

Атажахова Маргарита Галимовна

**ПРОГРАММА КОМПЛЕКСНОЙ ДИАГНОСТИКИ ДИСФУНКЦИЙ
НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С
ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С
АКТИВАЦИЕЙ ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

3.2.7. Иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2025

Работа выполнена на кафедре клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Нестерова Ирина Вадимовна

Официальные оппоненты:

Балмасова Ирина Петровна - доктор медицинских наук, профессор; заслуженный деятель науки РФ; ведущий научный сотрудник лаборатории медико-биологических исследований научно-исследовательского медицинского стоматологического института Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Калюжин Олег Витальевич - доктор медицинских наук, профессор; профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «19» ноября 2025 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.029 при Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования "Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы" по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале УНИБЦ (Научная библиотека) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6) и на сайте <https://www.rudn.ru/science/dissovet/dissertacionnye-sovety/pds-0300029>.

Автореферат разослан «____» _____ 2025 года

Ученый секретарь

диссертационного совета ПДС 0300.029,

кандидат медицинских наук, доцент

Чернолев Анна Ильинична

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Вспышка нового инфекционного заболевания COVID-19, начавшаяся в декабре 2019 года, стала глобальной чрезвычайной ситуацией в сфере общественного здравоохранения, имеющей статус международного значения (WHO, 30.01.2020) и была признана пандемией 11 марта 2020 года (WHO, 11.03.2020). Впоследствии 5 мая 2023 года ВОЗ объявила об окончании чрезвычайной ситуации в области здравоохранения, вызванной COVID-19 (WHO, 05.05.2023). Новым вызовом практическому и научному сообществам стало состояние пациентов, которое развивается после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции и осложняется развитием постковидного синдрома (ПКС), который отмечается у 10-20% реконвалесцентов и затрагивает множество органов и систем, оказывая негативное влияние на качество жизни пациентов.

ПКС проявляется разнообразными неспецифическими симптомами, при этом наиболее частыми жалобами являются одышка, усталость, трудности с переносимостью физических нагрузок, проблемы с концентрацией внимания, а также когнитивные и эмоциональные расстройства, что приводит к социальной дисфункции. Симптомы могут варьировать, рецидивировать, сохраняться с момента первичного заражения или возникнуть впервые после перенесенного заболевания (WHO, 2021). Пациенты с ПКС на протяжении всей последующей жизни подвержены инфекциям, как острым, так и хроническим, склонным к реактивации при любой стрессовой ситуации (Ковальчук В.В. и др., 2022). Наиболее часто ПКС сопровождается реактивацией хронических активных герпесвирусных инфекций (ГВИ), проявляющихся, в том числе, когнитивными дисфункциями и синдромом хронической усталости (СХУ) и оказывающих значительное негативное влияние на повседневную жизнь и ее продуктивность.

Было предложено несколько гипотез патогенеза ПКС, в том числе, персистирующие резервуары SARS-CoV-2 в тканях (Fernández-de-Las-Peñas C. et al., 2021), микрососудистое свертывание крови с эндотелиальной дисфункцией, нарушенная передача сигналов в стволе мозга и/или блуждающем нерве, негативное воздействие SARS-CoV-2 на микробиоту, иммунная дисрегуляция (Klein J. et al., 2022; Haffke M. et al., 2022; Pretorius E. et al., 2022).

Нейтрофильные гранулоциты (НГ) занимают ключевую роль в уничтожении инфекционных патогенов (Нестерова И.В. и др., 2017), применяя различные интра- и экстрацеллюлярные механизмы (Нестерова И.В. и др., 2018; Urban C. et al., 2019). Они образуют активные формы кислорода (АФК) и нейтрофильные внеклеточные ловушки (neutrophilic extracellular traps - NETs), состоящие из гистонов и ДНК, а также вырабатывают про- и противовоспалительные цитокины и протеазы (Brinkmann V., 2018; De Bont C. et al., 2019; Schönrich G. et al., 2016). Многочисленными исследованиями была доказана важная роль НГ в иммунопатогенезе COVID-19. Убедительно доказано, что развитие иммунотромбозов, возникновение тяжелого острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и нарушений

свертывания крови в острый период COVID-19 ассоциированы с усилением нетоза (Davis E. et al, 2023; Turner S., et al, 2023). Также представлены данные, о том, что NETs и их компоненты в сыворотке крови пациентов могут обнаруживаться в течение 6 месяцев после перенесенного COVID-19 (Pisareva E. et al., 2023).

Однако, в настоящее время недостаточно данных о состоянии иммунной системы (ИС) и особенностях функционирования НГ у пациентов с ПКС. Учитывая характер и сложность состояний, возникающих у пациентов после COVID-19, сопровождающихся реактивацией хронических активных ГВИ, необходимы дополнительные исследования по изучению иммунопатологических процессов, для обоснования и дальнейшей разработки новых терапевтических стратегий. В связи с вышеизложенным, разработка программы комплексной диагностики дисфункций НГ у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ, является в настоящее время чрезвычайно перспективной и актуальной.

Степень разработанности темы исследования

Последствия пандемии COVID-19 и гетерогенность клинических проявлений ПКС явились стимулом для изучения состояния ИС и уточнения функционирования НГ в постковидном периоде. Широко исследуются факторы иммунопатофизиологии развития ПКС, что необходимо для понимания возникающих хронических состояний после перенесенного COVID-19 (Gusev E. et al, 2024; Low R. et al, 2023). При этом проблемой остаются ограниченные исследования по методам раннего выявления факторов риска развития ПКС и стратегиям иммунотерапевтического воздействия на данное состояние, что подчеркивает необходимость разработки новых клиничко-диагностических маркеров.

Установлено, что пациенты с ПКС чаще предъявляют жалобы на выраженные проявления СХУ и стойкие когнитивные расстройства (КР), оказывающие негативное влияние на качество жизни пациентов (Ковальчук В.В. и др., 2022; Neufeld K. et al, 2023). Имеются многочисленные доказательства связи СХУ с перенесенной SARS-CoV-2 инфекцией, при этом вероятными этиологическими факторами поствирусного СХУ с формированием нейроиммуновоспаления, протекающим на фоне разнообразных нарушений ИС выделяют ассоциированную с ПКС активацию таких хронических ГВИ, как ВЭБ, ВЧГ6 и ЦМВ (Campen C. et al., 2023; Tokumasu K. et al., 2022; Brogna C. et al., 2022).

В остром периоде COVID-19 выявляются нарушения в функционировании системы НГ: повышение количества НГ, выработка АФК и формирование NETs, которые вызывают повреждение тканей (Кассина Д. В. и др. 2020; Ruan Q. et al, 2020; Masso-Silva J. et al, 2022). Показано, что дефекты эффекторных функций НГ, трансформация субпопуляций, экспрессирующих рецепторы к IFN I (IFN α /IFN β) и II типов (IFN- γ - CD119), дисбаланс цитокинов и дефицит IFN α и/или IFN γ предполагают, незавершенность иммуновоспалительного процесса и сигнализируют

о риске возникновения ПКС (Городин В.Н. и др., 2023; Нестерова И.В. и др., 2024; Матушкина В.А., 2024), в том числе, ассоциированного с активацией ГВИ (Нестерова И.В., Халтурина Е.О., 2023).

Изучение дисфункций НГ на молекулярном уровне, и разработка программы комплексной диагностики нарушений функционирования НГ для пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ, представляет несомненный теоретический и практический интерес.

Цель исследования

Разработать программу комплексной диагностики дисфункций нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.

Задачи исследования

1. На базе проведения ретроспективного анализа данных историй болезни пациентов, перенесших подтвержденную SARS-CoV-2 инфекцию разработать новые диагностические критерии, позволяющие прогнозировать формирование постковидного синдрома и оценивать тяжесть его течения.
2. Исследовать особенности частоты встречаемости различных герпесвирусных инфекций у пациентов с постковидным синдромом.
3. У пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией различных герпесвирусных инфекций, уточнить наличие критериальных признаков иммунокомпрометированности с использованием модифицированной шкалы-опросника.
4. Оценить состояние эффекторных функций и фенотипическую характеристику субпопуляций $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^-CD119^+$, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$ нейтрофильных гранулоцитов, а также особенности профиля сывороточных нейтрофил-ассоциированных цитокинов у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.
5. Исследовать в эксперименте *in vitro* эффекты влияний иммуотропных препаратов: рекомбинантного $IFN\alpha 2b$ и синтетического тимического гексапептида аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина на эффекторные функции и фенотип субпопуляций $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^-CD119^+$, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$ нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.
6. Разработать алгоритм комплексной клиничко-лабораторной диагностики дисфункций нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.

Научная новизна исследования

1. Разработаны новые диагностические и прогностические критерии: «Интеграционный диагностический показатель прогноза развития постковидного синдрома» и «Интеграционный

диагностический критерий прогноза тяжести течения постковидного синдрома», позволяющие прогнозировать формирование постковидного синдрома и оценивать тяжесть его течения.

2. Получены новые данные, свидетельствующие об активации микст ГВИ у пациентов с ПКС.

3. Для уточнения наличия критериев иммунокомпрометированности впервые использована модифицированная шкала-опросник для пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ.

4. Впервые выявлены дисрегуляторные нарушения эффекторных функций, фенотипов субпопуляций НГ $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$, а также изменения уровня сывороточных нейтрофил-ассоциированных цитокинов у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ.

5. В эксперименте *in vitro* получены новые данные об особенностях влияний иммуотропных субстанций рекомбинантного $IFN\alpha 2b$ и синтетического тимического гексапептида на фенотип субпопуляций $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$ и эффекторные функции НГ у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ.

6. Разработан алгоритм комплексной клинико-лабораторной диагностики дисфункций НГ у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ.

Теоретическая и практическая значимость

При проведении ретроспективного анализа пациентов, выписанных из стационара в соответствии с критериями, актуальными на момент исследования "Временных клинических рекомендациях по диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции» были выявлены, диагностически значимые лабораторные изменения (лейкоцитоз, нейтрофилез, лимфопения, повышенный СРБ), а также клинические проявления (слабость, потливость, боль в груди, одышка, непереносимость физической нагрузки, снижение работоспособности и т.д.), что с высокой вероятностью сопровождалось развитием ПКС в постковидном периоде.

Уточнены молекулярные механизмы и выявлены различные нарушения в функционировании системы НГ у пациентов с ПКС: дефекты эффекторных функций и негативная трансформацией субпопуляций, которые экспрессируют рецепторы к $IFN\alpha/\beta$ и $IFN\gamma$: $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$ НГ, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$ НГ, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$, а также, в ряде случаев, гиперактивация НГ, о чем свидетельствовало появление в периферической крови НГ, сформировавших NETs и НГ вошедших в апоптоз.

Выявлен дисбаланс нейтрофил-ассоциированных цитокинов: повышение уровня $IL1\beta$, $IL8$, $IL6$ и $IL17$ на фоне дефицита сывороточных $IFN\alpha$ и $IFN\gamma$, сочетающихся с активацией различных ГВИ, таких как ВЭБ, ВПГ1/2, ВЧГ6, ЦМВ в микст вариациях, что расширяет представление о механизмах иммунопатогенеза ПКС. Дисрегуляторные изменения цитокинового профиля способствуют возникновению длительного нетипично протекающего

воспаления и косвенно являются основополагающими факторами в развитии нейрои́ммуновоспаления у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ.

Практическую значимость представляет собой модифицированная шкала-опросник (Нестерова И.В. и др., 2022) для диагностики и выявления тяжести клинических проявлений ПКС в баллах, что позволяет выявить группу пациентов с наиболее вероятной активацией ГВИ и отдаленными последствиями перенесенного COVID-19.

Разработанные и зарегистрированные в Роспатенте в качестве компьютерных программ для ЭВМ комплексные расчетные лабораторные маркеры, ИДП-ПКС (свидетельство о регистрации № 2024661675 от 21.05.2024 г.) и ИДК-ПКС (свидетельство о регистрации: №2024666662 от 15.07.2024 г.) могут быть применены в клинической практике, поскольку позволяют выявить возможность развития ПКС после перенесенного заболевания COVID-19 и оценить тяжесть течения ПКС.

Результаты, полученные в системе *in vitro*, продемонстрировали положительные иммуномодулирующие эффекты рекомбинантного IFN α 2b (рекIFN α 2b) и синтетического тимического гексапептида (ГП) на негативно трансформированный фенотип субпопуляций и эффекторные функции НГ, что позволит в дальнейшем использовать полученные данные для разработки новых подходов к применению таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии в комплексном лечении пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ. Разработан алгоритм клинико-лабораторной диагностики дисфункций НГ пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ, что имеет значение для клинической практики.

Методология и методы исследования

Работа соответствует требованиям биомедицинской этики, одобрена локальным независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России протокол № 93 от 13.10.2020 г. Методология базируется на общенаучных подходах, анализе отечественной и зарубежной литературы, что определило степень разработанности, актуальности темы и позволило сформулировать цель и задачи. Для решения поставленных задач проведено ретроспективное и проспективное когортное исследование, в котором использовался анализ собственных результатов общеклинических, биохимических, молекулярных (ПЦР), и иммунологических исследований пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ, разработаны лабораторные прогностические и диагностические маркеры ПКС в качестве компьютерных программ для ЭВМ.

Положения, выносимые на защиту

1. Ретроспективный анализ данных 1000 историй болезни пациентов, перенесших подтвержденную SARS-CoV-2 инфекцию и результаты клинико-лабораторных исследований 60 пациентов с подтвержденным постковидным синдромом явились основой для создания новых прогностического и диагностического критериев: «Интеграционный диагностический показатель прогноза развития постковидного синдрома» (ИДП-ПКС) и «Интеграционный

диагностический критерий прогноза тяжести течения постковидного синдрома» (ИДК-ПКС), позволяющих, как прогнозировать формирование постковидного синдрома, так и оценивать тяжесть его течения.

2. В основе иммунопатогенеза постковидного синдрома, ассоциированного с активацией герпесвирусных инфекций лежат нарушения противовирусной защиты: дефектность эффекторных и регуляторных функций нейтрофильных гранулоцитов, негативная трансформация их функционально-значимых субпопуляций $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$ и отсутствие субпопуляции $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$, циркуляция в периферической крови повышенного количества нейтрофильных гранулоцитов, вошедших в апоптоз и сформировавших нейтрофильные экстрацеллюлярные сети – NETs на фоне дефицита сывороточных $IFN\alpha$ и $IFN\gamma$, дисбаланса нейтрофил-ассоциированных сывороточных цитокинов.

3. Рекомбинантный $IFN\alpha 2b$ и синтетический тимический гексапептид аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин в эксперименте *in vitro* продемонстрировали различные позитивные иммуномодулирующие эффекты, способствующие восстановлению эффекторных и регуляторных функций, а также фенотипических характеристик субпопуляций $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$ нейтрофильных гранулоцитов пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.

4. Созданный алгоритм комплексной клинико-лабораторной диагностики дисфункций нейтрофильных гранулоцитов при постковидном синдроме, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций, включает также разработанные *de novo* лабораторные прогностические и диагностические маркеры: интеграционный диагностический показатель – ИДП-ПКС и интеграционный диагностический критерий – ИДК-ПКС, которые позволяют предсказать формирование постковидного синдрома, а также оценить степень его тяжести.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность научных положений и выводов определяется достаточным количеством обследованных пациентов, группы сформированы в соответствии с критериями включения и не включения, использованы современные и корректные статистические методы, что обеспечивает надежность результатов. Применяемые клинические, иммунологические и культуральные методы исследования соответствуют установленной цели и задачам, обеспечивая логичность и обоснованность выводов и практических рекомендаций.

Материалы диссертации представлены на: 8-ой Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (г. Сочи, 26.10–29.10.2021г.); 15-ой научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России» (г. Краснодар, 19.05–20.05.2022г.); 8-ой научно-практической школе-конференции «Аллергология, и клиническая иммунология» (г. Сочи, 02.10–08.10.2022); 3-м объединенном научном форуме физиологов,

биохимиков и молекулярных биологов (г. Сочи, 03.10-07.10.2022 г.); 9-й научно-практической школе-конференции «Аллергология, клиническая иммунология и инфектология для практикующих врачей» (г. Сочи 01.10-07.10.2023); 1-м Евразийском международном форуме «Адаптивная медицинская иммунология: реалии и перспективы» (г. Москва, 17.11-18.11.2023 г.); Объединенном иммунологическом форуме – 2024 (Пушкинские Горы, 29.06-04.07.2024 г.).

Апробация проведена на межкафедральном совещании ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, протокол № 14а от 01.07.2025 г.

Личный вклад автора

Автор диссертационного исследования принимал активное участие на всех этапах, проводил анкетирование и иммунологическое обследование пациентов, лично выполнял экспериментальную часть, а также анализ и статистическую обработку собранных данных. При этом под руководством научного руководителя была разработана методология и дизайн исследования, а также создан алгоритм комплексной диагностики дисфункций НГ при ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ. Текст диссертации и его оформление были осуществлены самим автором под руководством и контролем научного руководителя.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследований были успешно внедрены в учебный процесс кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ МЗ РФ, кафедры физиологии и клинической патологии ФГБОУ ВО МГТУ через проведение лекций и семинаров для студентов, ординаторов, аспирантов и слушателей циклов повышения квалификации по фундаментальной и клинической иммунологии, клинической лабораторной диагностике.

Разработанный алгоритм комплексной диагностики дисфункций НГ у пациентов с ПКС применяется в научно-диагностической работе ЦНИЛ ФГБОУ ВО КубГМУ (г. Краснодар). Разработанные программы для ЭВМ внедрены в лечебно-диагностическую работу терапевтов и врачей общей практики на амбулаторном этапе оказания лечебно-профилактической помощи в учреждениях ГБУЗ Республики Адыгея «ЦРБ Майкопского района» (г. Майкоп).

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературных источников. Текст изложен на 171 странице, иллюстрирован 12 таблицами и 17 рисунками. Список литературы содержит 316 источников, из них 33 отечественных и 283 зарубежных авторов.

Публикации по теме диссертационной работы

Результаты диссертационного исследования опубликованы в 13 научных работах: 1 статья в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК по специальности 3.2.7.

Иммунология, 7 статей в научных изданиях, входящих в базы данных SCOPUS, 3 тезисов в сборниках научно-практических конференций. По результатам исследования получены 2 свидетельства о государственной регистрации программ для ЭВМ: № 2024661675 «Показатель прогноза развития постковидного синдрома» - ИДП-ПКС, и №2024666662 «Критерий прогноза тяжести течения постковидного синдрома» - ИДК-ПКС.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Диссертационное исследование выполнено в период с 2020 - 2024 гг. на кафедре клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики, отделе клинко-экспериментальной иммунологии ЦНИЛ ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России и на базе ГБУЗ РА "Центральная районная больница Майкопского района". Проведение исследования одобрено независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол № 93 от 13.10.2020 г.).

Проведено исследование 120 человек в возрасте 18-65 лет, которые были поделены на две группы: 60 условно здоровых добровольцев - группа сравнения (ГС) и 60 пациентов после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции давностью от 3 до 6 месяцев с наличием характерных жалоб и клинических проявлений ПКС - группа исследования (ГИ) (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Дизайн исследования

В качестве объекта исследования использовали данные историй болезни, выписных эпикризов и амбулаторных карт, временные методические рекомендации и протоколы по лечению пациентов с новой коронавирусной инфекцией актуальные на момент исследования, периферическую кровь (ПК) пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию, образцы слюны, соскобов с миндалин и задней стенки глотки (Таблица 1).

Таблица 1 – Структура объектов исследования и проведенных исследований

Группы Возраст 18-65 лет	Количество пациентов	Проведенные исследования	Кол-во исследований
		Методы исследования	
Ретроспективная группа	1000	Изучение медицинской документации: данные историй болезни, выписных эпикризов и амбулаторных карт. Анализ протекания особенностей инфекционного процесса COVID-19 в остром периоде и в период реконвалесценции. Наличие хронических заболеваний и синдромов, выявление симптомов постковидного синдрома	1000
Проспективная группа: пациенты, перенесшие подтвержденную SARS-CoV-2 инфекцию	60		60
Условно-здоровые добровольцы (группа сравнения)	60	Гемограмма	120
		Определение фагоцитарной и микробицидной активности НГ, NETs, и клеток в апоптозе	360
		Определение цитокинов IL1 β , TNF α , IL4, IL6, IL8, IL10, IL17A, IL18, IFN α , IFN γ	1200
		Содержание общего количества иммуноглобулинов (A, M, G)	360
	60	Исследование функционально-значимых мембранных рецепторов субпопуляций НГ с уточнением уровня их экспрессии: CD16 ⁺ IFN α / β R1 ⁻ CD119 ⁺ , CD16 ⁺ IFN α / β R1 ⁺ CD119 ⁻ , CD16 ⁺ IFN α / β R1 ⁺ CD119 ⁺	360
Пациенты, перенесшие SARS-CoV-2 инфекцию (группа исследования)	60	Детекция генома герпесвирусов ВЭБ, ЦМВ, ВЧГ6, ВЧГ8, ВПГ1/2 (слюна, соскоб с миндалин/задней стенке глотки)	190
		Выявление антител герпесвирусных инфекций - IgG к антигенам VCA ВЭБ, EBNA ВЭБ, ВЧГ6, ВЧГ8, ЦМВ, ВПГ1/2 типов	360
		Серодиагностика перенесенного COVID-19 - IgG, IgM, IgA к SARS-CoV-2	180
Пациенты, перенесшие SARS-CoV-2 инфекцию (группа исследования)	60	Изучение влияния иммунотропного ГП и рекIFN α 2b на плотность экспрессии функционально-значимых мембранных рецепторов и количество НГ: CD16 ⁺ IFN α / β R1 ⁻ CD119 ⁺ , CD16 ⁺ IFN α / β R1 ⁺ CD119 ⁻	360
		Определение фагоцитарной и микробицидной активности НГ, NETs, и клеток в апоптозе	360
Всего			4910

Критерии включения пациентов в исследование:

Возраст пациентов от 18 до 65 лет; пациенты обоего пола, перенесшие подтвержденную SARS-CoV-2 инфекцию; наличие у пациентов в остром периоде COVID-19 положительного результата лабораторного исследования на наличие РНК SARS-CoV-2, характерных изменений в легочной ткани по данным лучевых исследований органов грудной клетки и клинических жалоб на различные проявления ПКС; информированное согласие пациента, а также условно-здоровых добровольцев на исследование ПК, взятие образцов слюны, соскобов с миндалин и задней стенки глотки, работу с данными историй болезни, выписных эпикризов и амбулаторных карт.

Критерии исключения пациентов из исследования:

Возраст до 18 и более 65 лет; пациенты, страдающие от хронических заболеваний в стадии суб- и декомпенсации, включая патологию эндокринной, пищеварительной и дыхательной систем, почек и других внутренних органов, а также аутоиммунные расстройства; пациенты, проходящие лечения иммуносупрессивной терапией; пациенты с аллергическими заболеваниями в анамнезе, такими как бронхиальная астма, поллиноз, аллергический риноконъюнктивит, крапивница, атопический дерматит; пациенты в остром периоде инфекционных заболеваний; отказ пациента от проведения исследования.

Концентрации IFN α , IFN γ , цитокинов определяли методом ИФА, анализатор «StatFax 4200» (США), тест-системы (Вектор Бест, Россия). Содержание субпопуляций НГ и плотность экспрессии рецепторов по интенсивности флуоресценции (MFI) - на Cytomics FC-500 («Beckman Coulter», США). Фагоцитарная функция НГ тестировалась с учетом степени завершенности по отношению к *S.aureus*. Определяли долю активно-фагоцитирующих НГ (%ФАН); объем захвата – фагоцитарное число (ФЧ) и фагоцитарный индекс (ФИ); киллинговую активность – процент переваривания (%П) и индекс переваривания(ИП). NADPH-оксидазную активность оценивали в NBT тесте (спонтанном и стимулированном) по среднему цитохимическому индексу (СЦИ) и по доле формазан позитивных клеток (%ФПК).

Оценка влияния иммунотропных субстанций рекIFN α 2b и ГП на субпопуляции и функции НГ проводилось культуральными методами *in vitro*, ламинар Mars 1500 («Scanlaf», Дания), CO₂–инкубатор «New Brunswick Scientific Galaxy 170S» (Великобритания).

Статистическая обработка данных

Для анализа данных применялись математические методы, интегрированные в программные продукты Microsoft Excel 2016 и StatPlus 2017. Проверка данных на соответствие нормальному распределению осуществлялась с использованием критериев Шапиро–Уилка. В результате анализа были отобраны методы непараметрической статистики, результаты которых представлены через медиану (Me), охватывающую центральные 50% данные выборки, и интервал (Q1-Q3), который показывает разброс между 25-м и 75-м процентиями. Для оценки

значимости различий в независимых выборках использовался U-критерий Манна-Уитни, а для зависимых выборок применялся критерий Вилкоксона. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости менее 0,05 ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения клинико-анамнестических особенностей пациентов, страдающих ПКС, была использована модифицированная шкала-опросник позволяющая, выявить ведущие клинические критериальные признаки СХУ, КР и иммунокомпрометированности (Таблица 2).

Таблица 2 - Выраженность клинических проявлений ПКС у пациентов, перенесших COVID-19 (в баллах) (Me (Q1;Q3))

Симптомы ПКС	Группа сравнения (ГС), n=60	Пациенты с ПКС (ГИ), n=60
Синдром хронической усталости, непереносимость физической нагрузки, снижение работоспособности	0,5 (0,1; 1,0)	3,0 (2,0; 3,0)*
Снижение процессов запоминания, трудности с концентрацией внимания, ощущение тумана в голове	0,0 (0,0; 0,0)	3,0 (3,0; 3,0)*
Головная боль, головокружение, мигрень	0,5 (0,1; 1,0)	2,0 (2,0; 3,0)*
Артралгии, миалгии	0,0 (0,0; 0,0)	2,0 (1,0; 3,0)*
Панические атаки, расстройства настроения, эмоциональная лабильность, психогенная депрессия	0,0 (0,0; 0,0)	2,0 (2,0; 2,0)*
Нарушения засыпания и сна	0,0 (0,0; 0,0)	2,0 (1,5; 2,0)*
Повышенная потливость, субфебрилитет	0,0 (0,0; 0,0)	1,0 (1,0; 1,5)*
Кашель и одышка	0,0 (0,0; 0,0)	1,0 (0,5; 1,5)*
Частота обострений герпесвирусных инфекций 3 и более раз в год	0,0 (0,0; 0,0)	1,0 (0,5; 1,5)*
Общее кол-во баллов	1,0 (0,5; 2,0)	17,0 (13,5; 20,5)*
* значимость отличий от показателей группы сравнения; $p < 0,05$		

Согласно анкетированию наиболее выраженными признаками в ГИ, которые отмечались в 100% случаев и имели разную степень выраженности, являлись: ощущение признаков СХУ, непереносимость физической нагрузки, снижение работоспособности, повышенная утомляемость, когнитивные нарушения в виде снижения процессов запоминания, трудности с концентрацией внимания, ощущение «тумана в голове», панические атаки и психогенная депрессия, нарушения процессов сна и засыпания, головная боль, головокружение. У 75% пациентов возникали периодически повышенная потливость и субфебрилитет, артралгии и миалгии, 33% отмечали клинические проявления ГВИ - ВПГ 1/2 типа, а в 18% случаев длительно сохранялись кашель и одышка.

Выявление этиологической структуры ГВИ (ВПГ1/2, ВЭБ, ЦМВ, ВЧГ6, ВЧГ8) путем детекции генома определило различные варианты микст ГВИ, а частота встречаемости была следующей: ВЭБ + ВЧГ6 – 5 %; ВЭБ + ВПГ1/2 – 28,4 %; ВЭБ + ВЧГ6 + ВПГ1/2 – 33,3 %; ВЭБ + ВЧГ6 + ВЧГ8 + ВПГ1/2 + ЦМВ - 33,3 % случаев (Рисунок 2). У пациентов с микст ГВИ, имеющих детекцию 3 и более вирусов герпеса, с доминированием во всех группах ВЭБ, наблюдались наиболее выраженные и стойкие клинические проявления ПКС, среди которых лидирующее

место занимали длительные ощущения СХУ и КР, а выраженность симптомов составила 19,0 (17,0; 21,0) баллов.

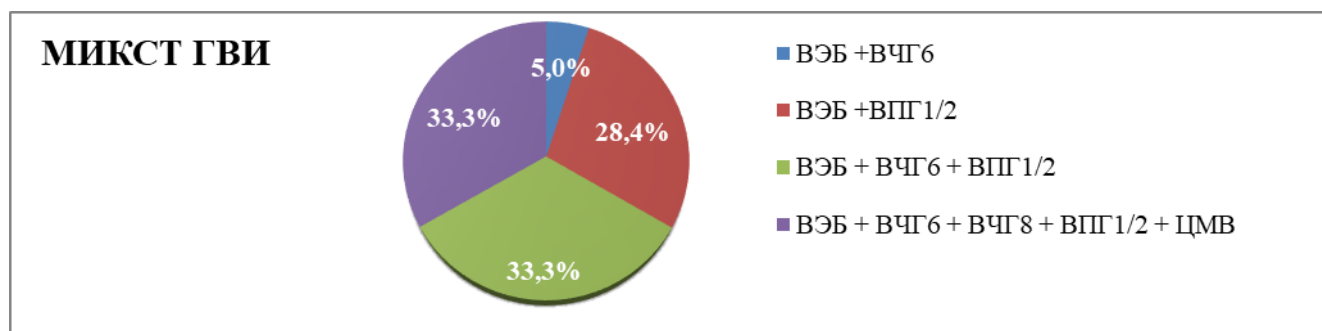


Рисунок 2 - Этиологическая структура ГВИ у пациентов с ПКС

Ведущей особенностью патогенеза ГВИ является активная репликация ВЭБ, ВЧГ6, ВПГ1/2, ЦМВ, ВЧГ8, которая может отмечаться даже в момент отсутствия клинических проявлений инфекционного заболевания. Установленная высокая частота ассоциированности ГВИ с ПКС имеет большое прогностическое и диагностическое значение, а также определяет выбор дальнейшей лечебной тактики.

Изучение нарушений противовирусной иммунной защиты в контексте иммунокомпрометированности и роли ГВИ в развитии ПКС выявило различные варианты негативной трансформации фенотипа субпопуляций НГ, связанные с дефектами эффекторных функций НГ. У пациентов с ПКС на фоне микст ГВИ отмечается трансформация фенотипа субпопуляций НГ, несущих рецепторы к IFN α и IFN γ и активационный рецептор CD16, отвечающий за цитотоксичность НГ по отношению к инфицированным вирусами клеткам (Рисунок 3).

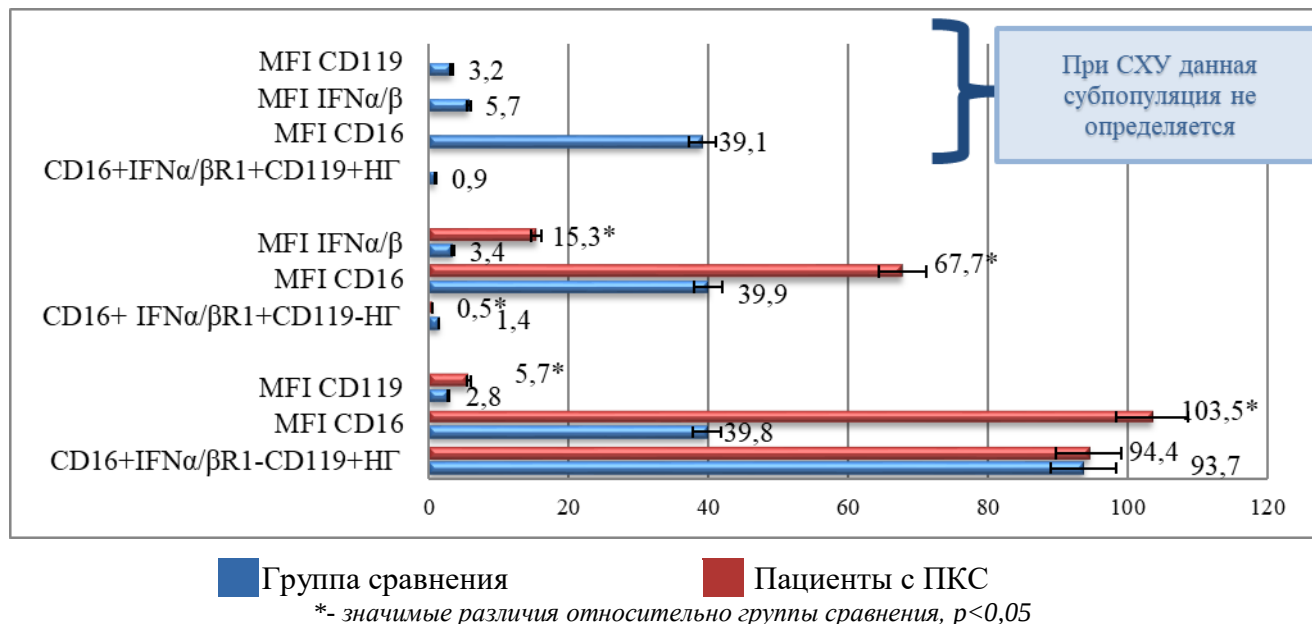


Рисунок 3 - Количественные и фенотипические особенности субпопуляций НГ, экспрессирующих рецепторы к IFN I и II типов и маркерный рецептор CD16 у пациентов с ПКС

Выявлено статистически значимое повышение MFI рецепторов на НГ субпопуляций CD16⁺IFN α/β R1⁺CD119⁺НГ и CD16⁺IFN α/β R1⁻CD119⁺НГ, демонстрирующих готовность к

восприятию цитокиновых сигналов и ответа на них. Особенностью ГИ явилось отсутствие субпопуляции $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$, которая регистрируется в ГС и не определяется у пациентов с СХУ при ПКС. Только у 3 пациентов с микст ГВИ регистрировались 0,3% НГ субпопуляции $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$ с повышенными в 1,8 раз MFI $IFN\alpha/\beta R1$, в 6 раз $CD119$ и в 1,4 раза $CD16$ по отношению к значениям ГС ($p_{1,2}<0,05$) (Рисунок 3). Оценка функционального потенциала НГ при ПКС выявила снижение в 1,3 раза %ФАН, в 1,4 раза %П и в 2,9 раза ИП ($p_{1,2}<0,05$). При этом отмечалось напряжение NADPH-оксидаз и истощение оксидантного микробицидного потенциала при дополнительной нагрузке *S.aureus*.

Установлено, что у пациентов с ПКС, сопровождающимся характерными осложнениями с формированием СХУ, КР и активацией ГВИ, отмечается повышение в ПК НГ, образующих NETs, и клеток в апоптозе. На основе подсчета их доли на 100% НГ нами был разработан новый интеграционный диагностический критерий (ИДК), который зарегистрирован в качестве программы для ЭВМ, как «Критерий прогноза тяжести течения постковидного синдрома» ИДК-ПКС (свидетельство о регистрации: №2024666662 от 15.07.2024 г.) (Рисунок 4).



Рисунок – 4. Алгоритм ИДК-ПКС

Данный критерий характеризует состояния системы НГ у пациентов с ПКС. Результат представляется в виде степени течения ПКС. При оценке ИДК в ГИ было выявлено: у 23% пациентов, перенесших COVID-19 тяжелой степени тяжести ИДК составил 12,4 что в 8 раз меньше, чем в ГС-99,0 и говорит о тяжелом течении ПКС; у 42 % пациентов, перенесших COVID-19 среднетяжелой степени тяжести ИДК составил 18,0 что в 5,5 раз меньше, чем в ГС-99,0 и говорит о среднетяжелом течении ПКС; у 35 %, перенесших COVID-19 среднетяжелой степени тяжести ИДК составил 28,2, что в 3,5 раза меньше, чем в ГС-99,0, и говорит о легком течении ПКС. Образование NETs в ПК коррелирует с тяжестью воспалительного процесса. Гиперактивация НГ, с формированием NETs способствует развитию имунотромбозов, коагулопатий и нейроиммуновоспаления, опосредованных через процессы нетоза, что напрямую коррелирует с риском развития и тяжестью протекания ПКС. и является прогностическим показателем.

Для диагностики и прогноза развития ПКС предложен новый лабораторный диагностический маркер - интеграционный диагностический показатель (ИДП), который объединяет соотношение относительного количества НГ, которые играют ключевую роль, как в

иммунопатогенезе COVID-19, так и в формировании ПКС и лимфоцитов (Л), а также уровень СРБ: $\text{ИДП} = (\% \text{НГ} * \text{СРБ}) / \% \text{Л}$. ИДП зарегистрирован в качестве программы для ЭВМ, как «Показатель прогноза развития постковидного синдрома» - ИДП-ПКС (свидетельство о регистрации: №2024661675 от 21.05.2024г.).

ИДП у пациентов с ПКС составил 49,06 (33,03; 63,24), что статистически достоверно в 11 раз больше чем у условно здоровых лиц 4,47 (2,95; 6,43), при этом через 4 недели после выписки значение ИДП оставался повышенным в 3,5 раза - 13,89 (9,45; 18,76), что могло быть расценено, как высокий риск развития тяжелого течения ПКС в постковидном периоде (Рисунок 5).

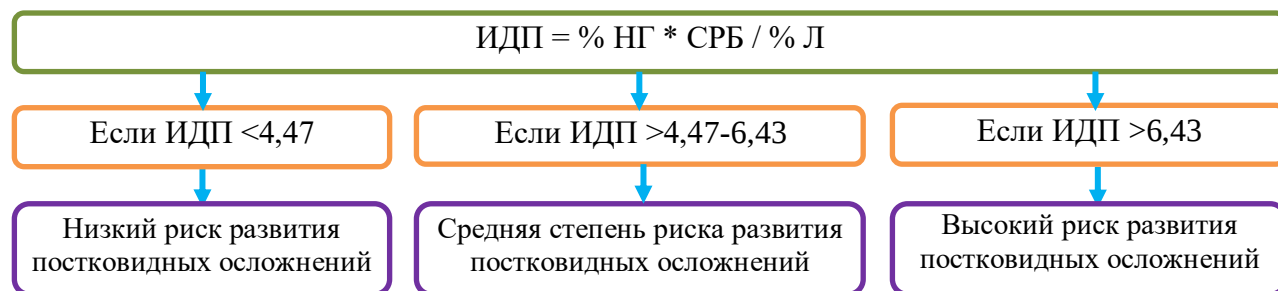


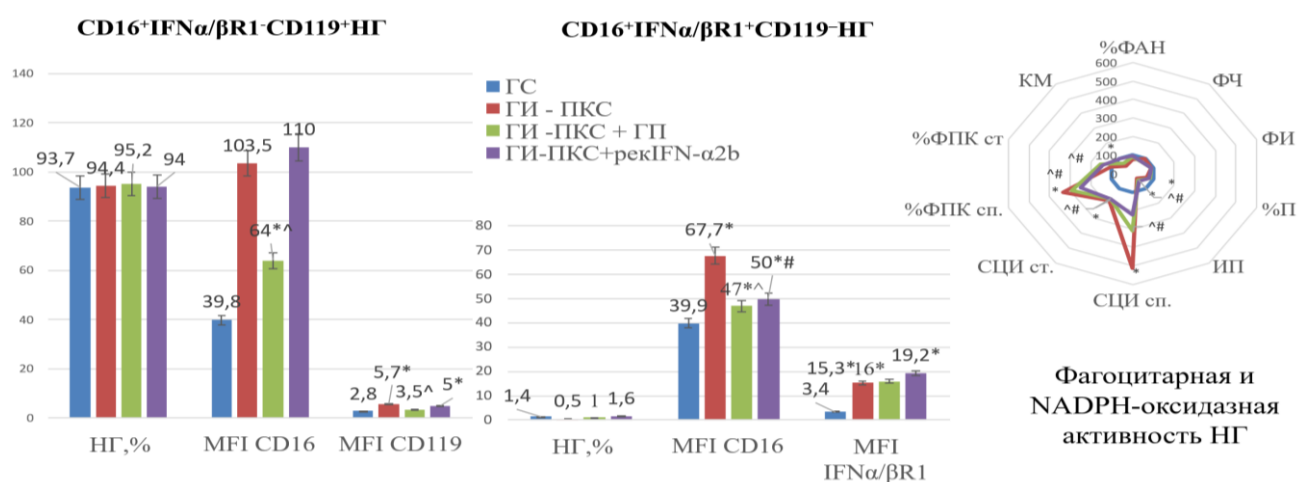
Рисунок 5 – Алгоритм программы ИДП-ПКС

Среди механизмов развития ПКС значительную роль играют цитокины, что может приводить к прогрессированию неконтролируемого системного гипервоспаления. У пациентов с ПКС, выявлены повышенные уровни провоспалительных IL1 β , IL8, IL6, IL17A ($p_{1-4} < 0,05$) при недостаточной секреции противовоспалительных цитокинов IL4, IL10, ($p_{1,2} < 0,05$) на фоне дефицита IFN α и IFN γ . Оценка интерферонового статуса выявила снижение уровней IFN α в 12,4 раза и IFN γ в 2,5 раза по сравнению с ГС ($p_{1,2} < 0,05$), что подтверждает слабую противовирусную защиту у пациентов с ПКС и свидетельствуют о возможном развитии нейроиммуновоспаления, зачастую сопровождающегося активацией ГВИ (Таблица 3).

Таблица 3 - Цитокиновый профиль пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ (Ме (Q₁; Q₃))

Показатель	Группа сравнения (ГС), n=60	Пациенты с ПКС (ГИ), n=60
IL1 β (пг/мл)	0,1 (0,01; 0,1)	3,95 (1,6; 5,6)*
TNF α (пг/мл)	4,43 (2,6; 4,9)	4,15 (2,1; 5,8)
IL6 (пг/мл)	12,3 (1,9; 13,1)	1,7 (1,2; 2,8), n=56
		307,7* (197,2; 357,1), n=4
IL8 (пг/мл)	5,3 (3,5; 5,7)	10,7* (6,4; 16,8), n=59
IL18 (пг/мл)	322,5 (185,5; 381,7)	183,0 (156,8; 232,9)
IL17A (пг/мл)	13,6 (7,7; 21,8)	0,03 (0,01; 0,02), n=56
		460,95* (374,1; 461,0), n=4
IL10 (пг/мл)	3,0 (2,5; 3,3)	3,1 (2,0; 4,9), n=51
		15,6 (12,1; 18,2) *, n=9
IL4 (пг/мл)	2,7 (2,2; 2,9)	3,4 (1,7; 4,95), n=42
		20,0 (18,2; 23,3)*, n=18
IFN α (пг/мл)	17,4 (16,2; 25,7)	1,4 (1,0; 3,9) *
IFN γ (пг/мл)	5,7 (5,3; 13,9)	2,3 (1,6; 3,35) *
* значимость отличий от показателей группы сравнения; $p < 0,05$		

Принимая во внимание ключевую роль НГ, и их способность влиять на развитие, прогрессирование и исход заболевания через восстановление измененного фенотипа функциональных субпопуляций в системе *in vitro* проведена оценка эффектов влияния иммуностропных субстанций, являющихся активными веществами отечественных препаратов, таких как рекIFN α 2b и ГП. Инкубация ПК пациентов с ПКС с ГП выявила модулирующие эффекты, на фенотип 2 субпопуляций. В субпопуляции НГ CD16⁺IFN α / β R1⁺CD119⁺ наблюдалось снижение в 1,6 раз плотности экспрессии по MFI CD16, и CD119 против показателей в ГИ до инкубации ($p_{1,2}<0,05$). При этом показатели MFI CD16 и CD119 оставались повышенными относительно уровня экспрессии в ГС (Рисунок 6).



* отличия показателей ГИ от ГС; $p < 0,05$, [^] - отличия показателей ГИ от ГИ ПКС+ГП, $p < 0,05$; [#] - отличия показателей ГИ от ГИ ПКС+рекIFN α 2b; $p < 0,05$

Рисунок 6 – Эффекты влияния рекIFN α 2b и гексапептида (ГП) на фенотип субпопуляций и эффекторные функции НГ.

В субпопуляции НГ CD16⁺IFN α / β R1⁺CD119⁺ также отмечено снижение в 1,4 раза MFI CD16 относительно ГИ до инкубации ($p < 0,05$), при этом оставаясь выше, чем в ГС ($p < 0,05$). Экспрессия IFN α / β R1 по MFI не отличалась от значений в ГИ-ПКС до инкубации, и оставалась в 4,7 раз выше значений ГС ($p < 0,05$). Инкубации НГ *in vitro* с ГП способствовала увеличению доли ФАН, восстановлению процессов киллинга и переваривания (%П, ИП) до уровня ГС, снижение спонтанной и усиление стимулированной активности NADPH-оксидаз, с сохранением резервного микробицидного потенциала. ГП в системе *in vitro* не влиял на процессы образования NETs и апоптоз.

После инкубации ПК пациентов с ПКС с рекIFN α 2b на НГ субпопуляции CD16⁺IFN α / β R1⁺CD119⁺ наблюдались тенденции увеличения MFI CD16 и снижения MFI CD119 против показателей в ГИ до инкубации ($p_{1,2} > 0,05$). При этом показатели MFI CD16 и MFI CD119 оставались повышенными по отношению к уровню экспрессии молекул на НГ данной субпопуляции в ГС. Эффекты влияния рекIFN α 2b на фенотип субпопуляции CD16⁺IFN α / β R1⁺CD119⁺ НГ заключались в снижении в 1,4 раза MFI CD16 ($p < 0,05$) по отношению к показателям до инкубации до уровня, в ГС, при этом MFI IFN α / β R1 увеличилась в 1,3 раза от

значений ГИ до инкубации, оставаясь в 5,6 раз выше значений в ГС ($p < 0,05$) (Рисунок 6). При анализе функционального потенциала НГ после инкубации с рекIFN α 2b в системе *in vitro* отмечалось увеличение доли ФАН и восстановление процессов киллинга и переваривания (%П, ИП) до уровня показателей ГС, снижение спонтанной и усиление стимулированной активности NADPH-оксидаз, как по показателям %ФПК, так и по СЦИ с сохранением резервного микробицидного потенциала. РекIFN α 2b в системе *in vitro* не влиял на процессы образования NETs и апоптоз.

Результаты проведенных исследований позволили выявить: ведущие клинические критериальные признаки иммунокомпрометированности, особенности нарушенных механизмов противовирусной защиты, этиологическую структуру ГВИ, состояние интерферонового статуса и профиля сывороточных нейтрофил-ассоциированных цитокинов, варианты негативной трансформации фенотипа НГ, ассоциированные с разнообразными дефектами функциональной и микробицидной активности. Для выявления пациентов, угрожаемых по развитию ПКС и диагностики течения уже, выявленного ПКС *de novo* были разработаны и внедрены в практику интеграционные диагностические лабораторные маркеры: ИДП-ПКС и ИДК-ПКС соответственно. Экспериментальные данные, полученные в системе *in vitro* с применением иммуностропных субстанций рекIFN α 2b и ГП показали различные позитивные иммуномодулирующие эффекты, способствующие восстановлению негативно измененного фенотипа функционально-значимых субпопуляций, устранению дефектов фагоцитарной и микробицидной активности НГ, что открывает новые возможности для разработки и применения в практическом здравоохранении комплексной иммуномодулирующей терапии, направленной на восстановление дисрегуляторных нарушений НГ. С учетом выявленных особенностей иммунопатогенеза, нами был разработан алгоритм комплексной клинко-лабораторной диагностики дисфункций НГ для пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ (Рисунок 7).



Рисунок 7 - Алгоритм комплексной клинко-лабораторной диагностики дисфункций НГ для пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанные *de novo* интеграционные диагностические лабораторные маркеры в качестве компьютерных программ для ЭВМ являются перспективными к применению в клинической практике в качестве предиктора развития ПКС и с целью диагностики степени тяжести течения уже, сформированного ПКС. Внедрение в работу профильных специалистов созданного алгоритма комплексной клиничко-лабораторной диагностики дисфункций НГ у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ, открывает перспективы своевременного выявления лиц из группы риска по развитию ПКС. Полученные экспериментальные данные *in vitro* свидетельствуют о положительном воздействии рекIFN α 2b и ГП на восстановление адекватной работы НГ и позволяют определить новые тенденции в проведении клиничко-иммунологических исследований, направленных на разработку программ таргетной иммуномодулирующей терапии для пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Перспективным направлением для дальнейшего развития данной темы является создание программы таргетной иммунотропной терапии для пациентов, страдающих ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ с применением отечественных фармацевтических препаратов с содержанием исследованных субстанций, разрешенных к применению в клинической практике.

Выводы

1. На базе проведения ретроспективного анализа данных 1000 историй болезни пациентов, перенесших подтвержденную SARS-CoV-2 инфекцию и клиничко-лабораторного исследования 60 пациентов с подтвержденным ПКС, разработаны новые диагностические и прогностические критерии: «Интеграционный диагностический показатель прогноза развития постковидного синдрома» (ИДП-ПКС) и «Интеграционный диагностический критерий прогноза тяжести течения постковидного синдрома» (ИДК-ПКС), позволяющие, как прогнозировать формирование постковидного синдрома, так и оценивать тяжесть его течения.

2. Частота встречаемости микст герпесвирусных инфекций в стадии репликации вирусов составила: ВЭБ + ВЧГ6 – 5 %; ВЭБ + ВПГ1/2 – 28,4 %; ВЭБ + ВЧГ6 + ВПГ1/2 – 33,3 %; ВЭБ + ВЧГ6 + ВПГ1/2 + ВЧГ8 + ЦМВ - 33,3 % случаев, при этом во всех случаях микст герпесвирусных инфекций отмечено доминирование ВЭБ инфекции.

3. Использование модифицированной шкалы-опросника у пациентов с подтвержденным постковидным синдромом в 100% случаев позволило оценить ведущие клинические критериальные признаки синдрома хронической усталости, когнитивных нарушений и иммунокомпрометированности в баллах, уровень которых колебался в пределах

от 14,0 до 20,0 баллов, что было статистически значимо выше показателей условно здоровых лиц (0,5-2 балла).

4. У пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций имеются различные дисфункции нейтрофильных гранулоцитов: дефекты эффекторных функций, как фагоцитарной, так и оксидазной, негативная трансформация фенотипа субпопуляций $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^-CD119^+$, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$, и отсутствие субпопуляции $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$ появление циркулирующих в периферической крови нейтрофильных гранулоцитов, вошедших в апоптоз и сформировавших NETs на фоне статистически значимой дисрегуляции сывороточных нейтрофил-ассоциированных цитокинов.

5. Нарушения противовирусной иммунной защиты у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций, клинически проявляющиеся синдромом хронической усталости и когнитивными расстройствами, сопряжены с дисрегуляторными нарушениями в системе цитокинов, при этом выявлено повышение в 39,5 раз уровня сывороточного $IL1\beta$, являющегося общепризнанным маркером нейроиммуновоспаления, на фоне дефицита сывороточных IFN: $IFN\alpha$ – снижен в 12,4 раза, $IFN\gamma$ – снижен в 2,5 раза по сравнению с условно здоровыми субъектами.

6. В эксперименте *in vitro* выявлены различные эффекты воздействий иммуотропных субстанций рекомбинантного $IFN\alpha 2b$ и синтетического тимического гексапептида аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина на дисфункции нейтрофильных гранулоцитов пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций: позитивное модулирование дефектных эффекторных функций и негативно трансформированного фенотипа субпопуляций НГ $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^-CD119^+$, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$, но при этом наблюдалось отсутствие их влияний на повышенное количество нейтрофильных гранулоцитов, вошедших в апоптоз и сформировавших NETs.

7. Разработанный алгоритм комплексной иммунодиагностики дисфункций нейтрофильных гранулоцитов учитывает уточненные особенности иммунопатогенеза постковидного синдрома, ассоциированного с активацией герпесвирусных инфекций, и позволяет выявлять различные нарушения функционирования нейтрофильных гранулоцитов, что необходимо для создания новых таргетных иммунокорректирующих терапевтических стратегий при постковидном синдроме.

Практические рекомендации

1. Рекомендовано использование в клинической практике разработанных программ для ЭВМ, основанных на интеграционных диагностических лабораторных маркерах: ИДП-ПКС в качестве предиктора развития ПКС после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции и ИДК-ПКС, с целью диагностики степени тяжести течения ПКС.

2. При проведении диагностики ПКС рекомендовано детектировать с использованием

ПЦР-РВ и ИФА геном различных ГВИ, для проведения при необходимости в дальнейшем этиотропной терапии.

3. Рекомендовано внедрение в клиническую практику созданного программного алгоритма комплексной клиничко-лабораторной диагностики дисфункций НГ у пациентов с ПКС, ассоциированного с активацией ГВИ.

4. Полученные экспериментальные данные о положительном иммуномодулирующем влиянии рекIFN α 2b и ГП на дефектные эффекторные функции НГ и негативно трансформированный фенотип функционально-значимых субпопуляций НГ у пациентов с ПКС, свидетельствуют о необходимости разработки новых программ таргетной иммуномодулирующей терапии с использованием официальных фармацевтических препаратов, основной действующей субстанцией которых являются рекIFN α 2b и ГП.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, включенных в международные базы цитирования WoS и Scopus

1. Атажахова М.Г. Информативная значимость интеграционного диагностического показателя в прогнозе исходов COVID-19 и предикции развития постковидного синдрома / М.Г. Атажахова, Г.А. Чудилова, И.В. Нестерова // Российский иммунологический журнал. – 2022. – Т. 25, № 4. – С. 375-378.

2. Нестерова И.В. Роль нейтрофильных экстрацеллюлярных сетей (NETs) в иммунопатогенезе тяжелого COVID-19: потенциальные иммунотерапевтические стратегии, регулирующие процесс формирования и активность NETs / И.В. Нестерова, М.Г. Атажахова, Ю.В. Тетерин [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2023. – Т. 13, № 1. – С. 9–28.

3. Нестерова И.В. Количественная и фенотипическая трансформация субпопуляций CD16⁺IFN α /BR1⁻CD119⁺, CD16⁺IFN α /BR1⁺CD119⁻ и CD16⁺IFN α /BR1⁺CD119⁺ нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с постковидным синдромом / И.В. Нестерова, Г.А. Чудилова, М.Г. Атажахова [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2023. – Т. 26, № 3. – С. 363-372.

4. Атажахова М.Г. Позитивные эффекты рекомбинантного интерферона α -2b на фенотип субпопуляции CD16⁺IFN α /BR1⁻CD119⁺, CD16⁺IFN α /BR1⁺CD119⁻ нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с постковидным синдромом и герпесвирусными инфекциями // М.Г. Атажахова, И.В. Нестерова, Г.А. Чудилова [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2023. – Т. 26, № 4. – С. 647-656.

5. Нестерова И.В. Интеграционный диагностический критерий, оценивающий тяжесть течения COVID-19 и риск возникновения постковидного синдрома / И.В. Нестерова, М.Г. Атажахова, В.А. Матушкина [и др.] // Медицинская иммунология. – 2024. – Т. 26, № 3. – С. 1383-1392.

6. Городин В.Н. Высокие уровни цитокинов IL-17A, IL-18, VEGF-A в периоде реконвалесценции COVID-19 - биомаркеры незавершенности иммунного воспалительного процесса, сигнализирующие об опасности развития постковидного синдрома / В.Н. Городин, И.В. Нестерова, В.А. Матушкина, Г.А. Чудилова, В.Н. Чапурина, Л.В. Ломтатидзе, А.И. Меняйло, М.Г. Атажахова // Инфекционные болезни. - 2023. - Т. 21, № 4. - С. 12-20.

7. Атажахова М.Г. Вариативность изменений про- и противовоспалительных цитокинов на фоне дефицита интерферонов альфа и гамма у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией хронических герпесвирусных инфекций / М.Г. Атажахова, Г.А. Чудилова, Л.В. Ломтатидзе [и др.]. // Инфекция и иммунитет. – 2024. – Т. 14, № 3. – С. 488-494.

Публикации в изданиях, рекомендованных перечнями ВАК

8. Нестерова И.В. Модулирующие эффекты гексапептида на субпопуляции $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^-CD119^+$, $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$ и $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$ нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с постковидным синдромом / И.В. Нестерова, Г.А. Чудилова, М.Г. Атажахова [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2023. – Т. 19, № 28. – С. 16-23.

Публикации в других изданиях

9. Атажахова М.Г. Новый интеграционный маркер в лабораторной диагностике постковидного синдрома / М.Г. Атажахова, Г.А. Чудилова, И.В. Нестерова // Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания: материалы VIII Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием (26–29 октября 2021 года, г. Сочи). – Сочи, 2021. – С. 13-15.

10. Атажахова М.Г. Новый интеграционный диагностический показатель – прогностический фактор исхода болезни у пациентов с COVID-19 / М.Г. Атажахова, И.В. Нестерова, Г.А. Чудилова // III Объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов: научные труды, Том I (3-8 октября 2021 года, г. Сочи-Дагомыс). – Сочи, 2021. – С. 68.

11. Атажахова М.Г. Особенности состояния нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с постковидным синдромом / М.Г. Атажахова, Г.А. Чудилова, И.В. Нестерова // Актуальные проблемы инфекционной патологии Юга России: сборник материалов XV научно-практической конференции (19–20 мая 2022 года, г. Краснодар). – Краснодар, 2022. – С. 22-24.

Патенты

12. Программа для ЭВМ (свидетельство о государственной регистрации: №2024661675 от 21.05.2024 г.). «Показатель прогноза развития постковидного синдрома» - ИДП-ПКС. Правообладатели: Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Атажахова М.Г., Матушкина В.А.

13. Программа для ЭВМ (свидетельство о государственной регистрации: №2024666662 от 15.07.2024 г.). «Критерий прогноза тяжести течения постковидного синдрома» - ИДК-ПКС. Правообладатели: Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Атажахова М.Г., Матушкина В.А.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

NETs – нейтрофильные экстрацеллюлярные сети (neutrophil extracellular traps)
НГ – нейтрофильные гранулоциты
ПКС – постковидный синдром
СХУ – синдром хронической усталости
рекIFN α 2b - рекомбинантный интерферон α 2b
ГП – Гексапептид

ГВИ – герпесвирусная инфекция
ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр
ЦМВ – цитомегаловирус
ВЧГ6 – вирус человеческого герпеса 6 типа
ВПГ1/2 – вирус простого герпеса типа 1/2
ИДП - интеграционный диагностический показатель
ИДК - интеграционный диагностический критерий

Атажахова М.Г.

«Программа комплексной диагностики дисфункций нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций»

В исследовании продемонстрированы новые подходы к комплексной диагностике дисфункций нейтрофильных гранулоцитов (НГ) у пациентов с постковидным синдромом (ПКС), ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций (ГВИ). Доказаны имеющиеся дисрегуляторные нарушения в функционировании системы НГ, проведены экспериментальные исследования, показывающие иммуномодулирующее действие таргетных иммуотропных препаратов на состояние дефектно функционирующих НГ, обоснована необходимость комплексной диагностики состояния НГ, определение цитокинового профиля и маркеров ГВИ у пациентов с ПКС, ассоциированным с ГВИ. Рекомендованы к применению в клинической практике, разработанные *de novo* программы для ЭВМ с целью прогноза развития и диагностики ПКС, у пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию. Разработан алгоритм комплексной клинико-лабораторной диагностики дисфункций НГ у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ.

Atazhakhova M.G.

«A program for the comprehensive diagnosis of neutrophil granulocyte dysfunction in patients with postcovid syndrome associated with activation of herpesvirus infections»

The study demonstrates new approaches to the complex diagnosis of neutrophil granulocyte (NG) dysfunctions in patients with post covid syndrome (PCS) associated with activation of herpesvirus infections (HVI). The existing dysregulatory disorders in the functioning of the NG system have been proven, experimental studies have been conducted showing the immunomodulatory effect of targeted immunotropic drugs on the condition of defectively functioning NG, the need for a comprehensive diagnosis of the NG condition, the determination of the cytokine profile and markers of HVI in patients with PCS associated with HVI has been substantiated. Computer programs developed by *de novo* for the purpose of predicting the development and diagnosis of PCS in patients who have suffered from SARS-CoV-2 infection are recommended for use in clinical practice. An algorithm for the complex clinical and laboratory diagnosis of NG dysfunctions in patients with PCS associated with HVI activation has been developed.

Подписано в печать 14.10.2025 г. Формат 60x84/16

Усл. Печ.л.1,5. Тираж 120 экз. Заказ 1015

Российский университет дружбы народов (РУДН)

Типография РУДН

115419, ГСП-1, г. Москва, ул. Орджоникидзе д.3.

Тел.: 8 (945) 955-08-74. E-mail: publishing@rudn.ru