОРДС с подтвержденной инфекцией SARS-CoV-2. В исследовании Raffaele Di Fenza et al. участники экспериментальной группы получали iNO в дозе 80 ppm в течение 48 часов, а затем концентрацию газа снижали до 40 ppm и поддерживали её до разрешения тяжелой гипоксемии. В ходе исследования отмечено улучшение оксигенации через 48 часов у пациентов с COVID-19, осложненной острой гипоксемической дыхательной недостаточностью (ДН), снижение частоты сенсорных и моторных неврологических симптомов, более быстрое снижение вирусной нагрузки по данным исследования образцов мокроты и крови. Однако ингаляции NO не снижали смертность, продолжительность искусственной вентиляции легких, а также длительность госпитализации [50].

Подобные наблюдения представлены и в исследованиях других авторов. Так в работе 2022 года Abman et al. представлены результаты ретроспективного исследования, в котором оценивалась эффективность непрерывного введения iNO в дозе до 40 ppm в течение 24 часов у пациентов с COVID-19 и легким или умеренным ОРДС через носовую канюлю. Отмечено, что ингаляция NO привела к

увеличению индекса оксигенации ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) с 136,7 (34,4) на исходном уровне до 140,3 (53,2), а также отсутствие токсического эффекта от ингаляции [24].

Что касается изучения эффективности применения iNO у пациентов в постковидном периоде, то число опубликованных работ явно немногочисленно. В нашей клинике проведено инновационное исследование, в котором доказано, что использование iNO в дозах 50 или 75 ppm в течение 120 мин на протяжении 14 дней приводило к уменьшению выраженности одышки, повышению толерантности к физическим нагрузкам, улучшению показателей качества жизни (физический и эмоциональный компоненты) по опроснику SF-36, параметров микроциркуляции по данным капилляроскопии ногтевого ложа [14].

1.3. Молекулярный водород.

Молекулярный водород – это газ, не имеющий вкуса и запаха и плохо растворимый в воде. Изучение H_2 началось еще в XVIII веке, когда в 1766 г. британский ученый Генри Кавендиш выделил новый газ и назвал его «горючим воздухом» из-за его легковоспламеняющихся свойств [78]. В 1779 г. французский химик Антуан Лавуазье получил водород при разложении воды. Молекулы H_2 благодаря низкому весу и неполярности быстро проникают через клеточную мембрану и распределяются в цитоплазме и органеллах, включая ядро клетки. Они могут легко преодолевать большинство барьеров (например, гематоэнцефалический), что невозможно для большинства молекул антиоксидантов. H_2 не обладает цитотоксичностью. Молекулы водорода не влияют на кровяное давление, pH или температуру тела [95].

В клетках млекопитающих отсутствуют гидрогеназы, что не позволяет им вырабатывать молекулярный водород, поэтому он может поступать только извне.

Длительное время H_2 считался физиологически инертным газом. Его широко применяли в промышленности, а также в качестве альтернативного источника энергии. Однако в 2007 году группа исследователей под руководством профессора Shigeo Ohta в журнале Nature Medicine впервые опубликовала данные,

доказывающие антиоксидантную активность H_2 на биологических моделях [91]. Это исследование положило начало активному изучению молекулярного водорода как терапевтического средства. Несмотря на большое количество данных о положительных свойствах H_2 , его широкое внедрение в медицинскую практику было не столь стремительным. Всплеск исследований по изучению данного медицинского газа пришелся на период начала пандемии COVID-19, когда начался активный поиск терапевтических средств для лечения данной патологии.

Избыточное формирование АФК (супероксид (O_2^-), гидроксильный радикал ($\bullet OH$) и др.), а также реактивных форм азота (пероксинитрит ($ONOO^-$)), в концентрациях, превышающих антиоксидантные возможности организма, способствует развитию окислительного стресса (ОС). Доказано, что ОС является патогенетическим звеном огромного количества патологических состояний со стороны органов ЖКТ, сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной и других систем [16]. Применение антиоксидантов могло бы способствовать снижению повреждающего действия свободных радикалов. Однако использование антиоксидантной терапии имеет ограничения, поскольку происходит нейтрализация не только вредных, но и защитных свойств АФК [102]. В этой связи перспективным направлением является использование водорода, который избирательно реагирует с высокотоксичными гидроксильными радикалами ($\bullet OH$) и пероксинитритом ($ONOO^-$), способными неконтролируемо вступать в реакции с нуклеиновыми кислотами, липидами, вызывая фрагментацию ДНК, перекисное окисление липидов и инактивацию ферментов [30, 102], но сохраняет при этом реакционную способность других полезных окислителей.

Исследование, проведенное Prof. Qianjun и его группой опубликованное в журнале Nano Research, идентифицировали окисленную форму Fe-порфирина, называемую “тематином”, в качестве первичной молекулярной мишени H_2 . Гидроксигруппа ($-OH$), сопряженная с гемом, содержащим Fe (III), может быть заменена водородом ($-H$) в результате реакции с H_2 . Атомный элемент H группы – H действует как гидрид, эффективно улавливая гидроксильные радикалы ($\bullet OH$)

(Гем-Fe (III)-Н + •ОН → Гем-Fe (II) + Н₂O). Кроме того, было продемонстрировано, что гем с Fe (II) служит катализатором ряда реакций, способствующих восстановлению свободных радикалов. Эти каталитические реакции играют ключевую роль в восстановлении окислительных повреждений и поддержании клеточного гомеостаза [69].

Описаны данные, что молекулярный водород обладает противовоспалительным эффектом, снижая экспрессию провоспалительных цитокинов, таких как IL-1β, IL-6, IL-12, фактор некроза опухоли-α (ФНО- α). Кроме того, Н₂ влияет на регуляцию клеточного цикла и способен снижать активность проапоптотических факторов, таких как каспаза-3, каспаза-12, каспаза-8 и Вах, проявляя антиапоптотические свойства [40, 79]. Помимо антиоксидантных, противовоспалительных и антиапоптотических процессов молекулярный водород влияет на выраженность аутофагии. Отмечено, что вдыхание газообразного водорода или употребление богатой водородом воды уменьшало ишемически-реперфузионное повреждение миокарда, гипоксически-ишемическую травму головного мозга у новорожденных и сепсис за счет активации аутофагии [79, 101].

В настоящее время водород используется в различных формах в виде ингаляций, питьевой воды, ванн и даже в виде внутривенных инфузий и глазных капель. Ингаляция газа Н₂ является наиболее простым способом и широко используется с момента первого сообщения. Вдыхаемый Н₂ может диффундировать в плазму через альвеолы и перемещаться по всему организму через кровеносную систему [95].

Клинические испытания показали, что 72 часа воздействия 2,4% газа Н₂ не оказали отрицательного воздействия на какие-либо физиологические показатели, что указывает на то, что молекула Н₂ не оказывает отрицательного воздействия на организм человека [42]. Однако химические компоненты и особенности молекулы Н₂ указывают на то, что она реагирует с кислородом, образуя воду при горении. Согласно исследованиям, концентрация Н₂ менее 10% не является взрывоопасной при контакте с кислородом или воздухом [77]. Кроме того, исследование

показало, что концентрация H_2 как в тканях, так и в крови зависит от интенсивности и времени вдыхания. Более того, антиоксидантное действие H_2 также оказалось дозозависимым [54].

Известно влияние молекулярного водорода на функцию микробиоты кишечника, патология которой связана с возникновением множественных метаболических, воспалительных и некоторых системных заболеваний. Функция микробиоты кишечника в основном зависит от ее продукции, включая молекулярный водород. Показано, что недостаточное производство водорода микробиотой кишечника может привести к болезни Паркинсона из-за отсутствия его антиоксидантного, противовоспалительного и цитопротекторного эффекта. И наоборот, показано, что введение физиологического раствора, обогащенного водородом, также может облегчать течение данного заболевания, регулируя активность микробиоты кишечника [79, 99, 125].

Молекулярный водород и COVID-19

В разгар пандемии COVID-19, когда начался активный поиск методик лечения данного заболевания и его последствий, молекулярный водород привлек внимание как возможное терапевтическое средство благодаря его антиапоптотическим, антиоксидантным и противовоспалительным свойствам.

Возможная эффективность молекулярного водорода при лечении COVID-19 и ПКС может быть объяснена различными свойствами молекулярного водорода. H_2 способен быстро проникать в различные ткани и клетки, избирательно снижая уровень цитотоксических АФК, подавляя провоспалительные цитокины [30].

Отмечено, что H_2 может индуцировать цитопротекторные белки теплового шока, тем самым подавляя сигнальный воспалительный путь NF- κ B и индуцирует антиоксидантный путь Nrf2/Keap1 [30], а также улучшает функцию митохондрий и усиливает клеточную биоэнергетику, предотвращает апоптоз клеток, улучшает газообмен через альвеолы.

В экспериментах было показано, что непрерывное воздействие (24 часа) 10% водорода снижало выработку АФК в эпителиальных клетках легких человека, а вдыхание 2% водорода ослабляло повреждение органов, вызванное септическим шоком, и уменьшало инфильтрацию нейтрофилов в альвеолах, а также уменьшало повреждение альвеол [81].

На сегодняшний день опубликовано небольшое количество работ по применению молекулярного водорода в период острого течения SARS-CoV-2, а также при ПКС. В частности проведено многоцентровое клиническое исследование по оценке эффективности применения водородно-кислородной ингаляционной смеси у пациентов с тяжелым течением COVID-19. Ингаляции H_2-O_2 (66% водорода; 33% кислорода) со скоростью 6 л/мин через назальную канюлю привели к снижению тяжести заболевания, более выраженному уменьшению интенсивности одышки на 2-й день в группе лечения по сравнению с группой контроля. Кроме того, наблюдалось значительное улучшение показателя SpO_2 в состоянии покоя после курса ингаляций, снижение маркеров воспаления (процента нейтрофилов и концентрации С-реактивного белка) [61]. Положительные результаты пилотного исследования побудили доктора Zhong Nanshan (эпидемиолога, открывшего в 2003 году вирус атипичной пневмонии (SARS-CoV-1)), рекомендовать ингаляционную терапию H_2/O_2 для пациентов с COVID-19 [61] и провести больше клинических испытаний с использованием газовой смеси H_2/O_2 .

У пациентов в постковидном периоде по данным параллельного, одинарного слепого, плацебо-контролируемого исследования M. Votek с соавт. 14-дневный курс ингаляций молекулярного водорода в течение 60 мин оказывал эффективное воздействие на физические параметры и показатели респираторной функции. В группе пациентов, получавших ингаляции молекулярным водородом, по сравнению с группой плацебо значительно увеличилась пройденная дистанция по данным теста 6-минутной ходьбы на 64 ± 39 м, ФЖЕЛ на $0,19 \pm 0,24$ л и ОФВ1 на $0,11 \pm 0,28$ л (все $p \leq 0,025$). Отмечена положительная динамика ФЖЕЛ и ОФВ1 на $0,19 \pm 0,24$ л и на $0,11 \pm 0,28$ л соответственно (все $p \leq 0,025$) [35].

В отечественном исследовании по оценке безопасности и эффективности применения ингаляционного водорода в реабилитационной программе у лиц, перенесших COVID-19 было показано, что по окончании 10-дневного курса ингаляций определено увеличение пройденной дистанции по данным теста 6-минутной ходьбы с $429 \pm 45,0$ до 569 ± 60 м. Также отмечено уменьшение проявлений скрытой гипоксемии по данным газового анализа артериальной крови в виде повышения минимальной сатурации крови кислородом (SpO_2) с $92,25 \pm 2,9$ до $94,25 \pm 1,56\%$ ($p < 0,05$), определено снижение внутрилегочного шунтирования с $8,98 \pm 5,7$ до $5,34 \pm 3,2$ ($p < 0,01$), уменьшение выраженности эндотелиальной дисфункции (индекс ригидности (SI) уменьшился с $8,8 \pm 1,8$ до $6,8 \pm 1,5$ м/с ($p < 0,0001$), а индекс отражения (RI) наоборот увеличился с $46,67 \pm 13,26$ до $63,32 \pm 13,44\%$ ($p < 0,0001$)) [23].

1.4 Возможное комбинированное использование iNO/iH₂ у пациентов в постковидном периоде.

Учитывая положительные эффекты оксида азота и молекулярного водорода, целесообразно проведение исследований для оценки эффективности комбинированного применения этих медицинских газов. Это позволило бы достигнуть более выраженного и безопасного воздействия у пациентов с различными патологиями.

Кроме того, использование водорода при ингаляциях позволило бы предупредить нежелательные эффекты оксида азота. Известно, что применение высоких доз ингаляционного оксида азота может сопровождаться повышением концентрации метгемоглобина крови, диоксида азота, нитротирозина и пероксинитрита [50]. Молекулярный водород, как антиоксидант, способен нивелировать этот отрицательный эффект от развития окислительного стресса, связывая свободные радикалы [30].

При изучении литературных данных не найдено публикаций клинических исследований комбинированного использования iNO и iH₂. На сегодняшний день

проведено несколько экспериментальных работ в этой области. По данным исследования T. Shinbo et al. продемонстрировано положительное влияние совместного применения iNO в дозе 80 ppm и 2% H₂ в течение 35 мин у лабораторных мышей. Комбинация iNO и iH₂ способствовала уменьшению объема повреждения сердца и синтеза миокардиального нитротирозина, ускоряя восстановление функции левого желудочка, значительно снижала зону ишемии миокарда за счет снижения уровня свободных радикалов и активных форм кислорода, а также способствовала предотвращению снижения сердечного выброса в сравнении с использованием монотерапии NO. Авторами отмечается, что сочетанное применение оксида азота и молекулярного водорода может сокращать негативное воздействие пероксинитрита, возникающего как продукт превращения NO [107].

В еще одном экспериментальном исследовании на лабораторных животных, опубликованном Huiying Liu et al. показан положительный эффект комбинированного применения молекулярного водорода и оксида азота на острое повреждение легочной ткани на фоне введения липополисахаридов (ЛПС). Данная работа показала, что ингаляционное введение 20 ppm NO совместно 2% H₂, начиная через 5 минут после введения ЛПС в течение 3 часов заметно ослабляло ЛПС-индуцированное рекрутирование и воспаление легочных нейтрофилов, о чем свидетельствует снижение активности легочной миелопероксидазы, общего количества клеток и полиморфноядерных нейтрофилов, а также провоспалительных цитокинов (ФНО- α , IL 1 β). Также отмечено, что уровень пероксинитрита в легочной ткани значительно повышался при терапии только ингаляционным оксидом азота, тогда как применение ингаляционной смеси NO и H₂ приводило к его значимому снижению [80].

Учитывая наличие только экспериментальных работ в области комбинированного применения ингаляционного H₂ и NO, а также положительный клинический опыт по использованию этих медицинских газов как при ПКС, так и при других патологических состояниях, требуется проведение клинических исследований по оценке безопасного и эффективного их применения. Важно

отметить, что при разработке новых методик лечения требуется создание новых эффективных приборов, обеспечивающих безопасность ингаляций и мониторинг основных показателей. На сегодняшний день видна тенденция к увеличению концентрации NO в лечебной газовой смеси для ингаляций. Для повышения эффективности и безопасности таких методик академиком РАН А.Г. Чучалиным инициирована разработка гибридной системы по производству NO и H₂. В производстве гибридной системы по генерации NO и H₂ использован плазмохимический генератор «Тианокс» и генератор H₂ на основе электролизера с твердым полимерным электролитом, оснащенный монитором, предназначенный для контроля концентрации H₂, NO и NO₂ в дыхательном контуре пациента.

Описанные литературные данные отражают многообразие влияния iNO и iH₂ на организм человека при различных патологических состояниях. Положительный эффект iNO на функцию эндотелиоцитов и антиоксидантные свойства H₂ позволяют сделать вывод об эффективности применения этих медицинских газов (МГ) у пациентов с ПКС (Рисунок 4).



Рисунок 4 – Воздействие NO и H₂ на патобиологические механизмы ПКС

Таким образом, комбинированное применение iNO/iH₂ приводит к более выраженному эффекту от терапии и способствует безопасному использованию этих МГ, а значит является перспективным методом лечения пациентов с ПКС.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование было проведено на базе ГБУЗ «Городская клиническая больница им. Д.Д. Плетнева ДЗМ» в период с декабря 2022 года по февраль 2024 года. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол заседания локального этического комитета №226 от 20.02.2023 г.). Все участники подписали добровольное информированное согласие (ДИС) на участие в исследовании, соответствующее Хельсинской Декларации Всемирной медицинской ассоциации (2005 г.), а также национальным законам и стандартам России, Правилам надлежащей клинической практики (ICH GCP), принятыми в Российской Федерации.

2.1. Дизайн исследования

На основании поставленных задач настоящее исследование состояло из двух этапов.

1 этап: открытое несравнительное проспективное исследование по оценке безопасности применения комбинированной ингаляции оксидом азота и молекулярным водородом у здоровых добровольцев.

На первом этапе в исследования было включено 10 относительно здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 60 лет, соответствующих критериям включения/невключения. Добровольцам предлагалось получить однократную комбинированную ингаляцию iNO/iH₂ через назальные канюли в течение 90 минут [13]. Концентрация NO составила 60 ppm, концентрация H₂ не превышала 4% в газовой смеси (скорость потока – 4 л/мин).

Исследование включало в себя этап скрининга и 2 последующих визита. До проведения любых процедур исследования все добровольцы подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании (Рисунок 5).

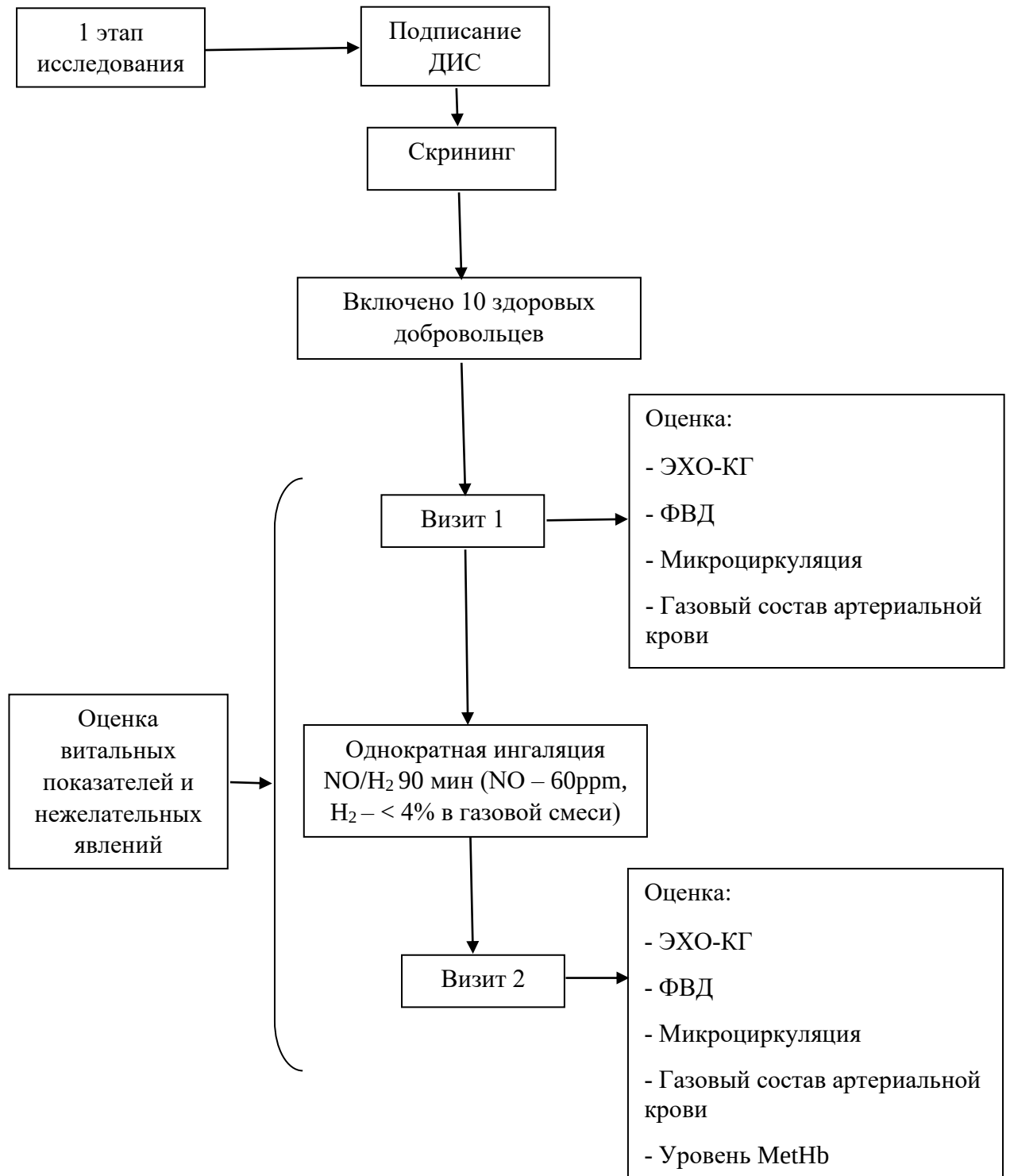


Рисунок 5 – Дизайн 1 этапа исследования

На этапе скрининга проводился полный клинический осмотр и оценка соответствия критериям включения/невключения.

Визиты 1 и 2 включали в себя проведение комплекса лабораторных и инструментальных методов диагностики до и после однократной комбинированной ингаляции. Оценивались параметры газового состава артериальной крови, уровень метгемоглобина в сыворотке крови, функциональные показатели легочных объемов, а также параметры гемодинамики и микроциркуляции.

2 этап: проспективное открытое контролируемое исследование в параллельных группах. На данном этапе исследования была проведена оценка эффективности и безопасности сочетанного применения ингаляций оксидом азота и молекулярным водородом у пациентов с бронхолегочными проявлениями постковидного синдрома.

Было включено 60 человек старше 18 лет с бронхолегочными проявлениями постковидного синдрома, распределенных на 3 группы (Рисунок 6).



Рисунок 6 – Дизайн 2 этапа исследования

1 группа (20 человек) – пациенты, получающие комбинированную терапию iNO/iH₂ + стандартная терапия ПКС.

2 группа (20 человек) – пациенты, получающие терапию iNO + стандартная терапия ПКС.

3 группа (20 человек) – группа контроля – пациенты, получающие стандартную терапию ПКС.

Стандартная терапия включает в себя лекарственные средства для коррекции симптомов ПКС (противокашлевые, мукоактивные препараты, бронхолитические средства), а также методы физической реабилитации (ЛФК, применение дыхательных тренажеров) [13].

Курс ингаляционной терапии составил 10 дней. Ингаляции газовой смесью iNO/iH₂ проводились 1 раз в сутки в течение 90 минут. Концентрация H₂ не превышала 4% в газовой смеси, а iNO – 60 ppm (скорость потока – 4 л/мин) [14]. По окончании терапии на 7-е сутки и через 2 месяца проводился мониторинг пациентов при помощи методов телемедицины.

Визиты пациентов с ПКС проведены в соответствии с Регламентом исследования (Таблица1).

Таблица 1 – Регламент исследования у пациентов с ПКС

[illegible]

Визит 0 (Скрининг) – все пациенты до начала проведения обследования подписали ДИС на участие в исследовании. После этого на данном визите проводился полный клинический осмотр, оценка соответствия критериям включения/невключения, заполнение опросников и шкал (mMRC, язык одышки, шкала усталости FAS, SF-36, шкала тревоги и депрессии HADS). В этот день каждый пациент получал дневник самонаблюдения.

Визит 1 – за 1 день до начала ингаляционной терапии пациентам вновь проводился клинический осмотр с контролем жизненно важных функциональных показателей (АД, ЧСС, ЧДД, пульсоксиметрия, термометрия), выполнялись оценка функциональных легочных объемов при помощи спирометрии, а также диффузионной способности лёгких, измерение показателей гемодинамики методами ЭХО-КГ, проводился тест 6-минутной ходьбы.

Визит 2 – в день начала ингаляционной терапии оценивались витальные показатели (АД, ЧСС, ЧДД, пульсоксиметрия, термометрия), проводилось взятие образцов артериальной крови для оценки его газового состава и венозной крови для определения показателей окислительного стресса, выполнялась капилляроскопия с подбором индивидуальной дозы NO. После получения и анализа результатов обследования проводилась ингаляционная терапия.

Визит 3 - 10 включал ежедневное проведение ингаляций. На протяжении всего курса мониторовали витальные функции (АД, ЧСС, ЧДД, пульсоксиметрия, термометрия), выполняли проверку дневников самонаблюдения, оценивали динамику клинических проявлений ПКС и наличие нежелательных реакций на получаемую терапию.

Визит 11 – после завершения курса терапии пациентам проводился контрольный комплекс лабораторных и инструментальных методов обследования. Пациентам вновь предлагалось заполнить шкалы и опросники (mMRC, язык одышки, шкала усталости FAS, SF-36, шкала тревоги и депрессии HADS). Выполнялась оценка дневников самонаблюдения, нежелательных явлений.

Отдаленный контроль - после окончания курса терапии на 7-е сутки и через 2 месяца проводился мониторинг состояния пациента при помощи методов телемедицины. Оценивались жалобы, сохранение эффекта после курса ингаляционной терапии и развитие возможных отдаленных нежелательных явлений.

2.2. Материалы исследования

2.2.1. Открытое несравнительное проспективное исследование по оценке безопасности применения однократной комбинированной ингаляции оксидом азота и молекулярным водородом у здоровых добровольцев

Участие в исследовании было предложено 10 здоровым добровольцам.

Критерии включения:

- Здоровые добровольцы или добровольцы, в анамнезе которых могут присутствовать заболевания со стабильным течением, не отвечающие ни одному из критериев невключения в исследование.

- Возраст на момент подписания Информированного согласия от ≥ 18 до <60 лет.

- Пол - мужской или женский.

- Письменное Добровольное информированное согласие добровольцев на участие в исследовании.

- Добровольцы, способные выполнять требования Протокола (т.е. приходить на все планируемые визиты).

- Для женщин, способных к деторождению - отрицательный тест на беременность.

Критерии невключения:

Добровольцы не могли быть включены в исследование, если присутствовал любой из следующих критериев:

1. Заболевания или медицинские состояния:

- Тяжелые и/или неконтролируемые заболевания сердечно-сосудистой, бронхолегочной, нейроэндокринной систем, желудочно-кишечного тракта, печени, почек, кроветворной, иммунной систем.

- Дефицит метгемоглобинредуктазы (врожденный или приобретенный).

- Диспансерный учет по поводу туберкулеза, лейкоза, онкологических заболеваний, аутоиммунных заболеваний.

- Любое подтвержденное или предполагаемое иммуносупрессивное или иммунодефицитное заболевание в анамнезе.

- Злоупотребление алкоголем.

- Табакокурение в настоящее время.

- Наркомания.

- Индекс массы тела ниже или выше нормальных значений ($18,5 - 25 \text{ кг/м}^2$)

- Анорексия.

- Аксилярная температура на момент ингаляции более $37,0^\circ\text{C}$.

- Острые инфекционные заболевания (выздоровление ранее 4-х недель до ингаляции) по данным анамнеза.

- Донорская сдача крови или плазмы (в объеме 450 мл или более) менее чем за 2 месяца до включения в исследование.

2. Предшествующая или сопутствующая терапия:

- Акарбоза.

- Статины.

3. Другие критерии невключения:

- Участие в каком-либо другом исследовании в течение последних 3 месяцев.

- Беременность или кормление грудью.

Критерии исключения:

- Отзыв добровольцем добровольного информированного согласия.

- Доброволец был включен с нарушением критериев включения/невключения Протокола.

- Любое состояние добровольца, требующее, по обоснованному мнению, врача-исследователя, вывода добровольца из исследования.

- Доброволец отказывается сотрудничать или недисциплинирован (неявка на запланированный визит без предупреждения врача-исследователя и/или потеря связи с добровольцем), либо выбыл из-под наблюдения.

- При грубых нарушениях Протокола, способных повлиять на результаты исследования.

Таким образом, в 1 этап исследования было включено 10 здоровых добровольцев (4 мужчин и 6 женщин), соответствующих критериям включения и невключения. Средний возраст на момент исследования составил $24,0 \pm 1,3$ года.

2.2.2. Проспективное открытое контролируемое исследование в параллельных группах у пациентов с бронхолегочными проявлениями ПКС

Всего было обследовано 122 пациента, из которых в исследование было включено 60 человек.

Критерии включения:

- Пациенты с бронхолегочными проявлениями постковидного синдрома (согласно определению ВОЗ).
- Возраст на момент подписания добровольного информированного согласия (ДИС) от 18 лет и более.
- Пациенты, подписавшие добровольное информированное согласие на участие в исследовании.
- Пациенты, способные выполнять требования Протокола (т.е. приходить на все планируемые визиты).
- Для женщин, способных к деторождению - отрицательный тест на беременность.

Критерии невключения:

- Пациенты с иной хронической бронхолегочной и оториноларингологической патологий.
- Пациенты с клинической значимой хронической патологией в стадии декомпенсации.
- Аксилярная температура на момент ингаляции более $37,0^{\circ}\text{C}$.
- Острые инфекционные заболевания (выздоровление ранее 4-х недель до ингаляции) по данным анамнеза.
- Злокачественные новообразования.
- Беременность и кормление грудью.

- Острое нарушение мозгового кровообращения и острый инфаркт миокарда в течение последних 6-ти месяцев.

- Выраженные гемодинамические нарушения.

- Сопутствующая терапия препаратами, способствующими повлиять на результаты исследования, в том числе антиоксидантами, препаратами донаторов NO (нитроглицерин), препаратами, повышающими уровень MetHb (лидокаин, викасол, сульфаниламиды).

Критерии исключения пациента из исследования:

- Отзыв пациентом добровольного информированного согласия.

- Пациент был включен с нарушением критериев включения/невключения Протокола.

- Любое состояние, требующее, по обоснованному мнению, врача-исследователя, вывода пациента из исследования.

- Пациент отказывается сотрудничать или недисциплинирован.

- При грубых нарушениях Протокола, способных повлиять на результаты исследования.

Таким образом, на 2 этапе в исследование было включено 60 человек, из них 18 мужчин и 42 женщин, средний возраст которых составил $58,1 \pm 12,9$ лет. 90% пациентов перенесли среднетяжелую и тяжелую степень COVID-19 (степень тяжести определялась по классификации представленной во временных методических рекомендациях «Профилактика диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) от 26.10.2023г.). Больше половины всех пациентов (58,3%) заболели в 2021 г. Время от положительного ПЦР теста до начала исследования составило в среднем $728,7 \pm 262,3$ дня.

2.3. Методы исследования

2.3.1. Клинический осмотр

У всех участников исследования проводился сбор жалоб и медицинского анамнеза, а также физикальный осмотр по всем системам и органам.

Данные медицинского анамнеза были получены путем опроса и просмотра медицинской карты участника исследования.

На всех этапах исследования оценивалась информация:

- об имеющихся на момент исследования и перенесенных в прошлом заболеваниях, в том числе хронических;
- об аллергических реакциях на лекарственные препараты, пищевые продукты, а также аллергических заболеваниях;
- обо всех лекарственных препаратах, которые участник получал на момент исследования и за последние шесть месяцев (информация о сопутствующей терапии должна была включать наименование лекарственного препарата, дозировку, кратность, дату начала и длительность применения лекарственного препарата, причину применения лекарственного препарата);
- о статусе потребления алкоголя/наркотических веществ, табакокурения;
- у женщин - участниц: наличие менопаузы или срок менструального цикла.

На II этапе исследования проводился сбор жалоб на определение постковидного синдрома, время их появления, характер развития, длительность течения, а также наличия иных жалоб.

У всех пациентов с ПКС собирался анамнез на коронавирусную инфекцию:

- ✓ наличие в анамнезе COVID-19 (продолжительность и срок заболевания, медикаментозная терапия, объем поражения легких по данным КТ органов грудной клетки, проведение респираторной поддержки);
- ✓ вакцинация (любые вакцины против коронавируса).

На протяжении всего исследования систематически проводился мониторинг жизненно важных функций (АД, ЧСС, ЧДД, температура тела, пульсоксиметрия).

2.3.2. Лабораторная диагностика

Оценка газового состава артериальной крови

Всем участникам исследования проводилась лабораторная оценка газового состава артериальной крови. По данным pO_2 , pCO_2 , SpO_2 определяли наличие и тип (гипоксемический, гиперкапнический) дыхательной недостаточности. Также проводилась оценка pH в крови. Забор артериальной крови проводился с помощью специализированных сэмплеров PICO70 (Radiometr, Дания) и шприцев S-Monovette (Sarstedt AG&Co., Германия). Исследование проведено на газоанализаторе Instrumentation Laboratory GEM 3500.

Оценка уровня метгемоглобина (MetHb) сыворотки крови

Оценка уровня MetHb сыворотки крови проводилась у здоровых добровольцев на I этапе исследования после проведения однократной комбинированной ингаляции iNO/iN₂. Для лабораторной оценки потребовался забор 6 мл венозной крови. Концентрация MetHb определялась спектрофотометрическим методом в сторонней лаборатории.

Оценка параметров окислительного стресса и антиоксидантной защиты

Параметры окислительного стресса (ОС) и уровня антиоксидантной защиты (АОЗ) оценивали у пациентов с ПКС на II этапе исследования. Данный вид диагностики проведен с помощью анализатора FORM Plus (Callegari, Италия). В образцах венозной крови (6 мл) определяли суррогатные показатели окислительного повреждения (тест FORT, референсные значения до 310 единиц FORT), а также общей антиоксидантной способности (тест FORD, референсные значения 1,07-1,53 ммоль/л в эквивалентах тролокса) (регистрационное удостоверение на тесты № ФСН 2010/07513).

FORT - колориметрический тест, который основан на способности Fe катализировать расщепление ОН с образованием производных радикалов согласно реакции Фентона [94]. Образующиеся в клетках гидропероксиды (ROOH) сохраняют свою химическую активность и окислительную способность

генерировать образование пропорциональных количеств алкоксильных ($RO\cdot$) и перекисных ($ROO\cdot$) радикалов, которые затем захватываются хромогеном в соответствующем буфере и при $37^{\circ}C$ развивается реакция с образованием окрашенного стабильного продукта, определяемого фотометрически. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна количеству радикалов.

FORD является колориметрическим тестом, основанным на способности антиоксидантов, присутствующих в плазме крови, сокращать количество катионов. FORD-тест основан на степени редукции радикалов за фиксированное время [94]. Антиоксиданты, присутствующие в образцах, снижают содержание катионов, что приводит в конечном итоге к обесцвечиванию раствора пропорционально количеству антиоксидантов в образце.

Оценка концентрации газов в выдыхаемом воздухе

Определение FeNO выдыхаемого воздуха проводилось при помощи портативного прибора Circassia Niox Vero, Великобритания.

Определение H_2 выдыхаемого воздуха проводилось при помощи портативного прибора Gastro + Gastrolyzer, Bedfont Scientific LTD, Великобритания.

Определение CO выдыхаемого воздуха проводилось при помощи портативного прибора Micro + Smokerlyzer, Bedfont Scientific LTD, Великобритания.

Пациентам было предложено выдыхать воздух в газоанализатор, после чего на экране был выведен результат.

2.3.3. Оценка функциональных легочных объемов и диффузионной способности легких

Оценка параметров функции внешнего дыхания проводилась на всех этапах исследования до начала ингаляций и после на основании анализа кривой «поток-объем». Исследовались основные показатели: объем форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1), форсированная жизненная ёмкость легких (ФЖЕЛ), а также

индекс Генслера (ОФВ1/ФЖЕЛ). Методика проведения спирометрии и расчет должных показателей проводился согласно рекомендациям Российского респираторного общества (2021г.) [10]. Определение диффузионной способности легких по диоксиду углерода (DLCO) с коррекцией по гемоглобину проводилось на аппарате GANSHORN PowerCube Body.

2.3.4. Исследование параметров гемодинамики

Анализ параметров гемодинамики проводился дважды, до начала и после ингаляционной терапии, у всех участников исследования с помощью стандартного трансторакального ультразвукового исследования сердца (ЭХО-КГ). Данное обследование выполнено на аппарате Vivid E9 General Electric. Оценивались такие показатели, как фракция выброса левого желудочка (ФВ), размеры камер сердца, систолическое давление в легочной артерии (СДЛА), систолическая экскурсия кольца трикуспидального клапана (TAPSE).

2.3.5. Оценка клинических проявлений постковидного синдрома

Дневник самонаблюдения

Для оценки клинических проявлений постковидного синдрома был разработан дневник самонаблюдения, в котором перечислены наиболее актуальные жалобы при данном состоянии [1, 9, 13, 31, 32, 41, 46, 60]. С помощью визуально-аналоговой шкалы пациентам предлагалось определить наличие и степень выраженности следующих симптомов: «одышка», «кашель», «изменение обоняния/вкусовых ощущений», «чувство тревоги», «нарушение сна», «утомляемость», «головная боль», «сердцебиение», «суставная боль». Степень выраженности определялась от «0» до «10», где «0» отражает отсутствие признака, а «10» - максимальное его проявление (Приложение №1).

Оценка выраженности одышки

Для оценки степени интенсивности одышки в исследовании было применено несколько шкал и опросников. В первую очередь использовалась шкала mMRC (Modified Medical Research Council Dyspnea Scale) — модифицированный опросник Британского медицинского исследовательского совета. Пациент выбирает одно из пяти утверждений, которое наиболее близко описывает его степень тяжести одышки: от 0, где одышка не беспокоит, до 4 — «Одышка делает невозможным для больного выход за пределы своего дома, или одышка появляется при одевании и раздевании» (Приложение №2). Также для интерпретации характера одышки пациентам предлагалось использовать перечень интерпретаций одышки — «язык одышки», составленный P.M.Simon et. al. и переведенный на русский язык (под ред. А.Г. Чучалина) (Приложение №3). Пациентам предлагалось выбрать 3 описания из общего списка, которые наиболее значимо характеризовали их одышку.

Оценка усталости

Для оценки степени выраженности усталости применялась шкала FAS (fatigue assessment scale) (Приложение №4). Она включает в себя 10 вопросов, направленных на оценку как физической, так и психоэмоциональной усталости. На каждый из предложенных вопросов пациент выбирает ответ, где 1 — «Никогда», 2 — «Иногда» (примерно раз в месяц или реже), 3 — «Регулярно» (примерно несколько раз в месяц), 4 — «Часто» (примерно еженедельно), 5 — «Всегда» (примерно каждый день) по шкале Likert.

Оценка качества жизни

"SF-36 Health Status Survey" относится к неспецифическим опросникам для оценки качества жизни. Перевод на русский язык и апробация методики была проведена «Институтом клинико-фармакологических исследований» (Санкт-Петербург). 36 пунктов опросника сгруппированы в восемь шкал: физическое функционирование, ролевая деятельность, телесная боль, общее здоровье, жизнеспособность, социальное функционирование, эмоциональное состояние и психическое здоровье. Показатели шкал варьируют между 0 и 100, где 100

представляет полное здоровье. Все шкалы формируют два показателя: физический и психологический компонент здоровья.

Оценка наличия тревоги и депрессии

Шкала тревоги и депрессии HADS (Hospital Anxiety and Depression Scale) - это опросник, разработанный A.S. Zigmond и R.P. Snaithe в 1983 году. HADS предназначена для первичного выявления тревоги и депрессии в условиях общей медицинской практики (Приложение №5). Шкала состоит из двух блоков, каждый из которых включает по семь вопросов. Первый блок ориентирован на оценку тревожного компонента, а второй - на депрессию. К каждому вопросу предлагаются четыре варианта ответа: «не испытываю» (0 баллов), «иногда» (1 балл), «часто» (2 балла), «всё время» (3 балла). Результат до 7 баллов определяется как норма, от 8-10 баллов - субклинические проявления, на фоне которых возможны лёгкие формы тревоги или депрессии, которые требуют внимания. 11 и более баллов определяют клинически выраженные симптомы.

Определение нарушения толерантности к физическим нагрузкам

Для оценки наличия нарушения толерантности к физическим нагрузкам пациентам выполнялся тест 6-минутной ходьбы. Всем участникам исследования было предложено пройти как можно большую дистанцию в собственном темпе за 6 минут.

Тест был проведен с помощью прибора Medical International Research, Италия. До начала пробы все данные о пациенте (ФИО, возраст, рост, вес, пол) вносились в программу, далее проводилась оценка АД, пульса. Затем на указательный палец пациента надевали датчик, при помощи которого проводилось мониторирование пульсоксиметрии, а также изменения пульса. В течение двух минут оценивались исходные показатели (SpO_2 , пульс) в покое, затем начинался тест. По окончании пробы в течении двух минут программа оценивала SpO_2 и пульс, доктор измерял АД. Все данные, полученные во время теста (дистанция, изменение SpO_2 , ЧСС), были отображены в виде протокола.

2.3.6. Оценка параметров микроциркуляции.

Подбор индивидуальной дозы NO

Неинвазивное капилляроскопическое исследование конъюнктивы глаза для оценки микроциркуляторного русла осуществлялось на компьютерном капилляроскопе «ОКО» (Патент №132699, автор прибора Хейло Т.С.) до и после проведения ингаляции [19]. При помощи капилляроскопа проведена визуализация капиллярной сети, запись и дальнейшая оценка размеров капилляра, скорости кровотока, анатомического строения капиллярной сети, наличие сладжей, стаза.

Пациент в ходе исследования располагался на стуле. Специалист просил добровольца сфокусировать взгляд в определенной точке на 5-10 секунд и производил запись капиллярного кровотока, после чего выполнял компьютерный расчет параметров микроциркуляции. Длительность процедуры составляла не более 10 минут.

Оценка данных параметров использовалась не только для диагностики и динамики микроциркуляторных нарушений, но и для подбора индивидуальной дозы NO. До начала терапии у всех пациентов определяли исходные показатели. Затем в течение 15 мин пациент получал ингаляцию iNO в дозе 60 ppm, концентрация была подобрана эмпирически. После чего вновь проводилась оценка параметров микроциркуляции и сравнивались результаты до и после ингаляции. Если наблюдалась положительная динамика по скоростным показателям, а также диаметру сосудов, то пациент считался ответчиком на предложенную дозу, и в дальнейшем терапия продолжалась без изменений. При отсутствии динамики возможно титрование дозы NO под контролем капилляроскопии. На Рисунке 7 приведены данные микроциркуляции до и после 15 минут ингаляции NO в дозе 60 ppm.

Параметры микроциркуляции до и после 15 мин ингаляционной терапии в дозе 60 ppm

Параметры	До ингаляции	После ингаляции
Диаметр АО	8 мкм	8 мкм
Диаметр ВО	13 мкм	16 мкм
Объемная скорость АО	44956 мкм ³ /с	49725 мкм ³ /с
Объемная скорость ВО	67282 мкм ³ /с	160767 мкм ³ /с
Сладжи	+	+
Стаз	+	+



Рисунок 7 – Методика оценки индивидуальной дозы iNO при помощи капилляроскопии бульбарной конъюнктивы

2.3.7. Методика проведения ингаляции

Участники исследования получали комбинированные ингаляции iNO/iH₂ или только оксидом азота с помощью экспериментального образца модификации аппарата «Тианокс» с применением водорода. Данный прибор представляет собой объединение прибора АИТ-NO-01 ТУ 32.50.21-001-07623615-2017 («Тианокс», регистрационное удостоверение на медицинское изделие № РЗН 2020/10977 от 22 июня 2020 года), а также модернизированный генератор Н₂ «Кулон». Генерация NO происходит путем окисления атмосферного азота в неравновесной плазме газового разряда, что позволяет достичь стабильной концентрации NO без значительного окисления до NO₂, тем самым обеспечивая безопасное проведение ингаляций. Н₂ получают путем электрического метода разложения воды.

На I этапе здоровым добровольцам проводили однократную ингаляцию NO в сочетании с iH₂ через носовые канюли в течение 90 минут. Концентрация iNO составила 60 ppm, а iH₂ - < 4% в газовой смеси при скорости потока 4 л/мин.

На II этапе исследования пациенты первой группы получали курс комбинированных ингаляций iNO/iH₂. Концентрация iNO после подбора индивидуальной дозы у всех пациентов составила 60 ppm, а iH₂ - не более 4% (средняя концентрация 3,0 – 3,5%) в газовой смеси (скорость потока 4 л/мин). Ингаляции проводились ежедневно 10 дней, длительность ингаляции составляла 90 минут.

Пациенты второй группы получали ингаляции только iNO. Длительность курса и одной процедуры была аналогична первой группе (ежедневно на протяжении 10 дней, длительность - 90 минут). Концентрация iNO после подбора индивидуальной дозы у всех пациентов данной группы составила 60 ppm.

Контроль за показателями концентрации в дыхательном контуре пациента H₂, NO, NO₂ проводился на основании блока мониторинга, которым оснащен прибор. Уровень NO₂ во время ингаляций не превышал предельно допустимые значения (менее 4% в газовой смеси).

2.3.8. Методы оценки безопасности

Критериями оценки безопасности в рамках данного исследования являлись:

- частота возникновения нежелательных реакций (НЯ);
- тип НЯ и их взаимосвязь с ингаляциями (iNO и iNO/iH₂) в течение исследования;
- степень тяжести НЯ;
- наличие отдаленных НЯ.

Взаимосвязь НЯ с ингаляцией оценивалось по следующим категориям:

- «высоковероятная/определенная»;
- «вероятная»;
- «возможная»;
- «маловероятная»;
- «несвязанная»;
- «неизвестная».

2.3.9. Методы статистической обработки данных

Для статистического анализа массива данных использовался пакет IBM SPSS Statistics версии 23 (США). Все показатели были оценены на соответствие распределения значений признаков по закону нормального распределения и представлены в виде средних величин (M) $\pm$ стандартное отклонение (SD) либо медиана (Me) (25-й; 75-й квартили).

Сравнение групп между собой по качественным показателям проводилось с помощью критерия Хи-квадрат, по количественным данным – с помощью t-теста Стьюдента или критерия Манна-Уитни в зависимости от характера распределения данных. Для анализа динамики показателей внутри групп использовался t-критерий для парных выборок или критерий знаковых рангов Уилкоксона в зависимости от распределения данных.

Для проведения исследования на выявление возможной взаимосвязи между количественными признаками применяли методику корреляционного анализа по Пирсону и Спирмену. Достоверность различий принималась при $p < 0,05$.

Для определения взаимосвязи между возникновением события и несколькими известными признаками на первом этапе была построена модель логистической регрессии. Для каждого признака рассчитывались коэффициенты, которые затем преобразовывались в отношения шансов (Odds Ratios, OR). Для интерпретации результатов были вычислены доверительные интервалы для OR методом бутстрэппинга, предусматривающим генерацию 1000 выборок с возвратом.

На втором этапе использовалась модель опорных векторов (SVM) с линейным ядром. Для оценки качества моделей проводилась кросс-валидация и сравнивалась точность на тестовой выборке при её размере 20% и 30% от всего числа пациентов. Результаты моделей анализировались с использованием матрицы ошибок, классификационного отчёта и общей точности (accuracy).

Для выделения фенотипов болезни был проведен кластерный анализ методом k-средних. Важность признаков определялась на определении разницы

центроидов. Используемый метод представляет собой последовательное выделение одномерных признаков, основанное на невзвешенном центроидном методе, при котором расстояние между кластерами определяется как расстояние между их «центрами тяжести». Применяемый метод является частью разведывательного анализа данных, отражая размах между самым крупным и самым малым значением в наборе данных для оценки вариабельности признака. Значение разницы центроидов > 1.0 определялось как значимость признака в выделении кластера, так как максимальное значение разницы равняется около 2.0, а также округленная медиана равна 1.0. Кроме того, предварительно использованный метод StandardScaler сделал распределение признаков гауссовым с нулевым средним и единичной дисперсией, т.е. большинство значений стали располагаться в диапазоне от -2 до +2.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Оценка безопасности применения однократной комбинированной ингаляции NO и молекулярным водородом у здоровых добровольцев

3.1.1. Общая характеристика группы

На I этапе была проведена оценка безопасности однократной комбинированной ингаляции iNO/iH₂. С этой целью в исследовании приняли участие 10 здоровых добровольцев. Общая характеристика группы представлена в Таблице 2.

Таблица 2 – Общая характеристика группы здоровых добровольцев (n=10)

Общая характеристика	Показатель
Пол, n (%)	
мужчины	4 (40)
женщины	6 (60)
Возраст, лет, M ± SD	24 ± 1,33
ИМТ, кг/ м ² , Me [Q1; Q3]	23,35 [19,7; 25,0]

На данном этапе прошли обследование и получили однократную ингаляцию 4 мужчин и 6 женщин, которые соответствовали критериям включения и не имели критерии невключения. Средний возраст участников наблюдения составил 24 ± 1,33 лет. ИМТ соответствовал нормальным показателям.

3.1.2. Влияние на витальные показатели у здоровых добровольцев

На протяжении всего исследования проводился мониторинг основных витальных показателей (ЧСС, ЧДД, АД, параметры пульсоксиметрии) на фоне однократной ингаляции iNO/iH₂ у здоровых добровольцев.

Динамика данных параметров представлена в Таблице 3.

Таблица 3 – Витальные показатели в динамике на фоне однократной ингаляции у здоровых добровольцев (n=10), $p>0,05$

Показатель	До	После
ЧСС, уд/мин, Me [Q1; Q3]	68,5 [64,75; 70,50]	65,0 [63,50; 70,50]
ЧДД, уд/мин, Me [Q1; Q3]	14,0 [12,0; 14,0]	14,0 [12,0; 14,0]
САД, мм рт.ст., Me [Q1; Q3]	115,0 [110,0; 120,0]	112,5 [110,0; 120,0]
ДАД, мм рт.ст., $M \pm SD$	70,0 [67,5; 80,0]	70,0 [67,5; 80,0]
SpO ₂ , %, $M \pm SD$	98,0 [97,0; 98,0]	98,0 [97,8; 98,3]

Исходно у всех участников наблюдения оцениваемые величины были в пределах нормальных значений.

Комбинированная ингаляция в дозе iNO 60 ppm и концентрации iN₂, не превышающей 4% в газовой смеси (скорость потока 4 л/мин) в течение 90 минут не привела к статистически значимым изменениям параметров ЧСС, ЧДД и значений пульсоксиметрии после её окончания ($p>0,05$). На фоне ингаляции мы не наблюдали снижения АД, что подтверждает отсутствие системного гипотензивного эффекта на фоне введения экзогенного NO [5, 6].

Во время проведения процедуры также не отмечены эпизоды снижения SpO₂, а также значимые колебания витальных показателей.

3.1.3. Влияние на газовый состав крови у здоровых добровольцев

С целью оценки безопасности мы проанализировали влияние однократной комбинированной ингаляции оксида азота и молекулярного водорода на основные показатели газового состава артериальной крови. Результаты исследования представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Показатели газового состава артериальной крови в динамике у здоровых добровольцев (n=10), Me [Q1; Q3], p>0,05

Показатель	До	После
PaO ₂ , мм рт.ст.	101,5 [95,8; 112,0]	101,0 [97,0; 110,5]
PaCO ₂ , мм рт.ст.	40,0 [37,25; 42,0]	38,0 [32,0; 42,0]
SaO ₂ , %	98,0 [97,0; 99,0]	98,0 [98,0; 99,25]

У всех 10 добровольцев до начала исследования не было отмечено признаков дыхательной недостаточности и изменений кислотно-щелочного равновесия. После проведения однократной ингаляции оксидом азота и молекулярным водородом ни у одного из участников не зафиксировано статистически значимой динамики исследуемых параметров (p>0,05).

3.1.4. Исследование влияния на параметры микроциркуляции

В ходе исследования развития возможных изменений со стороны микроциркуляции мы оценивали диаметр сосудов в артериолярном (АО) и веноулярном (ВО) отделах, а также величину объемной скорости в артериолах и венолах (Таблица 5).

Таблица 5 – Показатели микроциркуляции на фоне однократной ингаляции у здоровых добровольцев (n=10), Me [Q1; Q3]

Показатель	До	После	p
Диаметр АО, мкм	7,0 [6,0; 9,25]	8,5 [7,0; 14,0]	p=0,042
Диаметр ВО, мкм	17,0 [13,75; 21,25]	19,5 [14,75; 21,5]	p=0,722
Объемная скорость АО, мкм ³ /с	14422,0 [11510,0; 34648,3]	64295,0 [24832,5; 167561,3]	p=0,005
Объемная скорость ВО, мкм ³ /с	103742,0 [52405,3; 238695,8]	164416,5 [110393,3; 269883,8]	p=0,005

На фоне ингаляции зафиксирован статистически значимый положительный эффект на скоростные показатели ($p < 0,05$). Отмечено также увеличение среднего показателя диаметра артериол ($p < 0,05$), но не венул ($p > 0,05$). Таким образом, уже после однократной ингаляции iNO/iN₂ в течение 90 минут был определен ее положительный эффект на параметры микроциркуляции.

3.1.5. Динамика параметров гемодинамики у здоровых добровольцев

Мы оценили изменения основных параметров гемодинамики с помощью эхокардиографического исследования. Результаты представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Параметры гемодинамики в динамике на фоне однократной ингаляции у здоровых добровольцев ($n=10$), Me [Q1; Q3], $p > 0,05$

Показатель	До	После
ФВ, %	60,5 [58,75; 66,5]	63,0 [59,5; 65,0]
TAPSE, мм	24,0 [21,75; 25,25]	24,5 [23,75; 25,25]
СДЛА, мм рт.ст.	24,5 [20,0; 26,0]	24,0 [22,0; 27,0]
ЛЖ, мм	43,5 [41,0; 47,3]	44,0 [41,5; 47,3]
ПЖ, мм	31,0 [28,75; 34,0]	30,5 [28,0; 34,75]

После проведения ингаляции основные параметры не изменились ($p > 0,05$). СДЛА на протяжении процедуры сохранялось в пределах нормальных значений и составило в среднем 24 мм.рт.ст.

3.1.6. Влияния на функциональные легочные показатели у здоровых добровольцев

Всем участникам исследования до и после однократной ингаляции проводилась оценка основных функциональных показателей респираторной системы путем проведения спирометрии, а также оценена DLCO (Таблица 7).

Таблица 7 – Показатели функциональных легочных объемов у здоровых добровольцев (n=10), Me [Q1; Q3], p>0,05

Показатель	До	После
ФЖЕЛ, % должн.	90,5 [84,25; 103,25]	91,5 [84,75;124,20]
ОФВ1, % должн.	94,0 [85,25; 101,5]	94,5 [84,0; 101,25]
DLCO, % должн.	110,5 [100,5; 119,5]	102,5 [99,0; 115,8]
VA, % должн.	95,5 [90,5; 109,3]	97,5 [85,0; 106,3]

Относительные величины ОФВ1, ФЖЕЛ, DLCO не претерпели значимых изменений после проведения процедуры и сохранились в пределах нормальных значений (p>0,05). По показателю ОФВ1/ФЖЕЛ обструктивных нарушений не выявлено. Таким образом, в ходе исследования не было отмечено негативного влияния однократной комбинированной ингаляции iNO/iH₂ на функциональные показатели респираторной системы и диффузионную способность легких.

3.1.7. Оценка клинической безопасности

В нашем исследовании был проведен мониторинг уровня метгемоглобина крови после введения iNO в концентрации 60 ppm в течение 90 минут. После окончания ингаляции у всех участников наблюдения уровень MetHb крови сохранился в пределах нормальных значений и средний его показатель в группе составил $0,59 \pm 0,11$ % (Референсные значения: 0 - 1,5%).

Во время ингаляций контролировалось возможное появление нежелательных клинических эффектов. Ни один из здоровых добровольцев не отметил изменений в общем самочувствии.

3.2. Проспективное открытое контролируемое исследование в параллельных группах у пациентов с бронхолегочными проявлениями ПКС

3.2.1. Общая характеристика групп

В исследование было включено 60 пациентов с бронхолегочными проявлениями ПКС (18 мужчин / 42 женщины), средний возраст которых составил $58,1 \pm 12,9$ лет, соответствующих критериям включения и не имеющих критериев невключения. Среди сопутствующих заболеваний в стадии компенсации, не связанных с ПКС, у исследуемых пациентов чаще всего наблюдались признаки гипертонической болезни – 28 (46,7%), ИБС – 16 (26,7%), сахарный диабет – 5 (8,3%), нарушения проводимости – 11 (18,3%). Клиническая характеристика группы представлена в Таблице 8.

Таблица 8 – Клиническая характеристика групп пациентов с ПКС (n=60)

Характеристики	Группа iNO/i H ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
Пол, n (%)			
мужчины	8 (40)	6 (30)	4 (20)
женщины	12 (60)	14 (70)	16 (80)
Возраст, лет, M ± SD	60,1±10,7	58,4±12,9	55,2±14,9
ИМТ, кг/м ² , Me [Q1; Q3]	32,95 [29,05;35,08]*#	28,20 [25,55;33,05]	28,10 [25,63;31,45]
Длительность ПКС, дни, M ± SD	624,6 ± 243,4#	794,1 ± 257,8	767,4 ± 265,3

Примечание: *p<0,05 - статистическая значимость различий в сравнении с контрольной группой,

p<0,05 - статистическая значимость различий в сравнении с группой iNO

Исследование проведено в среднем спустя 2 года ($728,7 \pm 262,3$ дней) от выявления положительного ПЦР теста на SARS-CoV-2. Не было определено статистически значимой разницы между группами по возрасту пациентов, степени тяжести перенесенного заболевания, а также по длительности сохраняющихся симптомов ($p > 0,05$). Однако пациенты отличались по показателю ИМТ. Отмечено, что в выборке комбинированной терапии медиана ИМТ превышала данный показатель в группах терапии iNO и контроля ($p < 0,05$).

В исследовании приняли участие пациенты, перенесшие COVID-19 в период с 2020 по 2023 года. В Таблице 9 представлен анализ выявления COVID-19 по годам.

Таблица 9 –Выявляемость COVID-19 по годам у пациентов с ПКС (n=60), n (%)

Годы	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
2020	2 (10,0)#	4 (20,0)	3 (15,0)
2021	15 (75,0)*#	9 (45,0)	11 (55,0)
2022	3 (15,0)*#	6 (30,0)	6 (30,0)
2023	0 (0,0)	1 (5,0)	0 (0,0)

Примечание: * $p < 0,05$ - статистическая значимость различий в сравнении с контрольной группой,
$p < 0,05$ - статистическая значимость различий в сравнении с группой iNO

При анализе анамнеза заболевания было выявлено, что более половины всех участников (58,2%) перенесли COVID-19 в 2021 году и 25% пациентов – в 2022 году. По данным ВОЗ, в данный период пандемии отмечена высокая циркуляция штаммов SARS-CoV-2 «Дельта» и «Омикрон» [111].

Также нами проведен анализ степени тяжести перенесенного COVID-19 по результатам изменений на КТ.

Таблица 10 – Степень тяжести COVID-19 у пациентов с ПКС по данным КТ (n=60), n (%)

Степень тяжести COVID-19 по КТ	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
0	0 (0,0) *#	1 (5,0)	2 (10,0)
1	3 (15,0) #	1 (5,0)	2 (10,0)
2	6 (30,0) *	7 (35,0)	9 (45,0)
3	3 (15,0)	4 (20,0)	4 (20,0)
4	8 (40,0) *	7 (35,0)	3 (15,0)

Примечание: * $p < 0,05$ - статистическая значимость различий в сравнении с контрольной группой,
$p < 0,05$ - статистическая значимость различий в сравнении с группой iNO

В большинстве случаев во время острого периода заболевания пациенты нуждались в проведении респираторной поддержки (68,3%), а также назначении системных глюкокортикостероидов (83,3%) и проведении иммунобиологической терапии (50%). Основной контингент пациентов перенесли среднетяжелую (46,7%) и тяжелую степень (43,3%) COVID-19 (Рисунок 9).

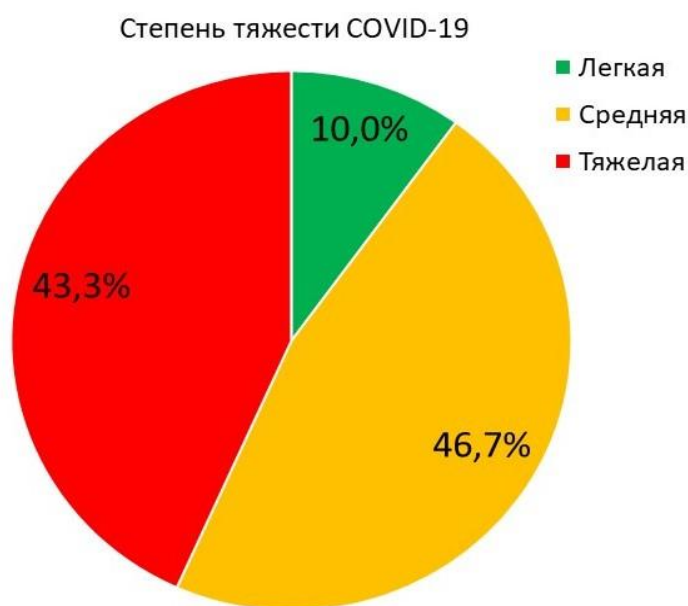


Рисунок 9 – Степень тяжести COVID-19

Среди всех участников исследования чаще всего выявлялись жалобы на одышку (98,3%), кашель (76,7%), утомляемость (88,3%), учащенное сердцебиение (58,3%), чувство тревоги (46,7%), нарушение сна (40%), головокружение (38,3%), суставную боль (38,3%) и нарушение обоняния (20%) (Таблица 11).

Таблица 11 – Основные клинические проявления у пациентов с ПКС (n=60), n (%)

Жалобы	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
Одышка	20 (100,0)	19 (95,0)	20 (100,0)
Кашель	17 (85,0)	17 (85,0)	12 (60,0)
Изменение обоняния	4 (20,0)	4 (20,0)	4 (20,0)
Чувство тревоги	11 (55,0)	9 (45,0)	8 (40,0)
Нарушение сна	9 (45,0)	9 (45,0)	6 (30,0)
Утомляемость	18 (90,0)	18 (90,0)	17 (85,0)
Головокружение	10 (50,0)	8 (40,0)	5 (25,0)
Сердцебиение	13 (65,0)	12 (60,0)	10 (50,0)
Суставная боль	9 (45,0)	7 (35,0)	7 (35,0)

При анализе опросника «Язык одышки» чаще всего пациенты давали характеристику своему состоянию как «Мое дыхание поверхностное» (n=17 (28,3%)), «Я чувствую, что мне не хватает воздуха» (n=11 (18,3%)), «Я не могу сделать глубокий вдох» (n=7 (11,7%)), «Я чувствую, что нуждаюсь в еще большем дыхании» (n=4 (6,7%)), а также «Я чувствую своё частое дыхание» (n=4 (6,7%)).

При изучении клинической характеристики пациентов обнаружено, что большинство показателей не коррелировали со степенью тяжести перенесенного COVID-19. В ходе проведения корреляционного анализа выявлена слабая положительная связь между тяжестью заболевания и одышкой ($r = 0,273$, $p < 0,05$), утомляемостью ($r = 0,293$, $p < 0,05$), нарушением сна ($r = 0,304$, $p < 0,05$), а также слабая отрицательная связь между степенью тяжести COVID-19 и физическим компонентом качества жизни по SF-36 ($r = -0,277$, $p < 0,05$) и показателем DLCO ($r = -0,436$, $p = 0,001$).

Кроме того, у всех пациентов проводился мониторинг концентрации газов в выдыхаемом воздухе, а именно FeNO, H₂, CO. Результаты анализа представлены в Таблице 12.

Таблица 12 – Концентрация газов в выдыхаемом воздухе у пациентов с ПКС исходно, Me [Q1; Q3], (n=60), p>0,05

Концентрация газов в выдыхаемом воздухе	Группа iNO/i H ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
FeNO, ppb	10,0 [7,0; 16,0]	10,5 [7,0; 15,6]	9,0 [7,0; 14,0]
H ₂ , ppm	1,0 [0,0; 2,0]	1,0 [0,0; 2,0]	1,0 [0,0; 2,0]
CO, ppm	3,0 [2,0; 4,0]	3,0 [2,0; 4,0]	3,0 [2,0; 4,0]

У всех пациентов с ПКС данные показатели исходно были в пределах нормальных значений и не имели статистически значимых различий между группами (p>0,05).

3.2.2. Определение кластеров постковидного синдрома

Согласно поставленным задачам, был проведен кластерный анализ. При выполнении исследования учитывались все исходные данные пациентов с постковидным синдромом, однако каждый из показателей имел различный вес в процессе формирования кластеров. С помощью оценки разницы центроидов проведен анализ важности каждого из выбранных признаков. Признаки, которые в большей степени имели отличия и повлияли на распределение по кластерам стали: степень тяжести COVID-19, данные КТ, показатели ФВД (ОФВ1, ФЖЕЛ, ОФВ1/ФЖЕЛ), DLCO, выраженность одышки, физический компонент качества жизни по SF-36, пройденная дистанция по данным теста 6-минутной ходьбы, ИМТ, пол (разница центроидов>1). Результаты важности признаков по разнице центроидов представлена в Таблице 13.

Таблица 13 – Важность признаков по разнице центроидов

Признак	Разница в центроидах
DLCO	1.916627
Изменения на КТ	1.812899
ФЖЕЛ	1.748727
Выраженность одышки по ВАШ	1.724879
ОФВ1	1.602579
Выраженность одышки по mMRC	1.600020
Физический компонент качества жизни по SF-36	1.527580
Степень тяжести COVID-19	1.526035
Пройденная дистанция по тесту 6-минутной ходьбы	1.458583
Пол	1.086366
ИМТ	1.054934

Показатели окислительного повреждения и степень микроциркуляторных нарушений не вносили существенный вклад в определение кластеров, поскольку исходно были изменены у всех пациентов. Таким образом, нам удалось выделить 3 кластера ПКС (Рисунок 10).

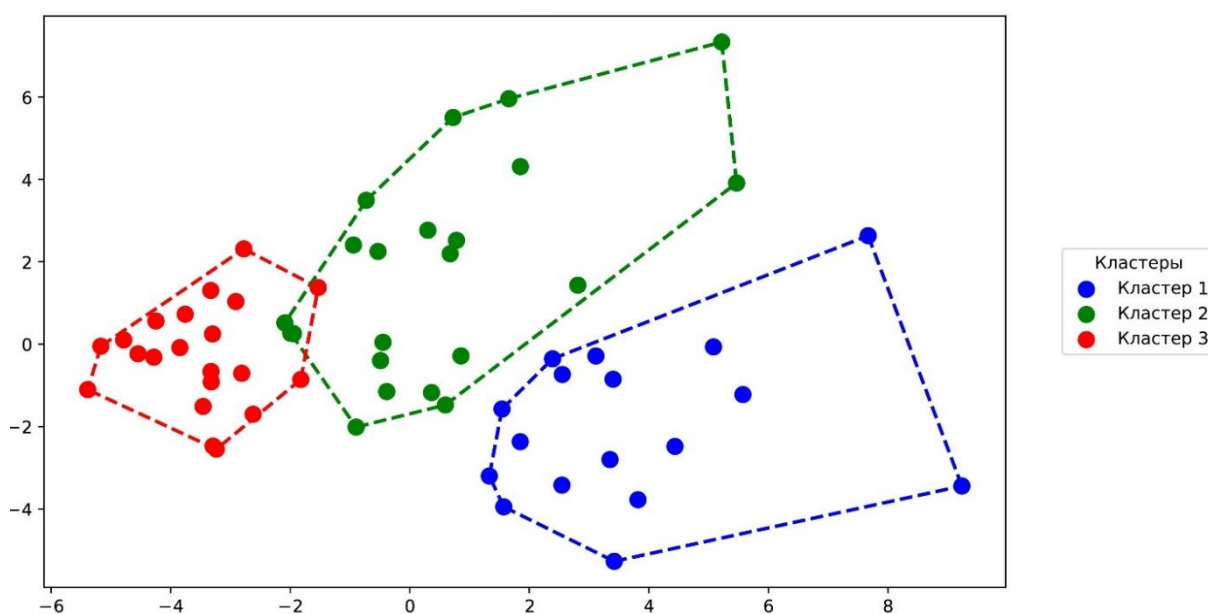


Рисунок 10 – Кластеры ПКС.

Подробная характеристика кластеров представлено в Таблице 14.

Таблица 14 – Характеристика кластеров ПКС

Признак	Кластер 1 (n=17)	Кластер 2 (n=22)	Кластер 3 (n=21)
Возраст, лет, Ме [Q1; Q3]	65,0 [56,0; 70,0]*	56,5 [46,0; 69,0]	56,00 [45,0; 61,0]
ИМТ, кг/м ² , Ме [Q1; Q3]	33,2 [30,1; 34,8]*	29,2 [26,1; 33,6]	28,3 [25,7; 31,0]
Одышка, баллы ВАШ, Ме [Q1; Q3]	6,00 [5,0; 8,0]*#	4,0 [3,0; 5,0] ^{\$}	2,00 [2,0; 3,0]
Одышка, баллы mMRC, Ме [Q1; Q3]	2,0 [2,0; 3,0] *#	1,5 [1,0; 2,0] ^{\$}	1,0 [1,0; 1,0]
SF36 (физический компонент), баллы, Ме [Q1; Q3]	31,3 [29,9; 34,0]*#	40,5 [32,2; 42,9] ^{\$}	44,0 [39,4; 46,3]
Дистанция, м, М ± SD	380,9 ± 85,3*#	463,1 ± 62,2	495,1 ± 46,3
ОФВ1, %, Ме [Q1; Q3]	67,0 [56,0; 76,0]*#	101,5 [93,3; 115,0]	102,0 [90,0; 111,0]
ФЖЕЛ, %, Ме [Q1; Q3]	64,0 [58,0; 70,0]*#	97,5 [89,0; 111,0]	102,0 [94,0; 115,0]
DLCO, %, Ме [Q1; Q3]	58,0 [46,0; 71,0]*#	86,0 [81,5; 87,0] ^{\$}	94,0 [90,0; 109,0]

Примечание: * p<0,05 - статистическая значимость различий Кластеров 1-3,

p<0,05 - статистическая значимость различий Кластеров 1-2,

\$ p<0,05 - статистическая значимость различий Кластеров 2-3

В первый кластер вошли пациенты, перенесшие тяжелое и среднетяжелое течение COVID-19, с сохраняющимися изменениями на КТ в виде ретикулярных изменений и феномена «матового стекла», более выраженной одышкой по ВАШ и mMRC, сниженными показателями пройденной дистанции, ФВД и DLCO в

сравнении с другими кластерами ($p < 0,05$). Физический компонент качества жизни, определяемый с помощью шкалы SF36, также оказался самым низким у пациентов этого фенотипа ($p < 0,05$). Почти все пациенты получали респираторную поддержку в острый период COVID-19 (16 из 17). При оценке терапии, получаемой на момент включения в исследование, было отмечено, что ингаляционные бронходилататоры чаще применялись в Кластере 1 (17 из 17), чем в Кластере 2 (17 из 22) ($p < 0,001$) и 3 (4 из 21) ($p < 0,001$). Ингаляционные ГКС получали все пациенты из данного кластера.

Пациенты второго кластера ПКС так же как и пациенты из первого перенесли тяжелое и среднетяжелое течение COVID-19, однако выраженность нарушений по данным КТ значительно меньше ($p < 0,001$) и представлена преимущественно субплевральными ретикулярными изменениями. Кроме того, одышка по ВАШ и mMRC менее выражена в сравнении с первым кластером ($p < 0,05$), но сильнее, чем в третьем кластере ($p < 0,05$). Отмечены нормальные показатели ФВД и DLCO. Физический компонент качества жизни и толерантность к физическим нагрузкам лучше, чем у пациентов первого кластера ($p < 0,05$). Большинство пациентов получали респираторную поддержку (20 из 22), 6 человек принимали ингаляционные ГКС на момент включения в исследование.

Третий кластер представлен пациентами, перенесшими легкое течение COVID-19. По данным КТ сохраняются минимальные ретикулярные изменения или же вовсе отсутствуют нарушения. Одышка по ВАШ и mMRC наименьшая в сравнении с другими кластерами ($p < 0,05$). Отмечены наилучшие показатели физического компонента качества жизни по шкале SF36 ($p < 0,05$). Данные ФВД и DLCO в пределах нормальных значений. В большинстве случаев респираторная поддержка не применялась (5/21). Ингаляционные ГКС использовали только 2 пациента.

3.2.3 Оценка клинической эффективности ингаляционной терапии

Влияние ингаляционной терапии на основные клинические показатели

Для оценки эффективности ингаляционной терапии был применен дневник самонаблюдения, который включал в себя перечень основных жалоб пациентов с ПКС. Степень выраженности клинических проявлений оценивалась при помощи визуальной аналоговой шкалы от 0 до 10 баллов. Мы анализировали динамику клинических проявлений по разнице баллов в конце исследования в сравнении с исходными данными. Основные результаты дневника самонаблюдения представлены в Таблице 15.

Таблица 15 – Разница показателей дневника самонаблюдения после курса терапии в сравнении с исходными данными у пациентов с ПКС, (n=60), Me [Q1; Q3]

Параметр	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
Одышка, баллы	-2,5 [-3,0; -1,3]*#	-1,5 [-2,8; -1,0]*#	0,0 [0,0;0,0]
Кашель, баллы	-2,0 [-3,0; -1,0]*#	-1,0 [-2,0;-0,3]*#	0,0 [0,0;0,8]
Утомляемость, баллы	-2,0 [-2,8; -0,3]*#	-2,0 [-2,0; -1,0]*#	0,0 [-1,00; 0,0]
Сердцебиение, баллы	0,5 [-2,8; 0,0]*#	0,0 [-2,0; 0,0]*#	0,0 [0,0; 1,0]
Тревога, баллы	-0,5 [-2,0; 0,0]	0,0 [-1,0; 0,0]	0,0 [-0,8;0,0]
Сон, баллы	0,0 [-1,0;0,0]	0,0 [-1,0; 0,0]	0,0 [0,0;0,0]
Головокружение, баллы	0,0 [-1,0; 0,0]*	0,0 [-1,75; 0,0]*#	0,0 [0,0;0,0]
Изменение обоняния, баллы	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,0]
Суставная боль, баллы	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0;0,0]

Примечание: * $p < 0,05$ - статистическая значимость различий от исходных величин,

$p < 0,05$ - статистическая значимость различий в сравнении с контрольной группой

В группах ингаляционной терапии значимо снизилась тяжесть проявления одышки, кашля, утомляемости, сердцебиения, головокружения в сравнении с исходными показателями и группой контроля ($p < 0,05$). Несмотря на более

выраженную динамику показателей в группе комбинированной терапии, статистически значимых различий с группой iNO выявлено не было ($p>0,05$) (Таблица 16).

Таблица 16 – Разница показателей шкал и опросников после и до начала исследования у пациентов с ПКС, (n=60), Me [Q1; Q3]

Параметр	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
mMRC, баллы	-1,0 [-1,0;0,0] *#	0,0 [0,0; 0,0]*	0,0 [0,0;0,0]
SF-36 (физический компонент здоровья), баллы	1,7 [0,1;3,1]*#	0,7[0,0; 2,4]*#	0,0 [-0,2; 0,00]
SF-36 (психологический компонент), баллы	1,6 [0,0;3,7] *#	0,0 [0,0; 2,9] *	0,0 [0,0; 0,00]
Шкала оценки усталости (FAS), баллы	-2,0 [-3,0;0,0] *#	-2,0[-3,0; 0,0] *#	0,0 [0,0;0,0]
Тревога по шкале HADS, баллы	-1,0 [-2,0; 0,0] *#	0,0 [-2,8; 0,0]*	0,0 [0,0;0,0]
Депрессия по шкале HADS, баллы	0,0 [-2,0; 0,0]*	0,0 [-1,0; 0,0]*	0,0 [0,0;0,0]

Примечание: * $p<0,05$ - статистическая значимость различий от исходных величин,

$p<0,05$ - статистическая значимость различий в сравнении с контрольной группой

На фоне ингаляций произошло статистически значимое снижение баллов при анализе шкал mMRC, SF-36, FAS и HADS в сравнении с исходными показателями в обеих группах ингаляционной терапии ($p<0,05$). Статистически значимая разница отмечена на фоне iNO/iH₂ по mMRC, SF-36, FAS и компоненту тревоги HADS в сравнении с контрольной группой, а в группе iNO только по шкале FAS и физическому компоненту SF-36 ($p<0,05$). Различий по разнице баллов между группами ингаляционной терапии выявлено не было ($p>0,05$).

Исследование влияния ингаляционной терапии на толерантность к физической нагрузке

Для оценки влияния ингаляционной терапии на толерантность к физическим нагрузкам были оценены параметры, полученные в ходе проведения теста 6-минутной ходьбы. Основные результаты представлены в Таблице 17.

Таблица 17 – Разница показателей по результатам теста 6-минутной ходьбы после и до начала исследования у пациентов с ПКС, (n=60)

Параметр	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
Исходная дистанция, м, M ± SD	467,1 ± 57,9	444,8 ± 85,6	441,3 ± 87,9
Прирост дистанции, м, M ± SD	44,7 ± 41,5*#§	-7,8 ± -8,1	7,9 ± 32,1
SpO ₂ Min, %, Me [Q1; Q3]	0,5 [-1,0; 1,8]	1,5 [-1,8; 2,8]	0,0 [0,0; 0,0]
SpO ₂ Med, %, Me [Q1; Q3]	1,0 [-1,0; 2,0]	0,0 [-0,8; 2,0]	0,0 [-0,8; 0,0]
ЧСС max, уд/мин, M ± SD	-0,3 ± 7,1	-0,7 ± 12,3	1,8 ± 4,9

Примечание: * p<0,05 - достоверность различий от исходных величин,

p<0,05 - достоверность различий в сравнении с контрольной группой,

§ p<0,05 - достоверность различий в сравнении с группой iNO

В ходе проведения теста 6-минутной ходьбы отмечено статистически значимое увеличение пройденной дистанции у пациентов, получавших курс комбинированных ингаляций iNO/iH₂, в сравнении с исходными показателями, а также контрольной группой и группой iNO (p<0,05). В группе iNO пройденная дистанция не изменилась в сравнении с исходными величинами и группой контроля (p>0,05). Показатели минимальной и средней SpO₂, а также ЧСС во время теста значительно не изменились ни в одной из групп.

3.2.4. Результаты лабораторных исследований

Влияние ингаляционной терапии на газовый состав крови

Нами проведен анализ газового состава артериальной крови. Основные параметры данного исследования представлены в Таблице 18.

Таблица 18 – Показателей газового состава артериальной крови в динамике у пациентов с ПКС, (n=60), Me [Q1; Q3]

Показатель	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
PaO ₂ исходный, мм рт.ст.	86,5 [79,8; 90,8]	88,5 [84,0; 92,8]	88,5 [86,0; 92,6]
PaO ₂ по окончании исследования, мм рт.ст.	89,5 [83,8;95,3]*#	88,0 [80,5; 90,8]	88,1 [87,0; 90,0]
PaCO ₂ исходный, мм рт.ст.	40,5 [38,0; 42,0]	38,0 [37,0; 40,0]	38,3 [37,1; 41,0]
PaCO ₂ по окончании исследования, мм рт.ст.	39,5 [38,0; 41,5]	39,5 [37,0; 40,8]	38,0 [37,0; 40,8]
SO ₂ исходный, %	96,5 [94,6; 97,0]	96,5 [95,3; 97,0]	96,5 [96,0; 97,0]
SO ₂ по окончании исследования, %	97,0 [95,3;98,0]	96,5 [96,0; 97,0]	97,0 [96,0; 97,1]

Примечание: *p<0,05 - достоверность различий от исходных величин,

p<0,05 - достоверность различий в сравнении с контрольной группой,

\$ p<0,05 - достоверность различий в сравнении с группой iNO

Исходные параметры в группах наблюдения статистически не были различимы (p>0,05). Статистически значимая положительная динамика наблюдалась в группе iNO/iH₂ в виде увеличения парциального давления кислорода в артериальной крови (PaO₂) и показателя SO₂ в сравнении с

исходными показателями, а также группами контроля и iNO. Остальные параметры значимо не изменились.

Исследование показателей окислительного стресса и антиоксидантной защиты

Одним из основных этапов исследования стала анализ параметров окислительно-восстановительного статуса, определяемый в сыворотке венозной крови, у пациентов с ПКС. Динамика показателей окислительного стресса представлена в Таблице 19.

Таблица 19 –Показателей окислительного стресса в динамике у пациентов с ПКС, (n=60), Me [Q1; Q3]

Показатель	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
FORT исходный, Ед FORT	595,0 [555,0; 600,0]	600,0 [524,0; 600,0]	600,0 [516,5; 600,0]
FORT по окончанию исследования, Ед FORT	409,0 [346,5; 493,0]**#\$	591,0 [449,3; 600,0]	597,5 [507,5; 600,0]

Примечание: ** p<0,001 - достоверность различий от исходных величин;

p<0,05 - достоверность различий в сравнении с контрольной группой,

\$ p<0,05 - достоверность различий в сравнении с группой iNO

У всех пациентов зафиксирован исходно высокий уровень ОС. Среди участников из группы iNO/iH₂ у 7 (35%) данный показатель превышал границы допустимого определения прибором (<600 Ед FORT). В группе iNO подобная картина наблюдалась у 11 пациентов (55%), а в группе контроля – у 9 (45%). При этом в большинстве наблюдений повышение уровня ОС сочеталось с повышением показателей АОЗ. На фоне проводимой терапии статистически значимая положительная динамика в виде уменьшения параметров ОС

наблюдалась только в группе комбинированной терапии в сравнении с исходными величинами и группами контроля и iNO ($p<0,05$).

Несмотря на то, что произошло снижение показателей по данным теста FORT на фоне комбинированной ингаляционной терапии, все-таки он не достиг пределов референсных значений (до 310 Ед FORT) (Рисунок 11).

Суррогатный показатель окислительного повреждения

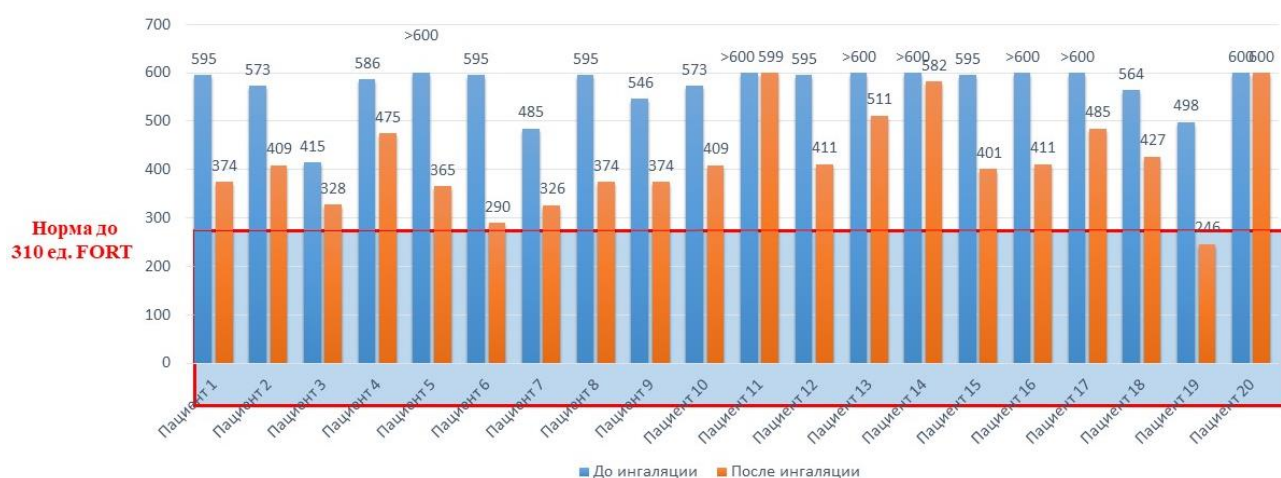


Рисунок 11 – Динамика теста FORT в группе iNO/iH₂

Кроме того, мы также оценили показатели АОЗ (Таблица 20).

Таблица 20 – Показатели АОЗ в динамике у пациентов с ПКС, (n=60), Ме [Q1; Q3]

Показатель	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
FORD исходный, ммоль/л эквивалентов тролокса	1,7 [1,5; 1,8]	1,6 [1,3; 1,7]	1,5 [1,4; 1,7]
FORD по окончанию исследования, ммоль/л эквивалентов тролокса	1,4 [1,3; 1,6]*#	1,5 [1,3; 1,6]	1,5 [1,4; 1,8]

Примечание: * $p<0,05$ - достоверность различий от исходных величин;

$p<0,05$ - достоверность различий в сравнении с контрольной группой

В группе iNO не было отмечено достоверных изменений параметров антиоксидантной защиты ($p>0,05$). В группе комбинированной терапии iNO/iH₂ мы наблюдали нормализацию значений данных показателей (1,07 - 1,53 ммоль/л эквивалентов тролокса). Динамика показателя антиоксидантной защиты (FORD) у пациентов из группы iNO/iH₂ изображена на Рисунке 12.

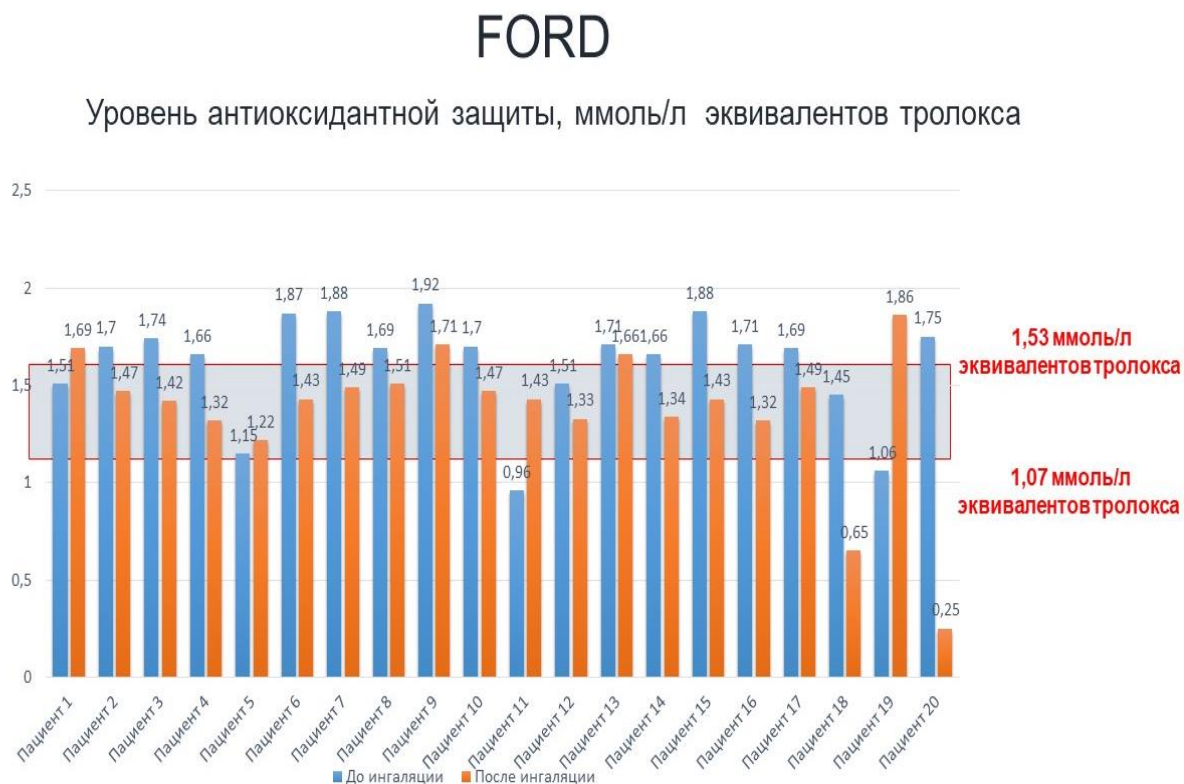


Рисунок 12 – Динамика теста FORD в группе iNO/iH₂

3.2.5 Оценка динамики параметров микроциркуляции

Всем участникам исследования исходно и по окончании курса терапии проводился мониторинг микроциркуляторных показателей при помощи методики видеокапилляроскопии бульбарной конъюнктивы глаза. Нами оценены скоростные и объемные показатели микроциркуляции в артериолах и венулах. Результаты анализа динамики параметров микроциркуляции представлены в Таблице 21.

Таблица 21 – Показатели микроциркуляции в динамике у пациентов с ПКС, (n=60), Me [Q1; Q3]

Показатель	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
Объемная скорость кровотока в артериолах исходная, мкм ³ /с	39053,0 [20803,8; 56139,0]	31005,5 [16754,5; 52985,8]	31085,0 [16829,0; 66823,8]
Объемная скорость кровотока в артериолах в конце исследования, мкм ³ /с	42618,0 [29867,8; 67631,8]	44204,5 [17757,0; 85448,8]	32434,0 [18103,8; 48239,5]
Объемная скорость кровотока в венах исходная, мкм ³ /с	92618,5 [72993,5; 167749,5]	115653,5 [77492,8; 166955,5]	125376,0 [84639,5; 149019,5]
Объемная скорость кровотока в венах в конце исследования, мкм ³ /с	198883,0 [157822,5; 257694,0]**#	207616,5 [147127,5; 252480,3]**#	122906,0 [74746,5; 195596,5]
Диаметр артериол исходный, мкм	9,0 [7,0; 13,0]	11,0 [9,0; 12,0]	9,0 [7,0; 12,0]
Диаметр артериол в конце исследования, мкм	9,5 [8,0; 11,8]	10,5 [7,3; 12,8]	9,0 [8,0; 10,8]
Диаметр венул исходный, мкм	17,0 [15,0; 19,5]	18,0 [15,3; 19,0]	18,5 [17,0; 19,8]
Диаметр венул в конце исследования, мкм	19,0 [18,0; 21,0]*	18,0 [11,5; 19,0]*	18,0 [15,0; 19,8]

Примечание: * p<0,05 – статистическая значимость различий от исходных величин,

** p<0,001 - достоверность различий от исходных величин,

p<0,05 – достоверность различий в сравнении с контрольной группой

В сравнении с исходными данными и группой контроля отмечено статистически значимое увеличение диаметра и скоростных показателей венул (p<0,05) как в группе iNO/iH₂, так и в группе iNO. Статистически значимых различий между группами ингаляционной терапии по данным показателям выявлено не было (p>0,05).

3.2.6. Влияние ингаляционной терапии на параметры гемодинамики

Мониторинг параметров гемодинамики проведен всем пациентам до и после курса ингаляционной терапии при помощи метода ЭХО-КГ. Результаты исследования представлены в Таблице 22.

Таблица 22 – Параметры гемодинамики у пациентов с ПКС, (n=60), Me [Q1; Q3]

Показатель	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
ФВ исходный, %	61,0 [56,3; 65,8]	62,5 [60,3; 66,0]	61,0 [59,0; 64,0]
ФВ по окончании исследования, %	60,5 [57,8; 66,8]	60,5 [59,0; 64,0]	62,0 [60,0; 66,0]
СДЛА исходный, мм рт.ст.	30,0 [28,0; 35,0]	29,0 [25,3; 31,8]	28,0 [24,0; 30,0]
СДЛА по окончании исследования, мм рт.ст.	30,0 [26,0; 30,0]	28,0 [25,0; 30,0]	28,0 [25,0; 30,0]
TAPSE исходно, мм	25,0 [23,0; 25,0]	24,0 [22,3; 25,0]	23,0 [22,0; 26,0]
TAPSE по окончании исследования, мм	25,0 [24,0; 25,0]	25,0 [23,0; 25,0]	23,0 [22,0; 26,0]

Исходно у всех пациентов показатели ФВ, размеры камер сердца, СДЛА были в норме. Статистически значимых различий между группами не было ($p>0,05$). Ни в одной из групп не было отмечено статистически значимых изменений параметров гемодинамики в конце курса терапии ($p>0,05$).

3.2.7. Динамика функциональных показателей респираторной системы

Анализ динамики функциональных показателей респираторной системы проводилась всем участникам исследования в начале и конце курса терапии по результатам спирометрии и диффузионной способности легких. Основные результаты исследования представлены в Таблице 23.

Таблица 23 – Показателей функции легких в динамике у пациентов с ПКС, (n=60),
Me [Q1; Q3]

Показатель	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
ОФВ1 исходно, % должн.	83,0 [68,8; 107,8]	97,0 [71,3; 109,0]	101,0 [90,5; 114,3]
ОФВ1 по окончанию исследования, % должн.	102,0 [72,3; 114,3]#*	97,5 [80,3; 105,0]	101,5 [87,3; 115,0]
ФЖЕЛ исходный, % должн.	82,5 [62,5; 100,3]#	97,0 [69,8; 108,8]	99,0 [86,8; 116,5]
ФЖЕЛ по окончанию исследования, % должн.	98,0 [70,3; 112,0]*	97,5 [82,3; 101,8]	101,5 [85,8; 110,8]
DLCO исходно, %	86,0 [59,3; 99,8]	84,0 [84,0; 89,3]#	87,0 [82,8; 106,0]
DLCO по окончанию исследования, %	82,5 [60,4; 101,5]	86,0 [65,8; 93,3]	87,5 [84,3; 103,8]

Примечание: * $p < 0,05$ - достоверность различий от исходных величин,

$p < 0,05$ – достоверность различий в сравнении с контрольной группой

Статистически значимых различий в показателях функции легких, включающих функцию внешнего дыхания и диффузионную способность легких, между группами не наблюдалось. Среди пациентов из группы iNO/iH₂ исходно у 5 (25%) отмечено снижение DLCO, в группе iNO – у 4 (20%). На фоне комбинированной ингаляционной терапии произошло статистически значимое увеличение показателей ОФВ1 и ФЖЕЛ после терапии в сравнении с группой контроля ($p < 0,05$), DLCO не изменился ($p > 0,05$) и остался в пределах референсных значений. Другие показатели не изменились.

3.2.8. Определение выраженности ответа на проводимую терапию

Исследование проводилось на основе клинических данных 40 пациентов, включенных в группы ингаляционной терапии. Целевая переменная – «Ответ на терапию» – являлась бинарной и отражала степень терапевтического эффекта. Среди пациентов, получавших курс ингаляций, ответ на проводимую терапию условно разделен на «большой» (класс 1) и «меньший» (класс 0) эффект, учитывая данные по окончанию исследования. Для моделирования были выбраны восемь количественных признаков: «Возраст», «ИМТ», «Количество дней от положительного мазка», «Степень тяжести COVID-19», «Процент поражения легких на КТ», «Тяжесть одышки по ВАШ», «Выраженность кашля по ВАШ» и «Объёмная скорость кровотока в венах».

Логистическая регрессия продемонстрировала низкую точность на тестовой выборке, составлявшую 0.42, что ниже уровня случайного угадывания (0.50). Ни один из анализируемых признаков не выявил статистически значимой связи с целевой переменной, а значит не предсказывал ответ на проводимую терапию.

- **Возраст:** OR = 0.6880, 95% ДИ [0.2488, 1.5193]
- **ИМТ:** OR = 1.3535, 95% ДИ [0.6303, 3.0860]
- **Длительность ПКС:** OR = 0.5238, 95% ДИ [0.2291, 1.3289]
- **Степень тяжести COVID-19:** OR = 1.0668, 95% ДИ [0.4252, 2.1324]
- **Процент поражения легких на КТ:** OR = 0.8204, 95% ДИ [0.4272, 1.7772]
- **Выраженность одышки исходно:** OR = 1.4542, 95% ДИ [0.6163, 3.4068]
- **Выраженность кашля исходно:** OR = 1.2404, 95% ДИ [0.5205, 2.8448]
- **Объёмная скорость кровотока в венах:** OR = 2.6697, 95% ДИ [0.9355, 5.6470]

Итоговая матрица ошибок логистической регрессии показала, что модель правильно классифицировала три наблюдения в классе 0 и два – в классе 1, при этом восемь наблюдений были классифицированы неверно. Также, полнота для класса 0 составила 0.50, а для класса 1 – 0.33.

Метод SVM также продемонстрировал низкую точность. При размере тестовой выборки 20% точность на тестовой выборке составила 0.38, а при увеличении тестовой выборки до 30% – 0.50. При размере тестовой выборки 20% полнота для класса 0 составила 0.25, а для класса 1 – 0.50. Увеличение тестовой выборки до 30% сделало модель более надёжной для предсказания большего ответа на терапию (полнота для класса 1 увеличилась до 0.83), но снизило её способность распознавать меньший ответ (полнота для класса 0 упала до 0.17). При этом средняя точность по кросс-валидации составляла 0.53 ± 0.11 для 20%-ной выборки и 0.62 ± 0.18 для 30%-ной выборки.

Использование логистической регрессии и метода опорных векторов для анализа предсказательной силы выбранных признаков не позволило достичь необходимой точности классификации. Более того, ни один из признаков не был статистически значимым. Метод SVM при увеличении размера тестовой выборки с 20% до 30% показал улучшение полноты для класса 1 (большой ответ на терапию), но точность на уровне 0.50 оставалась недостаточной.

Низкая предсказательная сила признаков может быть связана с их слабой информативностью или линейностью используемых методов.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что положительный ответ на проводимую ингаляционную терапию определен у всех пациентов, т.е. не зависел от возраста, ИМТ, степени тяжести перенесенного COVID-19, длительности ПКС, выраженности респираторных симптомов ПКС, а также микроциркуляторных нарушений.

Также мы оценили распределение пациентов из групп ингаляционной терапии iNO/iH₂ и iNO (n=40) по описанным ранее кластерам с учетом выраженности ответа на терапию (Рисунок 13).

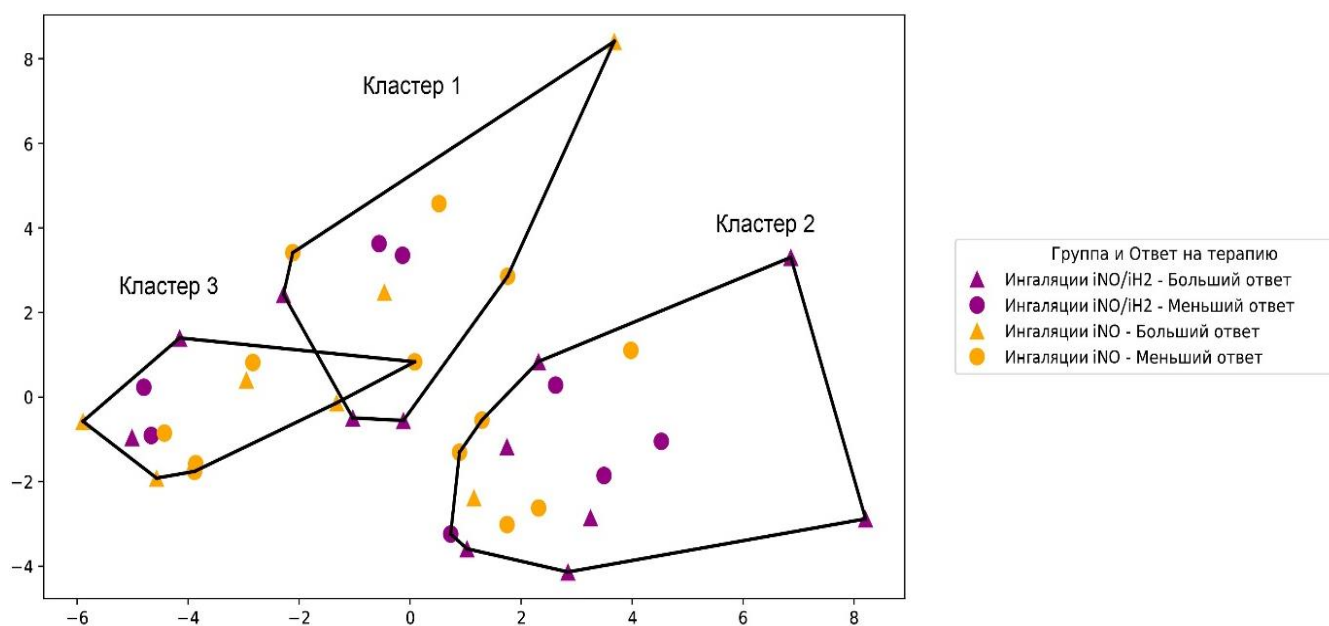


Рисунок 13 – Распределение пациентов из групп iNO/iH₂ и iNO (n=40) по кластерам ПКС в зависимости от ответа на терапию

В Кластер 1 вошли 10 человек из обеих групп ингаляционной терапии (5 пациентов – iNO, 5 пациентов - iNO/iH₂). Мы наблюдали относительно равное распределение в кластере пациентов из группы iNO/iH₂ (3 имели более выраженный ответ на терапию, 2 – менее выраженный). Подобная картина наблюдалась в группе пациентов, получающих iNO (2 имели более выраженный ответ на терапию, 3 – менее выраженный).

В Кластер 2 включено 17 человек, из которых 11 получали iNO/iH₂ и 6 - iNO. При этом выраженность ответа в группе iNO/iH₂ преобладала (7/11), тогда как у пациентов в группе iNO была ответ на терапию был слабее (5/6).

В Кластер 3 вошло 13 участников исследования, 4 из которых получали ингаляционную терапию iNO/iH₂ с большим и меньшим ответом (2/2). 9 пациентов прошли курс iNO (4 имели более выраженный ответ и 5 – менее).

Отсутствовали достоверные различия между выраженностью ответа на терапию и кластером ПКС ($p > 0,05$). Выявлено, что во всех кластерах присутствуют пациенты как из группы терапии iNO/iH₂, так и группы iNO с различной степенью ответа на терапию.

3.2.9. Оценка клинической безопасности

Среди нежелательных реакций в обеих группах ингаляционной терапии отмечено появление головокружения ($n = 4$ (6,7%)), головной боли ($n = 2$ (3,3%)), умеренного сухого кашля ($n = 5$ (8,3%)), а также ощущение «сухости» слизистой оболочки носа ($n = 3$ (5%)) у пациентов из группы терапии iNO. Во всех случаях степень тяжести определялась как «лёгкая», а связь с ингаляцией «маловероятная» или «возможная». Ни в одном из случаев развитие нежелательных реакций не потребовало остановки терапии. Описание возникновения нежелательных реакций на фоне ингаляционной терапии представлено в Таблице 25.

Таблица 25 – Нежелательные реакции на фоне ингаляционной терапии

Нежелательные реакции	Всего (n=60)	Группа iNO/iH ₂ (n=20)	Группа iNO (n=20)	Контрольная группа (n=20)
Головокружение, n (%)	4 (6,7%)	2 (10%)	2 (10%)	0
Головная боль, n (%)	2 (3,3%)	1 (5%)	1 (5%)	0
Умеренный сухой кашель, n (%)	5 (8,3%)	2 (10%)	3 (15%)	0
«Сухость» слизистой оболочки носа, n (%)	3 (5%)	0	3 (15%)	0

Статистически значимые отличия между группами в возникновении нежелательных реакций наблюдаются только по признаку «сухость» слизистой оболочки носа ($p < 0,05$). Что касается других неблагоприятных явлений статистически значимых различий между группами терапии iNO/iH₂ и iNO не выявлено ($p > 0,05$). Кроме того, частота развития нежелательных явлений не отличалась и между кластерами ПКС ($p > 0,05$).

На 7-е сутки после окончания исследования и спустя 2 месяца проводился контроль пациентов при помощи методов телемедицины. По результатам

мониторинга в указанных контрольных точках не зафиксировано появление отдаленных нежелательных явлений. Эффект от проведенной терапии сохранялся в течение двух месяцев.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В современных условиях, когда разработаны успешные подходы к лечению и контролю распространения COVID-19, все большее внимание уделяется методам терапии пациентов с ПКС. На сегодняшний день программы ведения пациентов с ПКС недостаточно определены. В рамках реабилитации применяют дыхательные упражнения и тренажеры, методы лечебной физкультуры и физиотерапии, аэробные циклические нагрузки, нейропсихологическую коррекцию и др. [13], не влияющие на патофизиологические механизмы развития ПКС. В связи с этим особый интерес представляет применение медицинских газов iNO и iN₂, доказавших свою эффективность по влиянию на длительную персистенцию и репликацию вирусов, эндотелиальную дисфункцию и окислительный стресс в ранее проведенных исследованиях при различных патологических состояниях [20, 23, 24, 26, 29, 35, 37]. Клинических данных о применении комбинации обоих медицинских газов недостаточно, что и обусловило актуальность и научную новизну проведенного нами исследования.

Мы оценили безопасность применения комбинированной терапии iNO/iN₂ у здоровых добровольцев, а также её эффективность и безопасность у пациентов с бронхолегочными проявлениями ПКС.

Важным этапом в изучении клинической безопасности комбинированной ингаляции стал мониторинг развития возможных неблагоприятных эффектов. В литературных источниках описано несколько негативных реакций на экзогенный NO. В первую очередь введение ингаляционного NO может приводить к повышению уровня метгемоглобина крови в результате воздействия NO на гемоглобин эритроцитов, окисления NO кислородом с образованием диоксида азота (NO₂), а также возможного ингибирования тромбоцитов [46]. Как правило, метгемоглобинемия во время длительной ингаляции NO в пределах допустимого диапазона доз встречается редко. Тем не менее, она может возникнуть у пациентов, получающих более высокие дозы NO (обычно выше 40 ppm), у лиц, предрасположенных к развитию метгемоглобинемии, или при длительном

назначении в условиях острой госпитализации. [46, 50]. Также применение iNO может способствовать непродолжительному появлению головокружения, головной боли и «сухости» слизистой носа [14]. Что касается применения ингаляционных форм молекулярного водорода, то в проведенных на сегодняшний день клинических исследованиях не отмечено появления каких-либо нежелательных эффектов на фоне данной терапии [23, 35].

В рамках первого этапа были обследованы 10 добровольцев (4 мужчин и 6 женщин) в возрасте $24 \pm 1,33$ лет без значимой сопутствующей патологии, получивших однократную ингаляцию iNO/iH₂ в течение 90 минут. Доза ингаляционного оксида азота во вдыхаемой смеси составила 60 ppm. Во время ингаляции ни один из здоровых добровольцев не отметил изменений общего самочувствия. Оцениваемые лабораторно-инструментальные параметры не изменились. Уровень MetHb крови после ингаляции был в пределах нормальных значений и составил $0,59 \pm 0,11$ % (норма: 0 – 1,5%).

Таким образом, учитывая отсутствие клинических нежелательных эффектов, а также негативного влияния на основные витальные показатели, параметры газового состава артериальной крови, гемодинамики, функциональных легочных объемов, диффузионной способности легких и уровень MetHb, можно сделать вывод о безопасности однократной комбинированной ингаляции оксида азота и молекулярного водорода. Это позволило нам преступить ко второй части исследования.

На втором этапе было проведено проспективное открытое контролируемое исследование в параллельных группах по оценке эффективности и безопасности комбинированной терапии iNO/iH₂ у пациентов с бронхолегочными проявлениями ПКС. В нем приняли участие 60 человек (18 мужчин / 42 женщины), средний возраст которых составил $58,1 \pm 12,9$ лет. Все пациенты в равной степени были разделены на 3 группы. Пациенты первой группы получали терапию iNO/iH₂ (iNO – 60 ppm, iH₂ не более 4% в газовой смеси) + стандартную терапию ПКС, второй – iNO (60 ppm) + стандартную терапию ПКС, а пациенты контрольной группы – только стандартную терапию ПКС. Стандартная терапия включала в себя

применение ингаляционных бронходилататоров, мукоактивных и противокашлевых препаратов, методы физической реабилитации (ЛФК, применение дыхательных тренажеров), а также препаратов для коррекции симптомов со стороны других систем органов [13]. Пациенты не получали лекарственные средства, повышающие уровень MetHb, а также донаторы NO (нитроглицерин) и антиоксиданты. Данный этап не подразумевал применение плацебо у пациентов из группы контроля, поскольку отсутствуют аналоги генераторов, способные подавать через носовые канюли обычный воздух.

Примечательно, что средняя продолжительность от выявления положительного ПЦР теста на SARS-CoV-2 до включения в исследование составила $728,7 \pm 262,3$ дней. То есть спустя 2 года после перенесенного COVID-19 у пациентов сохранялись респираторные симптомы и признаки, что сопоставимо с результатами ранее проведенных исследований [7, 8]. В ходе исследования отмечено, что основными клиническими проявлениями ПКС были одышка (98,3%), кашель (76,7%), утомляемость (88,3%), учащенное сердцебиение (58,3%), чувство тревоги (46,7%), нарушение сна (40%), головокружение (38,3%), суставная боль (38,3%) и нарушение обоняния (20%). Кроме того, у 57 пациентов (95%) отмечено сохранение изменений на КТ различной степени выраженности, а также у 13 пациентов (21,6%) выявлено снижение DLCO.

Одним из основных обследований у больных с ПКС был анализ окислительно-восстановительного статуса. В сыворотке венозной крови определялись параметры окислительного повреждения, а также общая антиоксидантная способность организма. В полученных результатах мы наблюдали исходно высокие показатели уровня окислительного стресса во всех группах наблюдения спустя 2 года после перенесенного COVID-19 (в группе iNO/iH₂ - 595,0 [555,0; 600,0] Ед FORT, в группе iNO - 600,0 [524,0; 600,0] Ед FORT, и в контрольной группе - 600,0 [516,5; 600,0] Ед FORT). При этом у 27 пациентов (45%) данный показатель превышал границы допустимого определения прибором (<600 FORT ед.), что показывает значительный вклад окислительного стресса в развитие ПКС [30, 46, 49, 58, 89].

В изученных нами литературных источниках существует ограниченное количество информации по определению фенотипов ПКС. [7, 46, 126]. Большинство авторов связывают тяжесть симптомов постковидного синдрома с тяжестью перенесенного COVID-19, повышенным ИМТ, сопутствующими патологиями [7, 32, 39, 89]. Однако по результатам проведенного нами корреляционного анализа выявлено, что большинство клинических проявлений ПКС не было связано со степенью тяжести COVID-19. Так наблюдалась слабая положительная связь между тяжестью заболевания и одышкой ($r = 0,273$, $p < 0,05$), утомляемостью ($r = 0,293$, $p < 0,05$) и нарушением сна ($r = 0,304$, $p < 0,05$), а также слабая отрицательная связь между степенью тяжести COVID-19 и физическим компонентом качества жизни ($r = -0,277$, $p < 0,05$) и DLCO ($r = -0,436$, $p = 0,001$).

Важным этапом стало проведение кластерного анализа. Нам удалось выделить 3 кластера ПКС. Первый кластер включает пациентов, перенесших тяжелое течение COVID-19, с одышкой по ВАШ (6,0 [5,0; 8,0]) и mMRC (2,0 [2,0; 3,0]), сниженными показателями пройденной дистанции в тесте 6 минутной ходьбы ($380,9 \pm 85,3$ м) и физического компонента качества жизни по SF36 (31,3 [29,9; 34,0]), изменениями при КТ в виде ретикулярных изменений и сохранением феномена «матового стекла», а также нарушениями по данным ФВД (ОФВ1 67,0 [56,0; 76,0] %, ФЖЕЛ 64,0 [58,0; 70,0] %) и снижением DLCO (58,0 [46,0; 71,0] %). Второй кластер был представлен пациентами с тяжелым течением COVID-19, но менее выраженными нарушениями: одышка по ВАШ (4,0 [3,0; 5,0]) и mMRC 1,5 [1,0; 2,0], физический компонент SF36 40,5 [32,2; 42,9], пройденная дистанция ($463,1 \pm 62,2$ м), ретикулярные изменения по КТ и нормальные показатели ФВД и DLCO. Третий кластер представлен пациентами, перенесшими легкое течение COVID-19 и минимальными изменениями клинико-функциональных показателей (одышка по ВАШ 2,0 [2,0; 3,0] и mMRC 1,0 [1,0; 1,0], отсутствие или минимальные ретикулярные изменения на КТ, нормальные показатели ФВД и DLCO, наилучшие параметры толерантности к физической нагрузке (пройденная дистанция $495,1 \pm 46,3$ м) и физического компонента SF-36 (44,0 [39,4; 46,3])). Показатели окислительного повреждения и степень микроциркуляторных

нарушений не вносили существенный вклад в определение фенотипов, поскольку исходно были изменены у всех пациентов.

После завершения курса лечения с применением медицинских газов (iNO/iH₂ или iNO) мы отметили значимую динамику оцениваемых показателей по сравнению с группой контроля. Так, в обеих группах ингаляционной терапии в равной степени наблюдалось значительное снижение тяжести проявления одышки, кашля, утомляемости, сердцебиения, головокружения в сравнении с исходными показателями и группой контроля ($p < 0,05$) по данным дневника самонаблюдения.

Что касается оценки клинического статуса пациентов на фоне ингаляционной терапии по данным применяемых шкал и опросников, мы наблюдали более выраженную динамику в группе iNO/iH₂, в сравнении с группой пациентов, получавших iNO, и группой контроля. На фоне терапии iNO/iH₂ отмечено достоверное снижение выраженности одышки по шкале mMRC (-1,0 [-1,0; 0,0]), усталости по шкале FAS (-2,0 [-3,0; 0,0]), тревоги по шкале HADS (-1,0 [-2,0; 0,0]), а также увеличение качества жизни по обоим компонентам здоровья по данным опросника SF36 (1,7 [0,1; 3,1]; 1,6 [0,0; 3,7]), тогда как на фоне iNO значимо снизилась только выраженность усталости по FAS (-2,0 [-3,0; 0,0]). Кроме того, только iNO/iH₂ привела к достоверному увеличению толерантности к физическим нагрузкам, оцениваемой по результатам теста 6-минутной ходьбы в виде прироста пройденной дистанции ($44,7 \pm 41,5$ м) в сравнении другими группами наблюдений ($p < 0,05$). В группе терапии iNO и контроля изменения были статистически не значимыми. Таким образом, можно сделать вывод о том, что применение комбинированной ингаляционной терапии оксидом азота и водородом имело более выраженный положительный эффект на регресс клинических признаков ПКС в сравнении с монотерапией iNO и стандартной терапией без применения медицинских газов.

В настоящем исследовании была применена уникальная методика оценки параметров микроциркуляции при видеокапилляроскопии конъюнктивы глаза, позволившая не только определить качественные и количественные

микроциркуляторные нарушения в мелких сосудах, но также оценить ответ на проводимую ингаляционную терапию. В настоящее время отсутствуют методы неинвазивной оценки легочного капиллярного кровообращения. Использование видеокапилляроскопии конъюнктивы глаза может стать хорошим аналогом инвазивных методик, поскольку полученные результаты мы можем экстраполировать с данными микроциркуляции легких [11, 19].

Методов оценки достаточности терапевтической дозы iNO до настоящего времени разработано не было. В большинстве случаев доза назначалась эмпирически, за исключением исследования Н.Х. Кыонга, в котором эффективность iNO в дозах 25 ppm, 50 ppm и 75 ppm оценивалась в том числе с помощью методов пальцевой фотоплетизмографии и видеокапилляроскопии [14].

У всех наблюдаемых нами пациентов с ПКС вне зависимости от ИМТ, степени тяжести COVID-19, возраста, пола спустя почти 2 года от начала заболевания отмечены выраженные морфологические изменения сосудов в виде их извитости. Кроме того, у всех участников исследования отмечено образование сладжей эритроцитов, а также стаз кровотока, что может быть объяснено развитием эндотелиальной дисфункции у пациентов с ПКС на фоне разрушения эндотелиоцитов и снижения концентрации эндогенного NO [25, 62, 87, 103]. Известно, что его основным биологическим эффектом является регуляция сосудистого тонуса, в частности влияние на микроциркуляторное кровообращение (капилляры и венулы) [5, 6]. Мы предположили, что iNO может оказать положительный эффект на показатели микроциркуляции, так как он способен восстанавливать функцию эндотелиоцитов, вызывать селективную вазодилатацию легочных сосудов, нормализовать вентиляционно-перфузионный градиент [36, 43]. Методика видеокапилляроскопии конъюнктивы глаза позволила нам оценить такие количественные характеристики, как диаметр сосудов, а также скорость кровотока. Курс ингаляций, как iNO/iH₂, так iNO значительно увеличил диаметр (с 17,0 [15,0; 19,5] мкм до 19,0 [18,0; 21,0] мкм в группе iNO/iH₂, с 18,0 [15,3; 19,0] мкм до 18,0 [11,5; 19,0] мкм в группе iNO) и объемную скорость кровотока (с 92618,5 [72993,5; 167749,5] мкм³/с до 198883,0 [157822,5; 257694,0]

мкм³/с в группе iNO/iH₂ и с 115653,5 [77492,8; 166955,5] мкм³/с до 207616,5 [147127,5; 252480,3] мкм³/с в группе iNO) в венулах в сравнении с группой контроля. Достоверных различий между группами ингаляционной терапии по данным показателям выявлено не было ($p > 0,05$), что вполне объяснимо, поскольку обе группы получали iNO. Данные показатели в артериолах на фоне ингаляционной терапии достоверно не изменились. Результаты этого наблюдения подтверждаются большим количеством исследований о влиянии iNO на процессы микроциркуляции и развитие эндотелиальной дисфункции [24, 29, 36, 43, 50, 103].

Ингаляционная терапия показала положительный эффект на процессы микроциркуляции, однако достоверного влияния на параметры системной гемодинамики по результатам ЭХО-КГ не было зафиксировано ни в группе iNO/iH₂, ни в группе iNO. Следует отметить, что в нашем исследовании ни у кого из пациентов не было нарушений систолической функции левого желудочка, расширения камер сердца, а также признаков легочной гипертензии. Результаты нашего наблюдения сопоставимы с данными литературных источниках, в которых описано воздействие iNO преимущественно на малый круг кровообращения и отсутствием системного гипотензивного эффекта [3, 5, 36, 71].

В настоящем исследовании при проведении комплексной оценки пациентов с ПКС мы также анализировали параметры ФВД и DLCO, а газовый состав артериальной крови. Включение в программу терапии курса комбинированной терапии iNO/iH₂ показало некоторое статистически достоверное увеличение PaO₂ артериальной крови (с 86,5 [79,8; 90,8] до 89,5 [83,8; 95,3]) в сравнении с другими группами. При этом повышения показателя DLCO не было зафиксировано ни в одной из групп исследования. Что же касается параметров ФВД, то после курса ингаляций в сравнении с контролем произошло увеличение показателей ОФВ₁ (с 83,0 [68,8; 107,8] до 102,0 [72,3; 114,3]) только в группе iNO/iH₂.

Поскольку исходно у всех пациентов лабораторно наблюдались признаки окислительного стресса, мы также изучили влияние терапии медицинскими газами на данный патологический процесс. В ходе исследования было выявлено, что в группе iNO/iH₂ определено более выраженное снижение уровня показателей

окислительного стресса (с 595,0 [555,0; 600,0] Ед FORT до 409,0 [346,5; 493,0] Ед FORT, $p < 0,05$) в отличие от групп iNO и контроля ($p < 0,05$). Также в группе комбинированной терапии выявлена нормализация параметров антиоксидантной защиты (с 1,7 [1,5;1,8] до 1,4 [1,3;1,6] ммоль/л эквивалентов тролокса, $p < 0,001$). В группах iNO и контроля значимых достоверных изменений данных показателей не выявлено. Таким образом, комбинация iNO/iH₂ имела значимое преимущество перед терапией iNO за счет антиоксидантных свойств H₂ [91].

Мы рассмотрели влияние курса медицинских газов на различные показатели. Однако мы также оценили наличие возможной взаимосвязи между проводимой терапией и выраженностью ответа на нее с кластерами ПКС. Нами установлено, что положительный ответ на проводимую ингаляционную терапию определен у пациентов всех трех кластеров ПКС и не зависел от возраста, ИМТ, степени тяжести COVID-19, длительности ПКС, выраженности респираторных симптомов ПКС, а также микроциркуляторных нарушений.

На первом этапе исследования мы показали безопасность применения однократной комбинированной ингаляции NO и H₂ среди молодой группы добровольцев, не имеющих сопутствующих патологий. Во второй части настоящего исследования средний возраст пациентов составил $58,1 \pm 12,9$ лет. Кроме того, они получали курс 10 ингаляций. Поэтому было важно оценить безопасность у лиц с мультиморбидной патологией. Во время проведения ингаляций пациенты отметили появление некоторых нежелательных явлений (головокружения 6,7%, головной боли 3,3%, умеренного сухого кашля 8,3%, а также ощущение «сухости» слизистой оболочки носа 5%), однако во всех случаях их степень тяжести определялась как «лёгкая», а связь с ингаляцией «маловероятная» или «возможная». Ни в одном из случаев развитие нежелательных реакций не потребовало остановки терапии. Частота развития нежелательных явлений не отличалась между кластерами ПКС ($p > 0,05$).

Полученные нами результаты свидетельствуют об эффективности и безопасности применения iNO/iH₂ в реабилитации пациентов с ПКС.

ВЫВОДЫ

1. Однократная ингаляция iNO/iH₂ у здоровых добровольцев была безопасной, не приводила к появлению клинически нежелательных реакций, не влияла на основные показатели. По окончании ингаляции уровень MetHb крови сохранялся в пределах нормальных значений $0,59 \pm 0,11\%$

2. Выделено 3 кластера постковидного синдрома в зависимости от клинико-функциональных параметров: пола, ИМТ, степени тяжести COVID-19 в анамнезе, данных КТ, показателей ФВД и DLCO, выраженности одышки по ВАШ, физического компонента качества жизни SF-36. Показатели окислительного стресса и микроциркуляторных нарушений исходно были изменены у всех пациентов и поэтому не вносили существенный вклад в определение кластеров.

3. Курс ингаляционной терапии NO/H₂ привел к статистически значимому снижению выраженности респираторных симптомов и утомляемости, улучшению качества жизни по сравнению с исходными величинами и параметрами контрольной группой ($p < 0,05$). Выявлено повышение толерантности к физическим нагрузкам по данным 6-минутного теста ($p < 0,05$) в группе iNO/iH₂ в сравнении с группой терапии iNO и группой контроля ($p < 0,05$).

4. 10-дневный курс в группе iNO/iH₂ привел к статистически значимому снижению показателей окислительного стресса (с 595,0 до 409,0 Ед FORT, $p < 0,05$) в сравнении с группами iNO и контроля ($p < 0,05$); нормализации параметров антиоксидантной защиты (с 1,7 до 1,4 ммоль/л эквивалентов тролокса, $p < 0,001$); увеличению диаметра и объемной скорости в венулах в сравнении с исходными величинами ($p < 0,05$) и показателями группы контроля ($p < 0,05$).

5. Комбинированная терапия iNO/iH₂ была безопасной у пациентов с постковидным синдромом. Частота развития нежелательных явлений не отличалась между кластерами ($p > 0,05$). Ингаляционная терапия iNO/iH₂ или iNO не приводила к развитию серьезных нежелательных реакций. Положительный ответ на проводимую ингаляционную терапию был достигнут у всех пациентов с

постковидным синдромом и не зависел от возраста, ИМТ, степени тяжести перенесенного COVID-19, длительности постковидного синдрома и выраженности респираторных симптомов, а также микроциркуляторных нарушений вне зависимости от выделенных кластеров.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем пациентам с постковидным синдромом в рамках комплексного обследования необходимо определять уровень окислительного стресса, нарушения микроциркуляции при помощи неинвазивной видеокапилляроскопии конъюнктивы глаза.

2. Пациентам с постковидным синдромом рекомендовано включение в реабилитационную программу 10-дневного курса комбинированной терапии iNO/iH₂ в дозе iNO – 60 ppm и концентрации iH₂, не превышающей 4% в газовой смеси в течение 90 мин, потоком 4 л/мин.

3. Ответ на проводимую терапию iNO может быть оценен при помощи динамики скоростных и объемных показателей сосудов микроциркуляторного русла при видеокапилляроскопии бульбарной конъюнктивы.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД – Артериальное давление	САД – Систолическое артериальное давление
АО – Артериолярный отдел	
АОЗ – Антиоксидантная защита	СДЛА – Систолическое давление в легочной артерии
АФК – Активные формы кислорода	ТОРС – Тяжелый острый респираторный синдром
ВАШ – Визуальная аналоговая шкала	ТСЛ – Тиол-содержащие лиганды
ВО – Веноулярный отдел	ФВ – Фракция выброса
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения	ФВД – Функция внешнего дыхания
ГКС - Глюкокортикостероиды	ФЖЕЛ – Форсированная жизненная емкость легких
ДАД – Диастолическое артериальное давление	ЧДД – Частота дыхательных движений
ДИС – Добровольное информированное согласие	ЧСС – Частота сердечных сокращений
ДНКЖ - Динитрозильные комплексы железа	ЭХО-КГ – Эхокардиография
ИВЛ – Инвазивная вентиляция легких	COVID-19 – Коронавирусная инфекция 2019 года
ИМТ – Индекс массы тела	DLCO – Диффузионная способность легких по монооксиду углерода
КТ – Компьютерная томография	eNOS – Эндотелиальная NO-синтаза
ЛЖ – Левый желудочек	H ₂ – Молекулярный водород
НЯ – Нежелательные явления	FORD – Показатели общей антиоксидантной способности
ОРДС – Острый респираторный дистресс синдром	FORT - Показатели окислительного повреждения
ОС- Окислительный стресс	iNO – Ингаляционный оксид азота
ОФВ1 – Объем форсированного выдоха за 1 секунду	
ОФВ1/ФЖЕЛ – Индекс Генслера	
ПЖ – Правый желудочек	
ПКС – Постковидный синдром	

iNO/iH₂ – Комбинированная
ингаляционная терапия оксидом азота
и молекулярным водородом
iNOS – Индуцибельная NO-синтаза
iH₂ – Ингаляционный молекулярный
водород
MetHb – Метгемоглобин
nNOS – Нейрональная NO-синтаза
NO – Оксид азота
NO₂ – Диоксид азота
NOS - NO-синтазы

pO₂ – Парциальное давление
кислорода в артериальной крови
pCO₂ – Парциальное давление
углекислого газа в крови
SARS-CoV-2 – Вирус, вызывающий
коронавирусную инфекцию
SpO₂ – Пульсоксиметрия
SaO₂ – Сатурация в артериальной
крови
TAPSE - Систолическая экскурсия
кольца трикуспидального клапана

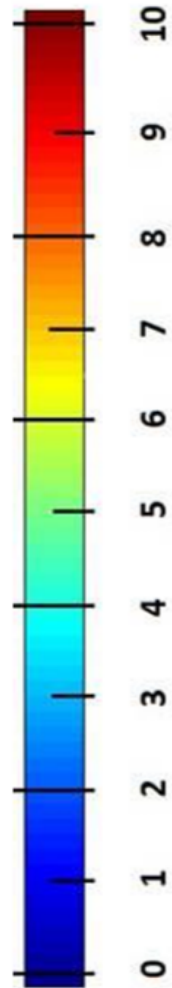
ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение №1. Дневник самонаблюдения

Дневник пациента

Уважаемый —

Просим Вас заполнить этот дневник и отметить выраженность симптомов болезни по шкале от 0 до 10.

[illegible]

Приложение №2. Шкала mMRC (вопросник валидирован)

Степень	Тяжесть	Описание проблемы	Варианты ответов
0	Нет	Одышка не беспокоит, за исключением очень интенсивной нагрузки	Да, Нет
1	Легкая	Одышка при быстрой ходьбе или при подъеме на небольшое возвышение	Да, Нет
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	Да, Нет
3	Тяжелая	Одышка заставляет больного делать остановки при ходьбе на расстояние около 100 м или через несколько минут ходьбы по ровной поверхности	Да, Нет
4	Очень тяжелая	Одышка делает невозможным для больного выход за пределы своего дома, или одышка появляется при одевании и раздевании	Да, Нет

Приложение №3. Язык одышки (под ред. А.Г. Чучалина)

Выберите предложения, которые наиболее описывают Вашу одышку.

- Мне трудно сделать вдох
- Я вынужден прикладывать дополнительное усилие, чтобы дышать
- Я чувствую, что задыхаюсь
- Я чувствую, что мне не хватает воздуха
- Мое дыхание тяжелое
- Я не могу сделать глубокого вдоха
- Моя грудь стеснена
- Мое дыхание нуждается в более напряженной работе
- Я чувствую, как мое дыхание останавливается
- Я чувствую свое частое дыхание
- Мое дыхание поверхностное (неглубокое)
- Я чувствую, как нуждаюсь в еще большем дыхании
- Я не могу выдохнуть до конца

Приложение №4. Оценка по шкале оценки усталости (fatigue assessment scale (Fas))

Вопросы	Никогда	Иногда	Регулярно	Часто	Всегда
1. Меня беспокоит усталость	1	2	3	4	5
2. Я устаю очень быстро	1	2	3	4	5
3. Я не могу сделать многое в течение дня	1	2	3	4	5
4. У меня достаточно энергии для повседневной жизни	1	2	3	4	5
5. Физически я чувствую себя изнуренным	1	2	3	4	5
6. У меня есть проблемы с тем, чтобы что-то начать делать	1	2	3	4	5
7. У меня проблемы с ясностью мышления	1	2	3	4	5
8. У меня нет никакого желания делать что-нибудь	1	2	3	4	5
9. Я чувствую себя умственно истощенным	1	2	3	4	5
10. Когда я что-то делаю, я могу достаточно хорошо сконцентрироваться	1	2	3	4	5

Приложение №5. Госпитальная Шкала Тревоги и Депрессии (HADS)

Выберите ответ, который в наибольшей степени соответствует Вашему самочувствию на прошлой неделе. Не раздумывайте долго над ответом, Ваша первая реакция будет лучшей.

Д	Т		Д	Т	
		Я напряжен, мне не по себе:			Мне кажется, что все делаю очень медленно:
	3	Большую часть времени	3		Почти все время
	2	Много времени	2		Очень часто
	1	Время от времени	1		Иногда
	0	Совсем нет	0		Совсем нет
		То, что приносило удовольствие, и сейчас вызывает такое же чувство:			Я испытываю внутреннее напряжение:
0		Определённо это так		0	Совсем нет
1		Наверное, это так		1	Иногда
2		Лишь в очень малой степени это так		2	Часто
3		Это совсем не так		3	Очень часто
		Я испытываю страх, кажется, будто что-то ужасное может вот-вот случиться:			Я не слежу за своей внешностью:
	3	Определённо так и страх очень сильный	3		Определенно это так
	2	Это так, но страх не очень сильный	2		Я не уделяю столько времени, сколько нужно
	1	Иногда, но это меня не беспокоит	1		Возможно, стал меньше уделять времени
	0	Совсем нет	0		Я слежу за собой так же, как и раньше
		Я способен рассмеяться и видеть смешное:			Я испытываю неусидчивость, словно мне постоянно нужно двигаться:
0		Определённо это так		3	Определённо это так
1		Наверное, это так		2	Наверное, это так
2		Лишь в очень малой степени это так		1	Лишь в некоторой степени это так
3		Совсем нет		0	Совсем нет
		Беспокойные мысли крутятся в голове:			Я считаю, что мои дела принесут удовлетворение:
	3	Постоянно	0		Точно так же, как и обычно
	2	Большую часть времени	1		Но не в такой степени, как раньше
	1	Время от времени и не так часто	2		Определенно меньше, чем обычно
	0	Только иногда	3		Совсем так не считаю
		Я испытываю бодрость:			У меня бывает внезапное чувство паники:
3		Совсем не испытываю		3	Очень часто
2		Очень редко		2	Довольно часто
1		Иногда		1	Не так уж часто
0		Большую часть времени		0	Совсем нет
		Я легко могу сесть и расслабиться:			Я получаю удовольствие от хорошей книги, радиопередачи или ТВ:
	0	Определённо это так	0		Часто
	1	Наверное, это так	1		Иногда
	2	Не часто	2		Редко
	3	Совсем нет	3		Очень редко

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаева, Г. Б. Оценка отдаленных клинико-функциональных изменений у пациентов, перенесших тяжелое COVID-19-ассоциированное поражение легких / Г. Б. Абдуллаева, С. Н. Авдеев, Е. В. Фоминых [и др.] // Пульмонология. — 2023. — № 33 – №4. — Р. 461-471.
2. Аполихин, О. И., Красняк, С. С. Роль оксида азота в развитии заболеваний мужской репродуктивной системы и возможности его применения в клинической практике. / О. И. Аполихин, С. С. Красняк // Пульмонология. – 2024. – Vol.34. – № 3. – Р. 395-400.
3. Буров, А. А., Зубков, В. В. Оксид азота в терапии критических состояний новорожденных и недоношенных детей/ А. А. Буров, В. В. Зубков // Пульмонология. – 2024. – Vol.34. – № 3. – Р. 340-349.
4. Бурячковская Л.И. Повреждение сосудистого эндотелия и эритроцитов у больных COVID-19 / Л.И. Бурячковская, А.М. Мелькумянц, Н.В. Ломакин [и др.] // Consilium Medicum. – 2021. – Vol. 23. – № 6. – Р. 469-476
5. Ванин, А. Ф. Влияние экзогенного и эндогенного оксида азота на организм человека и животных / А. Ф. Ванин // Пульмонология. – 2024. – Vol.34. – № 3. – Р. 311-325.
6. Ванин, А. Ф. Газообразный оксид азота и динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами как предполагаемые лекарственные средства, способные купировать COVID-19 / А. Ф. Ванин, А. В. Пекшев, А. Б. Вагапов [и др.] // Биофизика. – 2021. – Vol.66. – № 1. – Р. 183-194.
7. Глушкова Т.В., Лещенко И.В., Скорняков С.Н., Савельев А.В. Функциональная и рентгенологическая оценка респираторной системы у пациентов с нарушениями диффузионной способности легких в постковидном периоде // Туберкулез и болезни легких. – 2023. – Vol.101. – № 3. – Р. 44-51.
8. Дельмаева Х.С. Комплексная оценка состояния дыхательной, сердечно-сосудистой системы и психоэмоциональных нарушений у взрослых пациентов, перенесших COVID-19. / Дельмаева Х.С., Мухина Н.В., Комарова И.С.

[и др.] // Пульмонология – 2025. – Vol. 35. – № 1. – Р. 49-60.

9. Зайцев А.А., Лещенко И.В. Продолжающийся симптоматический COVID-19 – практические рекомендации / Зайцев А.А., Лещенко И.В. // Consilium medicum. – 2022. – Vol. 24. – № 3. – Р. 209-212.

10. Каменева, М. Ю. Спирометрия: методическое руководство по проведению исследования и интерпретации результатов Межрегиональная общественная организация «Российское респираторное общество» Общероссийская общественная организация «Российская ассоциация специалистов функциональной диагностики» Общероссийская общественная организация «Российское научно-медицинское общество терапевтов» / М. Ю. Каменева, А. В. Черняк, З. Р. Айсанов, [и др.] // Пульмонология. – 2023. – Vol.33 – № 3. – Р. 307-340.

11. Козлов В.И. Капилляроскопия в клинической практике. – 3-е изд. – М.: Практическая медицина, 2018. – 232 с.

12. Крюкова Н.О., Хасанова А.А., Баранова И.А. Гуморальный иммунный ответ слизистых дыхательных путей у медицинских работников в постковидном периоде / Крюкова Н.О., Хасанова А.А., Баранова И.А. [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2023. – Vol. 26. – №4. – Р. 633-640.

13. Методические рекомендации «Особенности течения Long-COVID-инфекции. Терапевтические и реабилитационные мероприятия». Терапия. 2022; 1 (Приложение):1-147. Doi: <https://dx.doi.org/10.18565/therapy.2022.1suppl.1-147>

14. Нгуен Хоанг Кыонг Эффективность и безопасность оксида азота у больных, перенесших COVID-19: специальность 3.1.29 «Пульмонология»: Диссертация на соискание кандидата медицинских наук / Нгуен Хоанг Кыонг; ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова. – Москва, 2024. – 122 с.

15. Нгуен, Х. К. Применение ингаляций оксида азота при COVID-19/ Х. К. Нгуен, Д. Д. Позднякова, И. А. Баранова [и др.] // Пульмонология. – 2024. – Vol.34. – № 3. – Р. 454-463.

16. Рахманин, Ю. А. Молекулярный водород: биологическое действие, возможности применения в здравоохранении (обзор) / Ю. А. Рахманин, Н. А.

Егорова, Р. И. Михайлова [и др.] // Гигиена и санитария. – 2019. – Vol. 98. – № 4. – Р. 359-365.

17. Селемир, В. Д. Современные инженерные решения создания оригинального отечественного генератора оксида азота («Тианокс») / В. Д. Селемир, С. Н. Буранов, А. С. Ширшин // Пульмонология. – 2024. – Vol. 34. – № 3. – Р. 409-416.

18. Талызин, А. М. Оценка эффективности оксида азота при двусторонней трансплантации легких / А. М. Талызин, С. В. Журавель, М. Ш. Хубутия [и др.] // Трансплантология. – 2022. – Vol. 14. – № 2. – Р. 132-141.

19. Хейло Т.С. Опыт использования отечественного капилляроскопа «ОКО» для оценки морфофункциональных параметров микроциркуляторного русла конъюнктивы глазного яблока при различных заболеваниях / Хейло Т.С., Данилогорская Ю.А., Гладышева Е.Г. [и др.] // Терапия. – 2022. – Vol. 8. – № 6. – Р. 120-126.

20. Царева, Н. А. Исследование эффективности и безопасности высоких доз ингаляционного оксида азота у пациентов с внебольничной пневмонией: пилотное исследование / Н. А. Царева, Г. В. Неклюдова, А. И. Ярошецкий [и др.] // Пульмонология. – 2024. – Vol. 34. – № 3. – Р. 132-141.

21. Чучалин, А. Г. Одышка: актуальные проблемы современной медицины/ А. Г. Чучалин // Терапевтический архив. – 2022. – Vol.94. – № 3. – Р. 367-371.

22. Чучалин, А. Г. Оксид азота – молекула XXI века / А. Г. Чучалин // Пульмонология. – 2024. – Vol. 34 – № 3. – Р. 326-333.

23. Шогенова, Л. В. Ингаляционный водород в реабилитационной программе медицинских работников, перенесших COVID-19 / Л. В. Шогенова, Т. Ч. Туе, Н. О. Крюкова [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2021. – Vol. 20. – № 6. – Р. 24-32.

24. Abman SH Real-world use of inhaled nitric oxide therapy in patients with COVID-19 and mild-to-moderate acute respiratory distress syndrome / Abman SH, Fox NR, Malik MI [et al.] // Drugs in Context: электронный журнал. – URL:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35462641/>. – Дата публикации: 2022. – ISSN 1740-4398

25. Ackermann M. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19 / Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M [et al.] // The New England journal of medicine. – 2020. – Vol. 383. – № 2. – P. 120-128.

26. Akaberi D. Mitigation of the replication of SARS-CoV-2 by nitric oxide in vitro / Akaberi D., Krambrich J., Ling J. [et al.] // Redox Biology. – 2020. – Vol. 37. – P. 1-5.

27. Akerström S. Nitric oxide inhibits the replication cycle of severe acute respiratory syndrome coronavirus / Akerström S, Mousavi-Jazi M., Klingström J. [et al.] // Journal of virology. – 2005. – Vol. 79 – № 3. – P. 1966-1969.

28. Albery J. The effect of endogenous nitric oxide on mechanical ciliostimulation of human nasal mucosa / Albery J, Stoll W, Rudack C. [et al.] // Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology. – 2006. – Vol.36 – №. 10. – P. 1254-1259.

29. Alqahtani JS. Inhaled Nitric Oxide for Clinical Management of COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis / Alqahtani JS, Aldhahir AM, Al Ghamdi SS [et al.] // International journal of environmental research and public health. – 2022. – Vol. 19 – №. 19. – P. 1-16.

30. Alwazeer D. Combating Oxidative Stress and Inflammation in COVID-19 by Molecular Hydrogen Therapy: Mechanisms and Perspectives / Alwazeer D, Liu FF, Wu XY [et al.] // Oxidative medicine and cellular longevity. – 2021. – Vol. 2021. – P. 1-17.

31. Antoniou K.M. European Respiratory Society statement on long COVID follow-up / Antoniou K.M., Vasarmidi E., Russell A.M. [et al.] // The European respiratory journal . – 2022. – Vol. 60. – № 2. – P. 2102174.

32. Asiya Kamber Zaidi Chapter Six - Long Covid / Asiya Kamber Zaidi, Puya Dehgani-Mobaraki // Progress in Molecular Biology and Translational Science. – 2024. – Vol. 202. – P. 113-125.

33. Babar M. Short- and Long-Term Chest-CT Findings after Recovery from

COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis / Babar M., Jamil H., Mehta N. [et al.] // *Diagnostics*. — 2024. — № 14 – №6. — P. 621.

34. Bhowal C. Pathophysiological involvement of host mitochondria in SARS-CoV-2 infection that causes COVID-19: a comprehensive evidential insight / Bhowal C, Ghosh S, Ghatak D. [et al.] // *Molecular and cellular biochemistry*. – 2023. – Vol. 478. – №. 6. – P. 1325-1343.

35. Botek M. Molecular Hydrogen Positively Affects Physical and Respiratory Function in Acute Post-COVID-19 Patients: A New Perspective in Rehabilitation / Botek M., Krejčí J., Valenta M. [et al.] // *International journal of environmental research and public health*. – 2022. – Vol. 19. – № 4. – P. 1992.

36. Burov, O. N. Mechanisms of nitric oxide generation in living systems / Burov, O. N., Kletskii, M. E., Kurbatov, S. V. [et al.] // *Nitric oxide : biology and chemistry*. – 2022. – №. 118. – P. 1–16.

37. Cameli, P. Extended Exhaled Nitric Oxide Analysis in Interstitial Lung Diseases: A Systematic Review / Cameli, P., Bargagli, E., Bergantini, L. [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 21. – №. 17. – P. 6187.

38. Centanaro G.V. Long-term Outcomes and Recovery of Patients who Survived COVID-19: LUNG INJURY COVID-19 Study / Centanaro G.V., Rubio M.C., Walther J.L. [et al.] // *Open Forum Infectious Diseases*. – 2022. – Vol. 9. – № 4. – P. 1-11.

39. Chen C. Global Prevalence of Post-Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Condition or Long COVID: A Meta-Analysis and Systematic Review / Chen C., Hauptert S.R., Zimmermann L. [et al.] // *The Journal of infectious diseases*. – 2022. – Vol. 226. – №. 9. – P. 1593-1607.

40. Chen H. Hydrogen alleviates mitochondrial dysfunction and organ damage via autophagy-mediated NLRP3 inflammasome inactivation in sepsis / Chen H., Mao X., Meng X. [et al.] // *International journal of molecular medicine*. – 2019. – Vol. 44. – №. 4. – P. 1309-1324.

41. Chuang H.J. Long COVID and rehabilitation / Chuang H.J., Lin C.W., Hsiao M.Y. [et al.] // *Journal of the Formosan Medical Association*. – 2024. – Vol. 123.

– P. 61-69.

42. Cole A.R. Safety of Prolonged Inhalation of Hydrogen Gas in Air in Healthy Adults / Cole A.R., Sperotto F., DiNardo J.A. [et al.] // Critical care explorations. – 2021. – Vol. 3. – № 10. – P. 1-8.

43. Cookson, M. W. Inhaled Nitric Oxide in Neonatal Pulmonary Hypertension / Cookson, M. W., Kinsella, J. P. // Clinics in perinatology. – 2024. – Vol. 51. – № 1 – P. 95-111.

44. Coronavirus disease (COVID-19): Post COVID-19 condition // World Health Organization. URL: [https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-\(covid-19\)-post-covid-19-condition](https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-(covid-19)-post-covid-19-condition) (дата обращения: 10.11.2023).

45. COVID-19 rapid guideline: managing the long-term effects of COVID-19. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE) // National Library of Medicine. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK567261/> (дата обращения: 05.09.2024).

46. COVID-19: Clinical presentation and diagnosis of adults with persistent symptoms following acute illness ("long COVID") // UpToDate. URL: https://www.uptodate.com/contents/covid-19-clinical-presentation-and-diagnosis-of-adults-with-persistent-symptoms-following-acute-illness-long-covid?search=long%20covid&source=search_result&selectedTitle=1%7E148&usage_type=default&display_rank=1#H1200905678 (дата обращения: 03.10.2024).

47. Cucinotta D. WHO Declares COVID-19 a Pandemic / Cucinotta D, Vanelli M. // Acta bio-medica : Atenei Parmensis. – 2020. – Vol. 91. – № 1. – P. 157-160.

48. Cumpstey AF. COVID-19: A Redox Disease-What a Stress Pandemic Can Teach Us About Resilience and What We May Learn from the Reactive Species Interactome About Its Treatment / Cumpstey AF, Clark AD, Santolini J. [et al.] // Antioxidants & Redox Signaling . – 2021. – Vol. 35. – №. 14. – P. 1226-1268.

49. Davis H.E. Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations / Davis H.E., McCorkell L., Vogel J.M. [et al.] // Nature reviews.

Microbiology. – 2023. – Vol. 21. – № 3. – P. 133-146.

50. Di Fenza R. High-Dose Inhaled Nitric Oxide in Acute Hypoxemic Respiratory Failure Due to COVID-19: A Multicenter Phase II Trial / Di Fenza R., Shetty N.S., Gianni S. // American journal of respiratory and critical care medicine. – 2023. – Vol. 208. – № 12. – P. 1293-1304.

51. Fang Z. Evidence Mounts That About 7% of US Adults Have Had Long COVID / Fang Z, Ahrnsbrak R, Rekito A. // JAMA. – 2024. – Vol. 332. – № 1. – P. 5-6.

52. Farsalinos K. Smoking prevalence among hospitalized COVID-19 patients and its association with disease severity and mortality: an expanded re-analysis of a recent publication / Farsalinos K., Bagos P.G., Giannouchos T. [et al.] // Harm Reduction Journal. – 2021. – Vol. 18. – P. 1-9.

53. Fu Z. Molecular hydrogen is a promising therapeutic agent for pulmonary disease / Fu Z., Zhang J. // Journal of Zhejiang University Science. – 2022. – Vol. 23. – № 2. – P. 102-122.

54. Fukuda K., Asoh S., Ishikawa M. Inhalation of hydrogen gas suppresses hepatic injury caused by ischemia/reperfusion through reducing oxidative stress // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2007. – Vol. 361. – № 3. – P. 670-674.

55. Gao F. Reduction of Endothelial Nitric Oxide Increases the Adhesiveness of Constitutive Endothelial Membrane ICAM-1 through Src-Mediated Phosphorylation / Gao F., Lucke-Wold B.P., Li X. [et al.] // Frontiers in physiology. – 2018. – Vol. 8. – P. 1124.

56. Garelnabi M. O. Evaluation of a novel colorimetric assay for free oxygen radicals as marker of oxidative stress / Garelnabi M. O., Brown W.V., Le N-A // Clinical Biochemistry. – 2008. – Vol. 41. – № 14-15. – P. 1250-1254.

57. Gheblawi M. Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2 / Gheblawi M., Wang K., Viveiros A. [et al.] // Circulation research. – 2020. – Vol. 126. – № 10. – P. 1456-1474.

58. Gheorghita R., Soldanescu I., Lobiuc A. The knowns and unknowns of long COVID-19: from mechanisms to therapeutical approaches / Gheorghita R., Soldanescu I., Lobiuc A. [et al.] // *Frontiers in immunology* . – 2024. – Vol. 15. – P. 1-21.
59. Ghosh A. Nitric Oxide in the Management of Respiratory Consequences in COVID-19: A Scoping Review of a Different Treatment Approach / Ghosh A., Joseph B., Anil S. // *Cureus*. – 2022. – Vol. 14. – № 4. – P. 1-12.
60. Global Burden of Disease Long COVID Collaborators. Estimated Global Proportions of Individuals With Persistent Fatigue, Cognitive, and Respiratory Symptom Clusters Following Symptomatic COVID-19 in 2020 and 2021 / Global Burden of Disease Long COVID Collaborators [et al.] // *JAMA*. – 2022. – Vol. 328. – № 16. – P. 1604-1615.
61. Guan W.J. Hydrogen/oxygen mixed gas inhalation improves disease severity and dyspnea in patients with Coronavirus disease 2019 in a recent multicenter, open-label clinical trial / Guan W.J., Wei C.H., Chen A.L. [et al.] // *Journal of thoracic disease*. – 2020. – Vol. 12. – № 6. – P. 3448 - 3452.
62. Hattori Y. Vascular endotheliitis associated with infections: Its pathogenetic role and therapeutic implication / Hattori Y., Hattori K., Machida T. [et al.] // *Biochemical pharmacology*. – 2022. – Vol. 197. – P. 114909.
63. Hess D. Protein S-nitrosylation: purview and parameters / Hess D., Matsumoto A., Kim S.O. [et al.] // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2005. – Vol. 6. – P. 150–166.
64. Hikmet F. The protein expression profile of ACE2 in human tissues / Hikmet F., Méar L., Edvinsson Å. [et al.] // *Molecular systems biology*. – 2020. – Vol. 16. – № 7. – P. e9610.
65. Hillary V.E. An update on COVID-19: SARS-CoV-2 variants, antiviral drugs, and vaccines / Hillary V.E., Ceasar S.A. // *Heliyon*. – 2023. – Vol. 9. – № 3. – P. e13952.
66. Hou Z. Hydrogen-rich saline protects against oxidative damage and cognitive deficits after mild traumatic brain injury / Hou Z., Luo W., Sun X. [et al.] //

Brain research bulletin. – 2012. – Vol. 88. – № 6. – P. 560–565.

67. Hypoxic-hyperoxic training in patients with cardiovascular pathology after COVID-19 infection // ClinicalTrials.gov. URL: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05379608> (дата обращения: 01.05.2023).

68. Ignarro L.J. Inhaled NO and COVID-19 / Ignarro L.J. // British journal of pharmacology. – 2020. – Vol. 177. – № 6. – P. 3848–3849.

69. Jin, Z. Fe-porphyrin: A redox-related biosensor of hydrogen molecule / Jin, Z., Zhao, P., Gong, W. [et al.] // Nano Research. – 2023. – Vol. 16. – P. 2020 - 2025.

70. Johnsen H.M. Molecular Hydrogen Therapy-A Review on Clinical Studies and Outcomes / Johnsen H.M., Hiorth M., Klaveness J. [et al.] // Molecules. – 2023. – Vol. 28. – № 23. – P. 7785.

71. Kamenshchikov N.O. Therapeutic Effects of Inhaled Nitric Oxide Therapy in COVID-19 Patients / Kamenshchikov N.O., Berra L., Carroll R.W. [et al.] // Biomedicines. – 2022. – Vol. 10. – № 2. – P. 369.

72. Kaplish D. Comprehensive Review of Inhaled Nitric Oxide Therapy: Current Trends, Challenges, and Future Directions / Kaplish D., Vagha J.D., Meshram R.J. [et al.] // Cureus. – 2024. – Vol. 16. – № 2. – P. e53558.

73. Khor Y. H. Inhaled Nitric Oxide for Fibrotic Interstitial Lung Disease: A Step Forward / Khor Y. H., Adegunsoye A. // Annals of the American Thoracic Society. – 2022. – Vol. 19. – № 4. – P. 536–538.

74. Kircheis R. NF-κB Pathway as a Potential Target for Treatment of Critical Stage COVID-19 Patients / Kircheis R., Haasbach E., Lueftenegger D. [et al.] // Frontiers in immunology. – 2020. – Vol. 11. – P. 598444.

75. Koc H.C. Long COVID and its Management / Koc H.C., Xiao J., Liu W. [et al.] // International journal of biological sciences. – 2022. – Vol. 18. – № 12. P. 4768-4780.

76. Kruger A. Vascular Pathogenesis in Acute and Long COVID: Current Insights and Therapeutic Outlook / Kruger A., Joffe D., Lloyd-Jones G. [et al.] //

Seminars in thrombosis and hemostasis. – 2024.

77. Kurokawa R. Preventing explosions of hydrogen gas inhalers / Kurokawa R., Hirano S.I., Ichikawa Y. [et al.] // Medical gas research. – 2019. – Vol. 9. – № 3. – P. 160-162.

78. LeBaron T. W. Hydrogen: From Stars to Fuel to Medicine / LeBaron T. W., Sharpe R., Pyatakovich F. A., [et al.] // The Renin Angiotensin System in Cardiovascular Disease. – 2024. – P. 1-20.

79. Li H. Trend of research on the medical use of molecular hydrogen: a bibliometric analysis / Li H., Ma H.Y., Hua WL. [et al.] // Medical gas research. – 2023. – Vol. 13. – № 4. – P. 212-218.

80. Liu H. Combination therapy with nitric oxide and molecular hydrogen in a murine model of acute lung injury / Liu H., Liang X., Wang D. [et al.] // Shock. – 2015. – Vol. 45. – № 5. – P. 504-511.

81. Liu W. Combined early fluid resuscitation and hydrogen inhalation attenuates lung and intestine injury / Liu W., Shan L.P., Dong X.S. [et al.] // World journal of gastroenterology . – 2013. – Vol. 19. – № 4. – P. 492-502.

82. Malik P. Post-acute COVID-19 syndrome (PCS) and health-related quality of life (HRQoL)-A systematic review and meta-analysis / Malik P., Patel K., Pinto C. [et al.] // Journal of medical virology . – 2022. – Vol. 94. – № 1. – P. 253-262.

83. Maynard C. The Gut Microbiota and Ageing / Maynard C., Weinkove D. // Sub-cellular biochemistry. – 2018. – Vol. 90. – P. 351-371.

84. Mehandru S. Pathological sequelae of long-haul COVID / Mehandru S., Merad M. // Nature immunology. – 2022. – Vol. 23. – № 2. – P. 194-202.

85. Mikuteit M. Amino acids, post-translational modifications, nitric oxide, and oxidative stress in serum and urine of long COVID and ex COVID human subjects / Mikuteit M., Baskal S., Klawitter S. [et al.] // Amino Acids. – 2023. – Vol. 55. – № 2. – P. 1173–1188.

86. Molnar T. Mitochondrial dysfunction in long COVID: mechanisms, consequences, and potential therapeutic approaches / Molnar T., Lehoczki A., Fekete M. [et al.] // Geroscience. – 2024. – Vol. 46. – № 5. – P. 5267-5286.

87. Montiel V. Oxidative stress-induced endothelial dysfunction and decreased vascular nitric oxide in COVID-19 patients / Montiel V., Lobysheva I., Gérard L. [et al.] // *EBioMedicine*. – 2022. – Vol. 77. – P. 103893.
88. Nalbandian A. Post-acute COVID-19 syndrome / Nalbandian A., Sehgal K., Gupta A. [et al.] // *Nature medicine*. – 2021. – Vol. 27. – № 4. – P. 601-615.
89. Natarajan A. A systematic review and meta-analysis of long COVID symptoms / Natarajan A., Shetty A., Delanerolle G. [et al.] // *Systematic reviews*. – 2023. – Vol. 12. – № 1. – P. 88.
90. Noonong K. Mitochondrial oxidative stress, mitochondrial ROS storms in long COVID pathogenesis / Noonong K., Chatatikun M., Surinkaew S. [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2023. – Vol. 14. – № 1. – P. 1275001.
91. Ohsawa I. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals / Ohsawa I., Ishikawa M., Takahashi K. [et al.] // *Nature medicine*. – 2007. – Vol. 13 – № 6. – P. 688-694.
92. Parikh, R. Inhaled nitric oxide treatment in spontaneously breathing COVID-19 patients / Parikh, R., Wilson, C., Weinberg, J. [et al.] // *Therapeutic advances in respiratory disease*. – 2020. – Vol. 14.
93. Patell R. Postdischarge thrombosis and hemorrhage in patients with COVID-19 / Patell R., Bogue T., Koshy A. [et al.] // *Blood*. – 2020. – Vol. 136. – № 11. – P. 1342-1346.
94. Pavlatou M.G. FORT and FORD: two simple and rapid assays in the evaluation of oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus / Pavlatou M.G., Papastamataki M., Apostolakou F. [et al.] // *Metabolism*. – 2009. – Vol. 58. – № 11. – P. 1657-1662.
95. Perveen I. Hydrogen Therapy and Its Future Prospects for Ameliorating COVID-19: Clinical Applications, Efficacy, and Modality / Perveen I., Bukhari B., Najeeb M. [et al.] // *Biomedicine*. – 2023. – Vol. 11. – № 7. – P. 1892.
96. Regev-Shoshani G. Gaseous nitric oxide reduces influenza infectivity in vitro / Regev-Shoshani G., Vimalanathan S., McMullin B. [et al.] // *Nitric Oxide*. – 2013. – Vol. 31. – № 7. – P. 48–53.

97. Reynaert N.L. Nitric oxide represses inhibitory κ B kinase through S-nitrosylation / Reynaert N.L., Ckless K., Korn S.H. [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America . – 2004. – Vol. 101. – № 24. – P. 8945-8950.
98. Riou M. Mechanisms of Pulmonary Vasculopathy in Acute and Long-Term COVID-19: A Review / Riou M., Coste F., Meyer A. [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2024. – Vol. 25. – № 9. – P. 4941.
99. Roy Sarkar S. Gut microbiota in neurodegenerative disorders / Roy Sarkar S, Banerjee S. // Journal of neuroimmunology. – 2019. – Vol. 328. – P. 98–104.
100. Safaee Fakhr B. High Concentrations of Nitric Oxide Inhalation Therapy in Pregnant Patients With Severe Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) / Safaee Fakhr B., Wiegand S.B., Pinciroli R. [et al.]// Obstetrics and gynecology. – 2020. – Vol. 136. – № 6. – P. 1109-1113.
101. Sano M. Hydrogen Gas Therapy: From Preclinical Studies to Clinical Trials / Sano M., Tamura T. // Current pharmaceutical design. – 2021. – Vol. 27. – № 5. – P. 650-658.
102. Sano M. Promising novel therapy with hydrogen gas for emergency and critical care medicine / Sano M., Suzuki M., Homma K. [et al.] // Acute medicine & surgery. – 2017. – Vol. 5. – № 2. – P. 113-118.
103. Santoro L. Role of Endothelium in Cardiovascular Sequelae of Long COVID / Santoro L., Zacccone V., Falsetti L. [et al.] // Biomedicines. – 2023. – Vol. 11. – № 8. – P. 2239.
104. Scharf R.E. Post-COVID Syndrome in Adults-An Overview / Scharf R.E., Anaya J.M. // Viruses. – 2023. – Vol. 15. – № 3. – P. 675.
105. Sedgley R. Long COVID Incidence in a Large US Ambulatory Electronic Health Record System / Sedgley R., Winer-Jones J., Bonafede M. // American journal of epidemiology. – 2023. – Vol. 192. – № 8. – P. 1350-1357.
106. Shei R.J. More questions than answers for the use of inhaled nitric oxide in COVID-19 / Shei R.J., Baranauskas M.N. // Nitric Oxide. – 2022. – Vol. 124. – № 8. – P. 39-48.

107. Shinbo T. Breathing nitric oxide plus hydrogen gas reduces ischemia-reperfusion injury and nitrotyrosine production in murine heart / Shinbo T., Kokubo K., Sato Y. [et al.] // American journal of physiology. Heart and circulatory physiology. – 2013. – Vol. 305. – № 4. – P. 542-550.
108. Siddiqi H.K. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: a clinical-therapeutic staging proposal / Siddiqi H.K., Mehra M.R. // Journal Heart Lung Transplant. – 2020. – Vol. 39. – № 5. – P. 405-407.
109. Signori D. Inhaled nitric oxide: role in the pathophysiology of cardio-cerebrovascular and respiratory diseases / Signori D., Magliocca A., Hayashida K. [et al.] // Intensive care medicine experimental. – 2022. – Vol. 10. – № 1. – P. 28.
110. Şimşek-Yavuz S. COVID-19: An Update on Epidemiology, Prevention and Treatment // Infectious diseases & clinical microbiology. – 2023. – Vol. 5. – № 3. – P. 165-187.
111. Sk Abd Razak R. Post-COVID syndrome prevalence: a systematic review and meta-analysis. / Sk Abd Razak R., Ismail A., Abdul Aziz A.F. [et al.] // BMC public health. – 2024. – Vol. 24. – № 1. – P. 1785.
112. Tamminen P.J. Nasal nitric oxide is decreased in acute mild COVID-19 and related to viral load / Tamminen P.J., Kerimov D.M., Viskari H [et al.] // Journal of breath research . – 2022. – Vol. 16. – № 4.
113. Turner S. Long COVID: pathophysiological factors and abnormalities of coagulation / Turner S., Khan M.A., Putrino D. [et al.] // Trends in endocrinology and metabolism: TEM. – 2023. – Vol. 36. – № 4. – P. 321-344.
114. Wang Y. A comprehensive investigation of the mRNA and protein level of ACE2, the putative receptor of SARS-CoV-2, in human tissues and blood cells / Wang Y., Wang Y., Luo W. [et al.] // International journal of medical sciences. – 2020. – Vol. 17. – № 11. – P. 1522–1531.
115. Wang Y. Hydrogen improves cell viability partly through inhibition of autophagy and activation of PI3K/Akt/GSK3 β signal pathway in a microvascular endothelial cell model of traumatic brain injury / Wang Y., Wang L., Hu T. [et al.] // Neurological research. – 2020. – Vol. 42. – № 6. – P. 487–496.

116. Wang, E.Y. Diverse functional autoantibodies in patients with COVID-19 / Wang, E.Y., Mao, T., Klein, J. [et al.] // *Nature*. – 2021. – Vol. 595. – P. 283–288.
117. WHO COVID-19 dashboard // World Health Organization. URL: <https://data.who.int/dashboards/covid19/variants> (дата обращения: 03.10.2024).
118. Wolak T. A safety evaluation of intermittent high-dose inhaled nitric oxide in viral pneumonia due to COVID-19: a randomised clinical study / Wolak T., Dicker D., Shifer Y. [et al.] // *Scientific reports*. – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 17201.
119. Xiao S. The Potential Role of Nitric Oxide as a Therapeutic Agent against SARS-CoV-2 Infection / Xiao S., Yuan Z., Huang Y. // *International journal of molecular sciences*. – 2023. – Vol. 24. – № 24. – P. 17162.
120. Xu S.W. Endothelial dysfunction in COVID-19: An overview of evidence, biomarkers, mechanisms and potential therapies / Xu S.W., Ilyas I., Weng J.P. // *Acta pharmacologica Sinica*. – 2023. – Vol. 44. – № 4. – P. 695-709.
121. Yao L. Hydrogen-rich saline alleviates inflammation and apoptosis in myocardial I/R injury via PINK-mediated autophagy / Yao L., Chen H., Wu Q. [et al.] // *International journal of molecular medicine*. – 2019. – Vol. 44. – № 3. – P. 1048-1062.
122. Yong S.J. Long COVID or post-COVID-19 syndrome: putative pathophysiology, risk factors, and treatments // *Infectious diseases (London, England)*. – 2021. – Vol. 53. – № 10. – P. 737-754.
123. Yu B. Inhaled nitric oxide / Yu B., Ichinose F., Bloch D.B. [et al.] // *British journal of pharmacology*. – 2019. – Vol. 176. – № 2. – P. 246-255.
124. Yuan T. Hydrogen applications: advances in the field of medical therapy / Yuan T., Zhao J.N., Bao N.R. // *Medical gas research*. – 2023. – Vol. 13. – № 3. – P. 99-107.
125. Zmora N. You are what you eat: diet, health and the gut microbiota / Zmora N., Suez J., Elinav E. // *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*. – 2019. – Vol. 16. – № 1. – P. 35-56.
126. Zhang H. Data-driven identification of post-acute SARS-CoV-2 infection subphenotypes. / Zhang H., Zang C., Xu Z. [et al.] // *Nat Med*. – 2023. – № Vol. 29 – №1. – P. 226.