

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(ФГБОУ ВО КУБГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ)

*На правах рукописи*

Атажахова Маргарита Галимовна

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

3.2.7. Иммунология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата  
медицинских наук

Научный руководитель:  
Нестерова Ирина Вадимовна,  
доктор медицинских наук, профессор

Краснодар – 2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                                                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ВВЕДЕНИЕ.....                                                                                                                                                                   | 5  |
| ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....                                                                                                                                                   | 19 |
| 1.1 Проблема постковидного синдрома в современных реалиях.....                                                                                                                  | 20 |
| 1.2 Механизм развития постковидного синдрома и его последствия, ассоциированные с активацией герпесвирусных инфекций.....                                                       | 24 |
| 1.3 Роль нейтрофильных гранулоцитов в развитии постковидного синдрома, ассоциированного с активацией герпесвирусных инфекций.....                                               | 42 |
| 1.4 Иммунотерапевтические стратегии, направленные на дисфункции нейтрофильных гранулоцитов при постковидном синдроме, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций..... | 47 |
| ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....                                                                                                                                                 | 50 |
| 2.1 Общая характеристика объекта исследования.....                                                                                                                              | 50 |
| 2.2 Методы исследования.....                                                                                                                                                    | 55 |
| 2.2.1 Клинические методы исследования.....                                                                                                                                      | 55 |
| 2.2.2 Лабораторные методы исследования.....                                                                                                                                     | 57 |
| 2.2.3 Иммунологические методы исследования.....                                                                                                                                 | 57 |
| 2.2.3.1 Определение концентрации сывороточных интерферонов, про- и противовоспалительных цитокинов.....                                                                         | 58 |
| 2.2.3.2 Определение концентрации общих иммуноглобулинов А, М, G.....                                                                                                            | 58 |
| 2.2.3.3 Фенотипирование субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов.....                                                                                                            | 58 |
| 2.2.4 Оценка оксидазной активности нейтрофильных гранулоцитов.....                                                                                                              | 59 |
| 2.2.5 Оценка фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов.....                                                                                                            | 61 |
| 2.2.6 Молекулярно-генетические методы исследования: ИФА и ПЦР-РВ.....                                                                                                           | 63 |
| 2.2.6.1 Методы выявления герпесвирусных инфекций.....                                                                                                                           | 63 |
| 2.2.6.2 Серологическая диагностика перенесенного COVID-19.....                                                                                                                  | 64 |
| 2.2.7 Культуральные методы.....                                                                                                                                                 | 64 |
| 2.2.8 Статистические методы.....                                                                                                                                                | 65 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ГЛАВА 3 КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА<br>ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ, ФЕНОТИПА И ЭФФЕКТОРНЫХ<br>ФУНКЦИЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПРИ ПОСТКОВИДНОМ<br>СИНДРОМЕ, АССОЦИИРОВАННЫМ С АКТИВАЦИЕЙ ГЕРПЕСВИРУСНЫХ<br>ИНФЕКЦИЙ.....                                                                     | 66 |
| 3.1 Клинико-иммунологические особенности пациентов с постковидным<br>синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.....                                                                                                                                                                   | 66 |
| 3.2 Характеристика этиологической структуры герпесвирусных инфекций у<br>пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией<br>герпесвирусных инфекций.....                                                                                                                                   | 72 |
| 3.3 Содержание и фенотип субпопуляции $CD16^{+}IFN\alpha/\beta R1^{+}CD119^{+}$ ,<br>$CD16^{+}IFN\alpha/\beta R1^{+}CD119^{-}$ , $CD16^{+}IFN\alpha/\beta R1^{-}CD119^{+}$ нейтрофильных гранулоцитов у<br>пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией<br>герпесвирусных инфекций..... | 74 |
| 3.4 Дефекты эффекторных функций нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с<br>постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных<br>инфекций.....                                                                                                                                            | 77 |
| 3.5 Особенности системы интерферонов, про- и противовоспалительных<br>цитокинов у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с<br>активацией герпесвирусных инфекций.....                                                                                                                          | 88 |
| 3.6 Состояние гуморального иммунного ответа у пациентов с постковидным<br>синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.....                                                                                                                                                              | 92 |
| ГЛАВА 4 ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЕ IN VITRO ФЕНОТИПА<br>СУБПОПУЛЯЦИЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ И ИХ<br>ЭФФЕКТОРНЫХ ФУНКЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ПОСТКОВИДНЫМ<br>СИНДРОМОМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С АКТИВАЦИЕЙ<br>ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ.....                                                                                 | 95 |

|                                                                                                                                                                                                                                                     |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.1 Эффекты влияния гексапептида <i>in vitro</i> на нейтрофильные гранулоциты у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.....                                                                       | 95  |
| 4.1.1 Эффекты влияния гексапептида на количество и фенотип субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих рецепторы к IFN I и II типов, и CD16 при постковидном синдроме, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.....       | 96  |
| 4.1.2 Влияние гексапептида на эффекторные функции нейтрофильных гранулоцитов при постковидном синдроме, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.....                                                                                   | 100 |
| 4.2 Эффекты влияния рекIFN $\alpha$ 2b <i>in vitro</i> на нейтрофильные гранулоциты у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.....                                                                 | 103 |
| 4.2.1 Эффекты влияния рекIFN $\alpha$ 2b на количество и фенотип субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих рецепторы к IFN I и II типов, и CD16 при постковидном синдроме, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций..... | 104 |
| 4.2.2 Влияние рекIFN $\alpha$ 2b на эффекторные функции нейтрофильных гранулоцитов при постковидном синдроме, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций .....                                                                            | 108 |
| 4.2.3 Алгоритм комплексной диагностики дисфункций НГ пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.....                                                                                                                     | 112 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....                                                                                                                                                                                                                                     | 113 |
| ВЫВОДЫ.....                                                                                                                                                                                                                                         | 124 |
| ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....                                                                                                                                                                                                                      | 126 |
| ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....                                                                                                                                                                                                         | 127 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....                                                                                                                                                                                                                              | 128 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....                                                                                                                                                                                                                              | 130 |

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **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 [309] и была признана пандемией 11 марта 2020 года [311]. Впоследствии 5 мая 2023 года ВОЗ объявила об окончании чрезвычайной ситуации в области здравоохранения, вызванной COVID-19. Но 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 эмоциональные и когнитивные расстройства (КР), что приводит к социальной дисфункции. Симптомы могут варьировать, рецидивировать, сохраняться с момента первичного заражения или возникнуть впервые после перенесенного заболевания [307]. Пациенты с ПКС на протяжении всей последующей жизни подвержены инфекциям, как острым, так и хроническим, склонным к реактивации при любой стрессовой ситуации [27]. 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 [248], 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 [94, 102, 244, 245].

Нейтрофильные гранулоциты (НГ) занимают ключевую роль в уничтожении инфекционных патогенов [17], применяя различные интра- и экстрацеллюлярные механизмы [18, 295]. Они образуют активные формы кислорода (АФК; ROS-Reactive oxygen species) и нейтрофильные внеклеточные ловушки (neutrophilic extracellular traps - NETs), состоящие из гистонов и ДНК, а также вырабатывают про- и противовоспалительные цитокины, и протеазы [55, 92, 265]. Многочисленными исследованиями была доказана важная роль НГ в иммунопатогенезе COVID-19.

Убедительно доказано, что развитие имунотромбозов, возникновение тяжелого острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и нарушений свертывания крови в острый период COVID-19 ассоциированы с усилением нетоза [181, 182, 248]. Также представлены данные, о том, что NETs и их компоненты в сыворотке крови пациентов могут обнаруживаться еще в течение 6 месяцев после перенесенного COVID-19 [219].

Возникающие осложнения у пациентов, перенесших COVID-19, достаточно серьезны, однако, в настоящее время данные о состоянии иммунной системы (ИС) и особенностях функционирования НГ у пациентов с ПКС, чрезвычайно малы. Учитывая характер и сложность состояний, возникающих у пациентов после COVID-19, сопровождающихся реактивацией хронических активных ГВИ, крайне необходимо провести дополнительные исследования по изучению иммунопатологических процессов, что может лежать в основе 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 новым стимулом для изучения состояния ИС и уточнения функционирования системы НГ в постковидном периоде. В настоящее время имеется достаточное количество литературных источников, в которых обсуждаются разнообразные факторы возможной иммунопатофизиологии развития ПКС, что подчеркивает важность и необходимость понимания возникающих хронических состояний после перенесенного COVID-19 [42, 124, 186, 216, 234, 264, 301, 313]. При этом проблемой мирового масштаба остаются ограниченные исследования по методам раннего выявления факторов риска развития ПКС и стратегиям иммунотерапевтического воздействия на данное состояние, что подчеркивает необходимость разработки новых клинικο-диагностических маркеров.

Установлено, что в большей мере пациенты с ПКС предъявляют жалобы на выраженные проявления СХУ и стойкие КР, оказывающие негативное влияние на качество их жизни [26, 27, 112, 207, 231, 298, 312]. В настоящее время 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 [56, 69, 78, 109, 125, 185, 237, 306].

В остром периоде COVID-19 выявляются нарушения в функционировании системы НГ: повышение количества НГ, выработка АФК и формирование NETs, которые вызывают повреждение тканей [16, 71, 152]. Показано, что дефекты

эффекторных функций НГ, трансформация субпопуляций, экспрессирующих рецепторы к IFN I ( $IFN\alpha/\beta R1$ ) и II типов ( $IFN\gamma R - CD119$ ), системный дисбаланс цитокинов, в частности высокий уровень провоспалительных цитокинов и дефицит  $IFN\alpha$  и/или  $IFN\gamma$  предполагают, незавершенность иммуновоспалительного процесса и сигнализируют о риске возникновения ПКС [3, 7, 12, 19], в том числе ассоциированного с активацией ГВИ [20, 22, 29].

Изучение дисфункций НГ на молекулярном уровне, и разработка программы комплексной диагностики нарушений функционирования НГ для пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ может в дальнейшем предложить способы иммуномоделирования субпопуляций НГ, экспрессирующих функционально-значимые рецепторы, что является чрезвычайно актуальным, и 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 клинико-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» (ИДП-ПКС) и «Интеграционный диагностический критерий прогноза тяжести течения постковидного синдрома» (ИДК-ПКС), позволяющие прогнозировать формирование постковидного синдрома и оценивать тяжесть его течения.
2. Получены новые данные, свидетельствующие об активации микст герпесвирусных инфекций у пациентов с ПКС.

3. Для уточнения наличия критериев иммунокомпрометированности впервые использована модифицированная шкала-опросник для пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.
4. Впервые выявлены дисрегуляторные нарушения эффекторных функций, фенотипических характеристик субпопуляций  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^-CD119^+$ ,  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$ ,  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$  нейтрофильных гранулоцитов, а также изменения уровня сывороточных нейтрофил-ассоциированных цитокинов у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.
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 нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.
6. Разработан алгоритм комплексной клинико-лабораторной диагностики дисфункций нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций.

### **Теоретическая и практическая значимость**

При проведении ретроспективного анализа было показано, что у 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 уровень СРБ), а также имели место некоторые клинические проявления (слабость, потливость, боли в груди, одышка, непереносимость

физической нагрузки, снижение работоспособности и т.д.), что сопровождалось высокой вероятностью развития ПКС в постковидном периоде.

Уточнены молекулярные механизмы и выявлены различные нарушения в функционировании системы НГ: дефекты эффекторных функций и негативная трансформация субпопуляций, которые экспрессируют рецепторы к  $IFN\alpha/\beta$  и  $IFN\gamma$ :  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^-CD119^+НГ$ ,  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-НГ$ ,  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$ , при этом отмечалось повышение плотности экспрессии изучаемых рецепторов НГ. В тоже время у пациентов с ПКС в ряде случаев наблюдалась гиперактивация НГ, о чем свидетельствовало появление в циркулирующей периферической крови НГ, сформировавших NETs и НГ, находящихся в состоянии апоптоза.

Выявленный дисбаланс в профиле сывороточных про- и противовоспалительных нейтрофил-ассоциированных цитокинов с повышением уровня  $IL1\beta$ ,  $IL8$ ,  $IL6$  и  $IL17A$  на фоне дефицита сывороточных  $IFN\alpha$  и  $IFN\gamma$ , сочетающихся с активацией различных ГВИ, таких как ВЭБ, ВПГ1/2, ВЧГ6, ЦМВ в микст вариациях, расширяет представление о механизмах иммунопатогенеза ПКС. Дисрегуляторные изменения цитокинового профиля способствуют возникновению длительного нетипично протекающего воспаления и косвенно являются основополагающими факторами в развитии нейроиммуновоспаления у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ.

Практическую значимость представляет собой модифицированная шкала-опросник [22] 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 комплексные расчетные лабораторные маркеры, «Интеграционный диагностический показатель прогноза развития постковидного синдрома» (ИДП-ПКС) и «Интеграционный диагностический критерий прогноза тяжести течения постковидного синдрома» (ИДК-ПКС) могут быть применены в

клинической практике, поскольку позволяют выявить возможность развития ПКС после перенесенного заболевания COVID-19, а также оценить тяжесть течения ПКС. Данные маркеры зарегистрированы в Роспатенте в качестве компьютерных программ для ЭВМ, как методы клинико-математического анализа с целью предиктивной диагностики ПКС, ассоциированного с активацией ГВИ.

Результаты, полученные в системе *in vitro*, продемонстрировали положительные иммуномодулирующие эффекты рекомбинантного IFN $\alpha$ 2b (рекIFN $\alpha$ 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**

Для решения поставленных задач в работе использованы методы ретроспективного и проспективного когортного анализа, позволяющие выявить иммунопатогенез острого инфекционного процесса, вызванного SARS-CoV-2, оценить его последствия, выявить симптомы и тяжесть течения ПКС, а также определить наличие ГВИ в постковидном периоде и разработать программу комплексной диагностики дисфункций НГ у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ.

В ходе исследования применялись клинические и статистические методы анализа, а также передовые лабораторные техники для изучения функционирования ИС. Исследование получило одобрение от локального

независимого этического комитета ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России протокол № 93 от 13.10.2020 г. Методология исследования была разработана с учетом анализа как отечественных, так и зарубежных научных трудов, что способствовало выявлению важности и глубины рассматриваемой темы, а также четкому формулированию цели и задач данного исследования.

В данной работе проводился сравнительный анализ собственных результатов клинических и экспериментальных иммунологических исследований, направленный на уточнение иммунопатогенеза и выявление дисфункций в работе ИС у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ. Использование модифицированной шкалы-опросника позволило выявить характерные для ПКС клинические симптомы и степень их выраженности. Созданные интеграционные диагностические лабораторные маркеры ИДП-ПКС и ИДК-ПКС в качестве компьютерных программ для ЭВМ позволяют выявить пациентов из группы риска, нуждающихся в дополнительном иммунологическом исследовании и дальнейшем наблюдении с целью необходимости проведения коррекции функционирования ИС с применением таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Ретроспективный анализ данных 1000 историй болезни пациентов, перенесших подтвержденную SARS-CoV-2 инфекцию и результаты клинικο-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.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты исследований были успешно внедрены в учебный процесс: федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в частности на кафедре клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов через проведение лекций и семинаров для студентов, ординаторов, аспирантов и слушателей циклов повышения квалификации по фундаментальной и клинической иммунологии, клинической лабораторной диагностике; федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Майкопский государственный технологический университет» на кафедре физиологии и клинической патологии в форме лекций и семинаров для студентов и ординаторов по фундаментальной и клинической иммунологии.

Разработанный алгоритм комплексной диагностики дисфункций НГ у пациентов с ПКС применяется в научно-диагностической работе Центральной научно-исследовательской лаборатории федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Краснодар). Разработанные программы для ЭВМ и алгоритм комплексной диагностики дисфункций НГ у пациентов с ПКС внедрены в лечебно-диагностическую работу терапевтов и врачей общей практики на амбулаторном этапе оказания лечебно-профилактической помощи при государственном бюджетном учреждении здравоохранения Республики Адыгея «Центральная районная больница Майкопского района» (г. Майкоп).

### **Личное участие 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.

### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Исследование подкреплено тщательным анализом теоретических основ, всесторонним рассмотрением данных, строгим методологическим подходом, а также корректным статистическим анализом, что обеспечивает надежность результатов. Применяемые клинические, иммунологические, культуральные и статистические методы 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, 26.10–29.10.2021 г.); 15-ой научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России» (г. Краснодар, 19.05-20.05.2022 г.); 8-ой научно-практической школе-конференции «Аллергология, и клиническая иммунология» (г. Сочи, 02.10-08.10.2022); 3-ем объединенном научном форуме физиологов, биохимиков и молекулярных



биологов (г. Сочи, 03.10-07.10.2022 г.); 9-ой научно-практической школе-конференции «Аллергология, клиническая иммунология и инфектология для практикующих врачей» (г. Сочи 01.10-07.10.2023); 1-ом 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.).

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.2.7. Иммунология.

Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, пунктам 2, 3, 5, 6, 7 паспорта специальности Иммунология.

### **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, Также 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. Общий объем печатных страниц составил 84.

### **Структура и объём работы**

Диссертационная работа изложена на 171 странице, имеет стандартную структуру изложения с таблицами и рисунками и состоит из введения, обзора

литературы, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературных источников, иллюстрирована 12 таблицами и 17 рисунками. Список литературы содержит 316 источников, из них 33 отечественных и 283 зарубежных авторов.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

С тех пор как во всем мире были зарегистрированы первые случаи COVID-19 (17 ноября 2019 года) глобальная пандемия, которая официально, по данным ВОЗ, длилась более 3-х лет (с 30 января 2020 по 5 мая 2023 года) оказала беспрецедентное воздействие на все страны мира. На 28 ноября 2024 года, согласно информации ВОЗ, в мире зафиксировано свыше 776 миллионов подтвержденных случаев заболевания и более 7 миллионов летальных исходов [310].

Однако основные проблемы и тенденции развития мировой пандемии оказались намного более фатальными, чем предполагалось. В сфере здравоохранения были реализованы значительные изменения, целью которых являлось предотвращение распространения заболевания. Разные регионы и страны применяли различные стратегии для контроля над пандемией, включая новые подходы к диагностике и лечению. Следует подчеркнуть, что политика, направленная на учет основных причин смертности, а также изменяющаяся природа вируса COVID-19 способствовали тому, что реальные последствия для мирового общества стали совершенно непредсказуемыми. Широко известное, под общим термином как ПКС состояние относится к различным средне- и долгосрочным симптомам, которые проявляются примерно у 10-20% людей, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию [181, 308]. Несмотря на то, что эти расстройства редко представляют угрозу для жизни пациента, они связаны со значительным пагубным влиянием на качество его жизни [34, 303], что в сочетании с его высокой распространенностью составляет большую долю общего воздействия на здравоохранение и общество, связанного с пандемией. Сохранение клинических проявлений в течение длительного времени после очевидного клинического выздоровления от инфекции охватывает широкий спектр гетерогенных болезненных состояний у выживших пациентов, которые отмечают

стойкие и выраженные симптомы [274]. Такие симптомы, включая когнитивную дисфункцию и СХУ, могут оказывать значительное, а в некоторых случаях и серьезное влияние на повседневную жизнь, и ее продуктивность. Учитывая характер и сложность состояний, возникающих после COVID-19, в ближайшие годы крайне необходимо провести дополнительные исследования для изучения патологических процессов и терапевтических подходов, связанных с этими симптомами. Также важно оценить реальное бремя болезни, сопряженное с не летальными последствиями длительного COVID и ассоциированных с ним постострых последствий [84].

### **1.1 Проблема постковидного синдрома в современных реалиях**

До 2020 года большинство исследований, связанных с COVID-19, не рассматривали долгосрочные последствия перенесенного заболевания. В то же время у выздоравливающих людей все чаще выявлялись стойкие, длительные и часто изнурительные симптомы в постковидном периоде. На основании этого, по данным ВОЗ был сформирован отчет о не смертельных последствиях COVID-19 на национальном, региональном и глобальном уровнях, который был призван дать подробное представление о влиянии пандемии COVID-19 на последствия не смертельных исходов среди людей, ранее инфицированных вирусом SARS-CoV-2.

Обзор литературы выявил широкий спектр терминов для состояния после COVID-19 [277]. На основании проведенного дельфийского консенсуса от 6 октября 2021 года и клинического определения случаев состояния после COVID-19, был классифицирован ПКС, который упоминается под кодами U09.9 (МКБ-10), RA02 (МКБ-11), а также другими различными терминами: пост-COVID-19-синдром [178], хронический COVID-19 [47], долгосрочные последствия COVID-19 [166], длительный COVID-19 [203] и постострые последствия инфекции SARS-CoV-2 (PASC) [216]. Все эти и другие термины указывают на то, что после

заболевания COVID-19 у человека отсутствует возврат к исходному состоянию здоровья. Точная распространенность ПКС неизвестна, и определить частоту его проявления сложно из-за неспецифического характера клинических проявлений, различных поражений многих органов и отсутствия диагностических маркеров, а попытки ее оценить дали неоднозначные результаты [63]. Изученные обширные метаанализы показывают, что совокупная распространенность ПКС колеблется в широком диапазоне у людей, перенесших COVID-19 и примерно в шесть раз выше, чем при других поствирусных состояниях [172]. Крупный метаанализ, опубликованный в 2024 году и включавший 48 исследований определил, что предполагаемая объединенная распространенность ПКС во всем мире составила 41,8% [234].

Greenhalgh T. и соавторы были первыми, кто определил пост-COVID-19, как продолжительное заболевание, продолжающееся более 3 недель после острого появления симптомов [190]. Некоторые исследователи и врачи расширили это определение, исключив время госпитализации, и начав послеострый период COVID-19 после выписки из больницы [233].

Согласно данным зарубежных и российских ученых, клинические проявления, возникшие после перенесенной новой коронавирусной инфекции, широко распространены не только среди пациентов, имеющих сопутствующие заболевания, но также и среди молодых, ранее здоровых людей, которые не имели жалоб до заражения COVID-19 [9, 37].

Ученые предложили многочисленные общие патофизиологические механизмы синдрома после COVID-19, основанные на тяжести заболевания, органах, пораженных вирусом, иммунологических нарушениях и воспалительных повреждениях, специфичных для вируса патофизиологических изменениях и окислительном стрессе. Однако точный патофизиологический механизм посткоронавирусного синдрома до сих пор неясен, несмотря на множество гипотез, и исследований, предполагающих механизмы его действия. Поскольку

инфицированность SARS-CoV-2 продолжается, важно понимать состояние и потребности пациентов за пределами острой фазы, особенно механизмы, вызывающие стойкие симптомы спустя 3-4 и более недель от начала острого заболевания [231].

R. Perumal и др. выделили несколько ключевых патогенетических механизмов и связанных с ними факторов риска для развития ПКС: постоянная персистенция вируса и антигена SARS-CoV-2; образование микротромбов в сосудистом кровотоке; распространенный аутоиммунный процесс; реактивация других латентных вирусов; активация тучных клеток; хроническое слабовыраженное мультисистемное воспаление; значительные нарушения в желудочно-кишечном тракте, приводящие к дисбактериозу и дисфункции кишечного барьера; обширные изменения в центральной нервной системе (ЦНС); вегетативная и метаболическая дисфункции [51, 123]. Выявленные факторы риска определяют наличие более пяти симптомов, включая одышку, предшествующие психические расстройства и специфические биомаркеры, такие как Д-димер, СРБ и количество нейтрофилов и лимфоцитов [313]. Однако данные различаются: другие авторы выделяют женский пол, активное курение и сопутствующие заболевания в качестве факторов риска развития ПКС, в то время как возраст, по-видимому, не является значимым фактором [104, 113, 270].

Множество симптомов, которые наблюдаются у пациентов с ПКС и сохраняются более 4 недель, часто обусловлены поражением дыхательной, сердечно-сосудистой, неврологической, желудочно-кишечной и других систем. Примерно 70% людей с этими симптомами до заболевания были физически здоровы и из-за тяжести симптомов стали вести малоподвижный образ жизни [60].

ПКС проявляется мультисистемным поражением органов, включающим множество иммунопатофизиологических механизмов: синдром хронической усталости (СХУ), когнитивные расстройства (КР), миалгический энцефаломиелит,

гиперактивация иммунной системы (ИС), а также развитие иммунотромбозов и коагулопатий, опосредованных через процессы образования NETs и развитие нетоза [181, 182, 248]. Разнообразные жалобы при ПКС могут быть определены в зависимости от симптомов [177, 315], степени их выраженности [116] или времени, когда они возникают [255]. Вероятность развития ПКС зависит от многих факторов, в том числе и от типа инфицированного варианта SARS-CoV-2, при этом предполагается, что вероятность развития ПКС снижается при заражении омикронного варианта SARS-CoV-2 по сравнению с дельта-вариантом [4, 30].

Было отмечено, что наиболее распространенными симптомами в течение 3–6 месяцев, которые могут влиять на повседневную деятельность были: усталость (32%), одышка (25%), нарушение сна (24%) и трудности с концентрацией внимания (22%) [243, 305]. В другом же исследовании сообщалось, что наиболее частыми симптомами были усталость, туман в голове, беспокойство, бессонница и депрессия, при этом у женщин вероятность возникновения постоянных симптомов была на 58% выше, чем у мужчин [176]. По данным еще одного крупного метаанализа наиболее распространенными симптомами были усталость (58%), головная боль (44%), нарушение внимания (27%), выпадение волос (25%) и одышка (24%) [223]. Усталость является наиболее частым симптомом длительного и острого течения COVID-19 [224, 287] и может присутствовать даже через 100 дней после первых признаков заболевания [79].

Кроме того, после таких состояний, как ОРДС, более двух третей пациентов сообщали о клинически значимых симптомах усталости даже через год [112, 312]. СХУ сопровождается выматывающей усталостью, нейрокогнитивной и вегетативной дисфункцией, нарушением сна и ухудшением общего самочувствия после незначительного увеличения физической и/или когнитивной активности [163, 203, 204, 205, 298].

Нарушения когнитивных функций проявляются в снижении способностей к запоминанию, усвоению новой информации, пониманию, воспроизведению услышанного, прочитанного или увиденного. Одновременно отмечаются и проблемы с концентрацией внимания, снижения умственной работоспособности, забывчивости, ощущении «тумана в голове» и путаницы в мыслях, нарушениях сна и засыпания. Пациенты начинают испытывать трудности в общении с окружающими и при выполнении повседневных задач. Также реконвалесцентов беспокоят проявления различных вегетативных расстройств (головные боли, головокружения, изменения артериального давления и пульса, аритмии, тахикардии), а также боли в суставах и мышцах.

Активация воспалительных процессов, являющихся частью рецепторов врожденной ИС, может быть связана с цитокиновым штормом и гиперкоагулопатией у инфицированного человека. Таким образом, пациент с ПКС может быть подвержен инфекциям на протяжении всей жизни, которые могут реактивироваться при любой стрессовой ситуации, которая ослабляет ИС и является показателем иммунокомпрометированности [27].

У многих пациентов также наблюдается рекуррентное возникновение респираторных инфекций, учащение обострений хронических и медленно прогрессирующих бактериальных и грибковых заболеваний, а также развитие ко-инфекций разнообразной этиологии и локализации, включая такие состояния, как хронические пансинуситы, фарингиты, ларингиты, отиты, циститы, уретриты и вульвовагиниты [44].

## **1.2 Механизм развития постковидного синдрома и его последствия, ассоциированные с активацией герпесвирусных инфекций**

Основной особенностью COVID-19 является его гетерогенность, включающая разнообразные патофизиологические и иммунологические процессы [269] Данные, свидетельствуют о том, что высокая контагиозность COVID-19



может быть связана не только с уникальными вирусологическими особенностями SARS-CoV-2, но также и с факторами хозяина, которые играют решающую роль в развитии болезни и определяют тяжесть заболевания [85, 165, 299].

При SARS-CoV-2 в организме отмечается стойкая чрезмерная воспалительная реакция, направленная на уничтожение вируса, главным образом в дыхательной системе. Но помимо основных, легочных проявлений в остром периоде заболевания, COVID-19 затрагивает и другие системы: эндокринную, сердечно-сосудистую, нервную, желудочно-кишечную, почечную и др., и это объясняется тем, что рецептор ACE2 экспрессируется в органах человека с различной плотностью. При этом наибольшая экспрессия ACE2 находится в тонкой кишке, легких, яичках и семенниках, сердце, щитовидной и островках поджелудочных желез, гипоталамо-гипофизарной зоне, почках и надпочечниках, что делает эти ткани особенно восприимчивыми к данной инфекции. Различная плотность рецепторов ACE2 в органах и тканях может объяснять разнообразие и тяжесть клинических симптомов и проявлений, вплоть до полиорганной недостаточности в остром периоде COVID-19 с последующим развитием тяжелого ПКС в постковидном периоде [87, 192, 238].

Патогенез инфекции SARS-CoV-2 у человека может проявляться как в виде незначительных симптомов, так и в форме тяжелой дыхательной недостаточности. При связывании с эпителиальными клетками дыхательных путей вирус начинает активно реплицироваться и продвигается вниз по дыхательным путям, достигая альвеолярных клеток легких, вызывая микроангиопатию с тромбозом мелких сосудов и в некоторых случаях, может осложниться ДВС-синдромом [193].

Быстрая репликация SARS-CoV-2 в легких может спровоцировать мощный иммунный ответ и возникающий при этом синдром ЦШ стремительно приводит к ОРДС и дыхательной недостаточности, что и является основной причиной летального исхода у пациентов с COVID-19 [70].

Легочные симптомы, включая одышку, кашель и боль в грудной клетке отмечаются у значительной части пациентов с длительным течением COVID-19 [59, 236] и могут коррелировать [134, 276] или не коррелировать [142] с предшествующей тяжестью течения SARS-CoV-2. Проведенные инструментальные исследования выявили снижение диффузионной способности легких, что коррелировало с лучевыми изменениями у 42% выживших после COVID-19 через три месяца после выписки из больницы, независимо от тяжести перенесенного заболевания [76]. Даже спустя шесть месяцев после появления первых легочных симптомов продолжали выявляться рентгенологические изменения (матово-стеклянные затемнения, фиброз, консолидация), связанные с сохраняющимися симптомами, которые все еще присутствовали примерно у половины пациентов, перенесших COVID-19 [316]. Также было показано, что, используя более совершенную ксеноновую гиперполяризованную МРТ для изучения функции легких, удалось выявить дефектную функцию газообмена среди реконвалесцентов со средней степенью тяжести COVID-19, что не было диагностировано с помощью стандартной КТ грудной клетки [91].

Проведенные протеомные исследования образцов крови и дыхательных путей у пациентов с ПКС с сохраняющимися КТ изменениями в легочной ткани через 3–6 месяцев после выписки выявили специфические для дыхательных путей протеомы (CASP3, EPCAM, KRT19 и TGFA), что указывает на повреждение эпителия и апоптоз. Кроме того, отмечалось повышенное количество цитотоксических лимфоцитов, что было связано с повреждением эпителия и нарушением функции легких и еще раз подчеркивает роль ИС в легочных фенотипах [66, 145]. Еще одно исследование также продемонстрировало, что легочная дисфункция при ПКС через 4 месяца после заражения была связана с увеличенной регуляцией хемотаксических путей фагоцитов, активацией лейкоцитов и сердечной дисфункцией, а также с повышенным уровнем хемокина CXCL9 во время острого COVID-19 [67, 88].

Была показана и нейроэндокринная тропность вируса SARS-CoV-2, так как рецепторы ACE2, которые облегчают проникновение патогена в клетки, экспрессируются в пределах гипоталамо-гипофизарной оси [57]. Молекула мРНК ACE2 широко распространена в различных органах и тканях, что объясняет системную инфекцию, которая может быстро поражать органы за пределами дыхательной системы [110]. В частности, ACE2 активно функционирует в гипоталамусе и гипофизе, причем гипоталамус отмечается более высокой экспрессией этого фермента [43]. В связи с этим некоторые авторы предполагают участие гипофиза в дальнейшем развитии ПКС [181].

В одном из исследований при клиническом наблюдении и проведении МРТ у пациентов через три месяца после острого COVID-19 были зарегистрированы структурные и метаболические нарушения мозга, которые коррелировали с сохраняющимися неврологическими симптомами [62]. Эти данные вызывают беспокойство, поскольку у большинства участников исходно была легкая форма COVID-19, что позволяет предположить, что даже легкое течение инфекционного процесса может оказывать стойкое воздействие на мозг. Также имеются доказательства, подтверждающие нейротропизм и способность SARS-CoV-2 к репликации в нейрональных культурах, органоидах мозга, мышцах и аутопсиях человеческого мозга [95, 261]. В частности, предполагается, что повреждение кардиореспираторного центра ствола мозга ухудшает симптомы COVID-19 [159, 169]. Поскольку нейроны редко регенерируют, а возникающая дисфункция ствола мозга может быть длительной, то, скорее всего это и приводит к неврологическим и кардиореспираторным последствиям, которые могут лежать в основе ПКС [314]. При этом ствол мозга экспрессирует более высокие уровни ACE2, чем другие области мозга [314]. В отчетах по вскрытию также были обнаружены доказательства наличия генов и белков SARS-CoV-2, а также патологической иммунной и сосудистой активации в стволе мозга умерших жертв COVID-19 [207]. Таким образом, продолжающиеся нейроиммуновоспалительные

процессы могут быть причиной неврологических симптомов и повреждений при ПКС.

Пациенты с затяжными неврологическими и психиатрическими последствиями ПКС обычно сообщают о хронической усталости, непереносимости физических и умственных нагрузок, когнитивных расстройствах, нарушениях сна, обонятельных и вкусовых нарушениях [83, 217, 236, 316]. Кроме того, у пациентов, перенесших острый COVID-19, описаны нейродегенеративные расстройства, такие как болезнь Паркинсона [115] и когнитивные нарушения от мозгового тумана до ускорения болезни Альцгеймера [139]. Также у лиц с ПКС регистрируется целый ряд психических расстройств, включая впервые поставленный психиатрический диагноз таких состояний, как депрессия, тревожность и посттравматическое стрессовое расстройство [49].

Поражение миокарда, миокардит, острая сердечная недостаточность, кардиомиопатия и нарушения ритма были зарегистрированы во время острого периода COVID-19 [58]. Тем самым было показано, что пациенты, которые перенесли тяжелый или длительный COVID, предъявляют жалобы на боль и стеснение в груди, учащенное сердцебиение и перебои в работе сердца, повышение и понижение артериального давления, обморочные состояния [59, 201, 316]. Многочисленные систематические обзоры и метаанализы показывают, что перенесенная инфекция COVID-19 является причиной прогрессирования коронарного атеросклероза, сердечной недостаточности, инфаркта миокарда и кардиогенного шока, тем самым повышая риск сердечных аритмий, при этом стоит отметить, что повышенный риск развития этих осложнений наблюдался даже у лиц, которые не подлежали госпитализации с острым COVID-19 [42, 135, 184, 280].

Кроме того, предшествующее воздействие SARS-CoV-2 повышает риск развития относительно редких аутоиммунных васкулитов, что подтверждается несколькими систематическими обзорами [150, 254, 273].

Период острого COVID-19 связан с протромботическими и коагуляционными состояниями, которые могут привести к повреждению эндотелия сосудов [77, 249] и активации тромбоцитов [227], и напрямую, и/или опосредовано, обуславливает активацию иммунокомпетентных клеток. Механизмы иммунотромбовоспаления характеризуются активацией системы комплемента [73, 140], тромбоцитов и их взаимодействием с лейкоцитами [227, 228], образованием NETs [75, 209, 210], высвобождением провоспалительных цитокинов [124]. Хотя основная доля тромботического повреждения приходится на легкие, выделяют и другие органопатии, связанные с тромботическими последствиями инфекции SARS-CoV-2 [170]. У пациентов, переживших COVID-19, имеется вероятность возникновения новых тромбоэмболических осложнений или ухудшения ранее существующих состояний. Эти лица подвержены высокому риску тромбоэмболии легочной артерии, сердечной недостаточности, остановки сердца, инсульта, инфаркта, а также развитию флебита и тромбофлебита, что в конечном итоге может привести к летальному исходу [179, 194, 267, 284].

Еще одним из возможных источников незавершенного воспаления при ПКС может быть желудочно-кишечный тракт. Известно, что из-за высокой экспрессии ACE2 на щеточной каемке слизистой оболочки тонкого кишечника SARS-CoV-2 продолжает реплицироваться в клетках желудка и кишечника что приводит к его выделению с фекалиями [107, 122, 157, 247, 262, 288]. Распространенность желудочно-кишечных симптомов, включающих диарею, тошноту, рвоту, боли в животе и потерю аппетита в различных исследованиях варьируется: по одним данным они встречаются у 15–50% пациентов [191], по другим такие же желудочно-кишечные проявления затрагивают 10–20% пациентов с COVID-19 [156], а патологические показатели функции печени выявляются у 20% пациентов во время острого COVID-19 [175, 191, 252].

Аналогично, были зарегистрированы и случаи экспрессии рецепторов и последовательного эндокринного повреждения щитовидной железы, гонад и

островков поджелудочной железы [81] у пациентов с COVID-19. Самым распространённым лабораторным маркером в крови являлась гипергликемия [39, 40, 137], что говорило о повышенном риске неблагоприятного исхода COVID-19, а повышенный уровень гликозилированного гемоглобина (HbA1c), при сахарном диабете, был связан с воспалением, гиперкоагуляцией и высокой смертностью [13, 213, 302]. Впервые выявленный диабет и диабетический кетоацидоз были зарегистрированы у пациентов с острым COVID-19 как через прямые, так и через косвенные механизмы [114, 153, 214]. Эндокринные и метаболические нарушения могут встречаться в следующих органах: головной мозг, поджелудочная и щитовидная железы, печень, жировая ткань, яичники и семенники. Данные органы могут быть повреждены вирусной инфекцией прямым или косвенным способом и способствовать манифестации гипергликемии или резистентности к инсулину после COVID-19, развитию подострого тиреоидита или тиреоидного шторма [13]. Важно отметить, что гормоны играют ключевую роль в модуляции и регуляции иммунитета, а их взаимодействие с иммунной системой создает сложную и постоянно меняющуюся картину эндокринопатий, связанных с COVID-19 и в дальнейшем сопровождающих ПКС.

Как было показано, предполагаемая распространенность синдрома после COVID составила 47,2% у мужчин и 52,8% у женщин [234]. Женщины были более восприимчивы к развитию длительного COVID, демонстрируя более широкий спектр симптомов, чем мужчины. Они, как правило, испытывают более серьезные симптомы, такие как усталость и нейропсихиатрические проблемы, которые сохраняются в течение более длительного времени по сравнению с мужчинами. Кроме того, женщины более склонны к различным проблемам со здоровьем, включая нарушение менструального цикла, проблемы с фертильностью, развитие сексуальной дисфункции и повышенный психологический стресс в результате длительного COVID [180, 183, 188, 271, 283, 300]. Дальнейшие нарушения в работе иммунной системы могут сопровождаться развитием аутоиммунных

механизмов, различных фенотипов аллергических заболеваний, истощением и функциональной неполноценностью клеток врожденного и адаптивного иммунитета [22, 144]. При этом у данных пациентов с продолжительными симптомами наблюдаются усиленные иммунные реакции, специфичные для SARS-CoV-2, а особенно выраженная иммунная дисрегуляция [141, 189, 231, 260, 293].

Инфекция SARS-CoV-2 связана с повышенным риском развития различных аутоиммунных заболеваний (АИЗ) после острой фазы болезни [273]. В некоторых исследованиях было отмечено, что COVID-19 может вызывать целый ряд органоспецифических и распространенных аутоиммунных состояний. К органоспецифическим относят АИЗ щитовидной железы, сахарный диабет 1 типа, псориаз, рассеянный склероз и синдром Гийена-Барре. Распространенные системные АИЗ включают: ревматоидный артрит, анкилозирующий спондилит, системная красная волчанка, дерматополимиозит, системный склероз, синдром Шегрена, болезнь Бехчета, ревматическая полимиалгия, васкулит, псориаз, воспалительные заболевания кишечника, целиакия, диабет 1 типа и антифосфолипидный синдром [168, 254].

Предложено множество теорий, которые помогают понять молекулярные механизмы иммунной дисрегуляции, связанной с COVID-19. Они включают молекулярную мимикрию, вызванную вирусными белками, системные проявления и полиорганное повреждение, обусловленное повсеместной экспрессией рецептора ACE2. Кроме того, активация иммунных клеток, высвобождение аутоантигенов из тканей, поврежденных вирусом, и распространение эпитопов SARS-CoV-2 также играют важную роль в этом процессе [264]. Одним из классических примеров молекулярной мимикрии при аутоиммунных заболеваниях является иммунный ответ на ВЭБ инфекцию у пациентов с СКВ [99, 174]. Другие исследования также выявили аутоантитела против IFN $\alpha$ , HГ, соединительной ткани, циклических цитруллинированных

пептидов (АЦЦП) и антинуклеарные антитела (ANA) у 10–50% пациентов с COVID-19 [45, 46, 65, 162].

Накопленные за последние годы, данные продемонстрировали негативное влияние инфекции COVID-19 на течение аллергических заболеваний, как в остром периоде болезни, так и в долгосрочной перспективе. Установлено, что у людей, ранее не имевших аллергии, наблюдается высокая частота аллергических реакций после перенесенной новой коронавирусной инфекции. Аллергические реакции, возникающие на фоне инфекции, могут ухудшать течение сопутствующих заболеваний. В некоторых больших когортных исследованиях было выявлено значительное увеличение новых случаев атопического дерматита (АД), аллергического ринита (АР) и бронхиальной астмы (БА), связанных с худшими клиническими исходами COVID-19 у пациентов в остром периоде болезни и в постковидном периоде [41, 149, 164, 256].

Также у пациентов с ПКС, имеющих дерматологические проявления предполагались такие причины иммунной дисрегуляции, как вирусная персистенция, постоянно активированная система комплемента, сохранение нерегулируемых иммунных реакций, проявляющихся устойчивыми высокими уровнями цитокинов IL1 $\beta$ , IL6 и TNF и хемокинов MCP1 и IL8 в плазме крови примерно через 12 месяцев после заражения COVID-19. Другая группа исследователей также сообщала о устойчиво высокой экспрессии IFN I типа и IFN III типа (IFN  $\lambda$ 1), активированных миелоидных клеток, Т-клеток и низких наивных Т- и В-клеток [143, 173, 202, 222]. Кожные проявления COVID-19 обычно проявлялись одновременно с другими симптомами COVID-19 или после них [286].

IFN играют ведущую роль в иммунной системе, образуя первую линию защиты человека в ответ на вторжение патогенов. IFN I типа (IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , IFN $\omega$ , IFN $\epsilon$ , IFN $\kappa$ , IFN $\delta$  и IFN $\tau$ ) [226] обладают мощным противовирусным действием, и участвуют, как в реакциях врождённого иммунитета, так и во внутриклеточном



иммунитете [160]. Они связываются с рецептором IFN $\alpha$  (IFN $\alpha$ R), который состоит из двух субъединиц: IFN $\alpha$ R1 и IFN $\alpha$ R2, после чего происходит активация киназы семейства Janus (JAK1 и TYK2), что впоследствии приводит к фосфорилированию STAT1/STAT2. Активированные STAT-белки димеризуются, перемещаются в ядро и регулируют экспрессию генов, индуцируемых IFN I типа, стимулируя выработку цитокинов и повышая уровень противовирусных эффекторных белков [257].

IFN II типа (IFN $\gamma$ ) в основном вырабатываются естественными клетками-киллерами (NK). Кроме того, NKT-клетки играют ключевую роль в защите организма от внутриклеточных патогенов, участвуя в презентации антигена, дифференцировке и активации макрофагов, продукцией провоспалительных цитокинов, клеточной гибели, а также в иммунитете к опухолям и аутоиммунных реакциях [50]. Рецептор IFN $\gamma$  (IFN $\gamma$ R) обнаруживается практически во всех видах клеток, кроме зрелых эритроцитов. Аналогично IFN I типа, после связывания с IFN $\gamma$ R, IFN $\gamma$  активирует путь JAK-STAT, что приводит к различным биологическим реакциям.

IFN III типа (IFN  $\lambda$ ) секретируются преимущественно эпителиальными клетками, и действуют в основном на их поверхностях из-за ограниченной экспрессии рецепторов. Рецепторы IFN III располагаются на эпителиальных клетках желудочно-кишечного тракта, дыхательных путях и урогенитальном тракте, а также в тканевых барьерах, включая гематоэнцефалический барьер и плаценту. Хотя многие действия IFN I и III имеют схожие эффекты, различия в их реакциях позволяют IFN III типа обеспечивать барьер на первом уровне проникновения патогенов в местах локализации его рецепторов, минимизируя активацию системного ответа с привлечением IFN I типа. IFN III типа [138, 167].

При COVID-19 активируется множество одновременно действующих факторов, связанных с присутствием про- и противовоспалительных цитокинов, что в конечном итоге влияет на результат болезни. При заражении вирусом, в

зависимости от иммунного состояния и наличия сопутствующих заболеваний, могут развиваться чрезмерные воспалительные процессы.

Эти процессы проявляются через избыточное выделение провоспалительных цитокинов, таких как IL1, 6, 8, 17 и 1 $\beta$ , а также моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1) и TNF $\alpha$ , что может привести к так называемому "цитокиновому шторму" (ЦШ) [36]. Подавление такого воспалительного процесса позволяет пациенту избежать начального этапа ЦШ с последующим развитием острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), но при этом переходя к более длительному периоду иммуносупрессии. Этот период характерен для синдрома системного длительного воспаления, который обычно возникает после сепсиса и может стать одной из причин выраженного ПКС [44, 127, 282].

При острой форме COVID-19 у пациентов с тяжелой пневмонией или ОРДС наблюдается парадоксальное увеличение количества НГ и снижение количества лимфоцитов, не характерных для течения типичных вирусных инфекций, с чрезмерным повышением уровня цитокинов [12, 33].

Метаанализ Espín и др. показал, что повышенные уровни цитокинов (IL2, 4, 6, 10, 17, IFN $\gamma$ , CCL5, CCL3) во время острой фазы COVID-19 могут предсказать высокий риск развития и тяжесть течения ПКС [61].

В систематическом обзоре Lai Y.J и др. были выявлены основные иммунологические маркеры в крови при различных вариантах ПКС, которые включали повышенные уровни цитокинов (IL6, TNF $\alpha$ , IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$ , CCL2, CCL3, CXCL10); белков острой фазы (СРБ, фибриногена, ферритина); и маркеров эндотелиоза и паракоагуляции (VEGF, sVEGFR, sVCAM-1, Д-димера), фактора роста гепатоцитов (HGF) [52]. Кроме того, отдельные критерии эндотелиоза, наблюдаемые у некоторых пациентов с симптомами ПКС, также включали признаки тромбофилии и системной активации тучных клеток [279, 313] и повышение уровня в крови других цитокинов (IL1 $\beta$ , 2, 10) [133, 186].

Индикаторами слабовыраженного воспаления являются умеренные признаки системного воспалительного ответа при отсутствии классического воспаления: повышенный уровень СРБ и фибриногена, а также повышенное соотношение нейтрофилов и лимфоцитов, обнаруживаемых при ПКС даже после легкой или бессимптомной инфекции COVID-19 [232, 235].

С целью определения биологического разнообразия ПКС было проведено широкомасштабное протеомное исследование, при котором была выявлена его гетерогенность, имеющая диагностическую ценность для дифференциации воспалительного и невоспалительного характеров течения ПКС. При этом пациенты с воспалительным ПКС (более 60%) разделялись на две группы: в первой отмечалось наличие общих признаков системной воспалительной реакции с повышением уровня сывороточных провоспалительных цитокинов (IL1, 6, TNF $\alpha$ ), хемокинов, интерферона- $\gamma$  (IFN II типа) и активацией NF- $\kappa$ B в лейкоцитах, в то время как во второй группе также отмечались признаки продолжающегося воспаления, но с более высоким сигналингом TNF $\alpha$  и выраженной активацией и дегрануляцией НГ с последующим развитием нетоза, предположительно, вызванного повышенным уровнем IFN $\alpha$  (IFN I типа) [225].

Давно известна взаимосвязь между постоянной стимуляцией IFN и активацией НГ, что описано при многочисленных воспалительных заболеваниях и тем самым может объяснить чрезмерную дегрануляцию НГ и образование NETs, которые были выявлены у некоторых пациентов с воспалительным вариантом течения ПКС.

В то же время часть исследований демонстрирует различную степень недостаточности системы интерферонов I и III типов, как при COVID-19 в разгар болезни, так и в постковидном периоде [38, 294]. В некоторых из них было показано, что при среднетяжелой форме коронавирусного заболевания анализ состояния системы интерферонов не выявил динамики изменения или восстановления продукции IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$  на фоне противовирусной терапии, как в

остром периоде, так и при выздоровлении в период реконвалесценции. При этом параллельно наблюдались повышенные уровни нейтрофил-ассоциированных цитокинов IL8, IL18, IL17A, VEGFA, что в свою очередь провоцировало активированные НГ к формированию NETs и индуцировало тромбоциты к образованию иммунотромбов [3, 220].

Также имеются данные о том, что недостаточная индуцированная продукция IFN I и II типов у пациентов с атипичными хроническими ГВИ на фоне инфицирования COVID-19 может быть ассоциирована с пониженным уровнем экспрессии ядерного фактора NF- $\kappa$ B и его вариативными изменениями [20, 29].

После вспышки COVID-19, в нескольких исследованиях было обнаружено, что ранее существовавшие аутоантитела против IFN I типа связаны с тяжестью COVID-19, которая вызвала большой интерес в академических кругах [171, 239]. Были предприняты многочисленные попытки выяснения этиологии интерферонопатии при COVID-19, одна из причин указывала на врожденные ошибки продукции и амплификации IFN I типа с потерей их функций, зависящие от TLR3 и IRF7, что лежит в основе развития тяжелой для жизни пациентов пневмонии, вызванной SARS-CoV-2 [148]. Мутации с потерей сигналинга в генах IFN показали, что нейтрализующие аутоантитела класса IgG, способные нейтрализовать высокие концентрации IFN $\alpha$ , IFN $\beta$  и IFN $\omega$ , и присутствовали примерно у 10% пациентов с критической пневмонией COVID-19, но при этом отсутствовали у пациентов с легкими или бессимптомными формами инфекции [45]. Их присутствие также было связано с более высоким риском смертности при COVID-19, так было показано, что циркулирующие аутоантитела, нейтрализующие IFN $\alpha$ , IFN $\omega$  и/или IFN $\beta$ , были выявлены примерно у 20% умерших пациентов во всех возрастных категориях. В общей популяции такие антитела обнаруживаются у около 1% людей младше 70 лет и более чем у 4% лиц старше 70 лет [239, 285, 291, 292]. Другая причина наличия аутоантител к IFN I

типа может обнаруживаться у пациентов, получавших лечение IFN  $\alpha$  или IFN $\beta$  [155].

Нейтрализующие аутоантитела к IFN I типа могут препятствовать его связыванию с IFN $\alpha/\beta$ R и активации сигнального пути, блокировать противовирусный эффект IFN I типа и приводить к опасным для жизни случаям COVID-19. Независимо от типа IFN, высокие титры аутоантител к IFN в сыворотке крови препятствуют активации нисходящего ответного пути, блокируя взаимодействие между IFN и их рецепторами. Это, в свою очередь, приводит к увеличению частоты возникновения инфекционной и аутоиммунной патологии в постковидном периоде. У пациентов с ПКС наблюдается серьезное аутоиммунное поражение, связанное с повышенной частотой образования аутоантител, включая аутоантитела к IFN [10].

Наличие антител к IFN $\alpha$ , способных частично или полностью нейтрализовать биологических эффекты этого цитокина либо путем блокирования его рецепторов на поверхности эффекторных клеток, либо за счет связывания и блокирования противовирусной активности как эндогенного IFN $\alpha$ , так и препаратов реIFN $\alpha$ , является неблагоприятным прогностическим признаком.

Учитывая лабораторные и аутопсийные исследования, были предложены несколько механизмов поражения ЦНС: непосредственное инфицирование периферических отделов нейронов, и продвижение вируса в ЦНС по аксональным путям [206], а также проникновение вируса через гематоэнцефалический барьер в результате повышения его проницаемости на фоне воспаления [196]. Инфламмосомы вызывают воспаление в ответ на инфекционные патогены, но чрезмерное воспаление может привести к хроническим или системным воспалительным заболеваниям. Часть ученых выдвинули гипотезу, что симптомы посткоронавирусного синдрома связаны со схожими патофизиологическими событиями, такими как развитие и поддержание боли за счет высвобождения

микроглией провоспалительных медиаторов и инициации воспалительных процессов [111].

Было рассмотрено несколько гипотез патогенеза ПКС связанного с СХУ, в том числе и персистирующие резервуары SARS-CoV-2 в тканях с замедленным клиренсом белка или РНК [70, 204], 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 с реактивацией основных патогенов или без нее, включая герпесвирусы, такие как ВЭБ и ВЧГ 6 и другие [29, 246].

Следует отметить, что в постковидном периоде при развитии ПКС в отдельных органах и тканях отмечаются остаточные локальные проявления вялотекущего воспаления и усиление физиологического провоспалительного тканевого стресса без характерных признаков системного воспаления, что особенно важно учитывать у относительно молодых лиц, не имеющих хронических заболеваний.

Важно отметить, что СХУ может быть вызван локализованным слабовыраженным воспалением в определенных частях центральной нервной системы, включая латентные хронические вирусные инфекции и поствирусные состояния. В настоящее время имеются многочисленные доказательства связи СХУ с ПКС, при этом вероятными этиологическими факторами поствирусного СХУ выделяют такие герпесвирусы, как ВЭБ, ВЧГ6 и ЦМВ [56, 69, 80, 109, 125, 185, 237, 242, 306]. Таким образом, следует предположить, что SARS-CoV-2 можно добавить к списку вирусных инфекций, вызывающих СХУ и КР. Данные последних лет сообщают об увеличении случаев реактивации герпесвирусов у больных COVID-19 и вакцинированных лиц. Коинфекция SARS-CoV-2 и ГВИ, вакцинация могут усугубить заболевания, связанные с герпесвирусом, за счет реактивации вирусов в латентно инфицированных клетках-хозяина.

Проведенное ретроспективное исследование 100 пациентов с тяжелой степенью COVID-19 показало, что 56,1% пациентов перенесли вирусную реактивацию герпесвируса через 10 дней после заболевания, в том числе 12% для ВПГ, 58% для ВЭБ и 19% для ЦМВ соответственно [130]. Все больше данных подтверждают связь между реактивацией ВЭБ и COVID-19. В начале пандемии COVID-19 в нескольких отчетах описывались случаи коинфекции ВЭБ и SARS-CoV-2 у пациентов [105, 120, 121, 263]. В другом исследовании было показано, что воспаление, связанное с COVID-19 способствовало реактивации ВЭБ, и, по всей видимости, было основной причиной ПКС у пациентов, перенесших COVID-19, хотя основные патофизиологические механизмы не были определены [158]. Очередное исследование, проведенное в Китае, показало, что в ходе клинического исследования у 67 пациентов с COVID-19 из Уханя была отмечена взаимосвязь между реактивацией ВЭБ и SARS-CoV-2 инфекцией, при этом сообщалось, что 55,2% пациентов с инфекцией ВЭБ в анамнезе имели положительный тест на ВЭБ. Выявление Ig M и Ig G вирусного капсидного антигена - VCA, маркер реактивации ВЭБ, в течение 2 недель после заражения SARS-CoV-2 [230]. Еще одно исследование, проведенное во Франции, подтвердило, что пациенты в критическом состоянии с COVID-19, пребывающие в отделениях интенсивной терапии были предрасположены к реактивации ГВИ вирусов, включая ВЭБ, ЦМВ и ВЧГ6. Было отмечено, что у 82% таких больных выявлялась реактивация ВЭБ, а частота реактиваций ЦМВ и ВЧГ6 составила 15% и 22% соответственно. Тем самым авторы пришли к выводу, что реактивация ВЭБ произошла после поступления в стационар и была связана с более длительным пребыванием в отделении интенсивной терапии [131].

Длительная реактивации COVID-19 и ВЭБ оказывает негативное влияние на функции митохондрий, которые важны для полноценного и адекватного иммунного ответа, исследователи предположили, что реактивация ВЭБ у пациентов с длительным COVID может представлять собой второй удар по

митохондриям после острой инфекции COVID-19, который способствует возникновению более долгосрочных симптомов [96, 161, 240, 259].

Исследование французских авторов показало, что пациенты с реактивацией ГВИ имели большую продолжительность ИВЛ, чем пациенты без реактивации, при этом 18% пациентов имели микст реактивацию ВПГ, ЦМВ и ВЧГ6 [129].

Еще одно исследование с участием 80 пациентов с COVID-19 легкой и средней степени тяжести показало, что у 78% респондентов отмечалась одна реактивации ВПГ, у 14% было два приступа, а у 7% было три приступа, при этом приступы были более тяжелыми у 42% пациентов по сравнению с предыдущей реактивацией ВПГ, не связанной с COVID-19. Интересно, что у 35,7% пациентов отмечались начальные клинические проявления ВПГ во время инфекции COVID-19, что предположительно указывает на связь между COVID-19 и первичным инфицированием или реактивацией ВПГ [272]. Также в нескольких исследованиях сообщалось о потенциальной литической реактивации ВПГ во время лечения или после вакцинации против COVID-19 [253, 289, 301].

Реактивация ЦМВ обычно наблюдается у пациентов в критическом состоянии и неудивительно, что она была зарегистрирована у лиц с тяжелой формой COVID-19 и потенциально связана с ко-инфекцией SARS-CoV-2 [200, 215]. Ретроспективное исследование, проведенное в Германии, показало, что у 9% пациентов была выявлена реактивация ЦМВ, из которых более половины получали системное лечение кортикостероидными препаратами, что предположительно доказывает высокий риск активации ЦМВ в остром периоде COVID-19 и на фоне проводимой терапии [72, 251].

Также было отмечено, что у пациентов, госпитализированных в отделение интенсивной терапии в связи с дыхательной недостаточностью с тяжелой формы COVID-19, во время стационарного лечения проявлялись симптомы реактивации ЦМВ, тем самым ученые предположили, что подавление иммунного ответа,



вызванное тяжелой формой COVID-19, может быть основной причиной реактивации ЦМВ [198, 200].

Еще один клинический случай, описанный Amaral P.H. и др. описывает ко-инфекцию COVID-19 и реактивацию ЦМВ на фоне лечения глюкокортикоидными препаратами и проведением иммунобиологического метода лечения [80].

Подавляющее большинство детского и взрослого населения в латентной форме инфицировано ВЧГ6 и ВЧГ7, латентная реактивация которых обычно вызывает розовый лишай и может индуцироваться в условиях иммуносупрессии или при стрессе. В некоторых клинических исследованиях сообщалось об экзантематозных высыпаниях у пациентов с COVID-19, которые могут представлять собой кожные проявления инфекции COVID-19, на фоне реактивации ВЧГ6 и ВЧГ7 [97, 98, 103, 195, 296].

Еще одна группа исследователей сообщала о реактивации ВЧГ6 у нескольких пациентов с COVID-19, что было подтверждено наличием генома SARS-CoV-2, ВЧГ6 и ВПГ1 в мазках из глаз этих пациентов с применением технологии секвенирования нового поколения [229].

Drago F и др. также сообщали о пациенте с розовым лишаем после перенесенного COVID-19, с последующим выявлением ВЧГ6, ВЧГ7 и ВЭБ серологическими методами диагностики и детекция вирусных ДНК ВЧГ6 и ВЭБ, без ВЧГ7 [136]. Следует отметить, что в постковидном периоде при развитии ПКС в отдельных органах и тканях отмечаются остаточные локальные проявления вялотекущего воспаления и усиление физиологического провоспалительного тканевого стресса без характерных признаков системного воспаления, что особенно важно учитывать у относительно молодых лиц, не имеющих хронических заболеваний.

### **1.3 Роль нейтрофильных гранулоцитов в развитии постковидного синдрома, ассоциированного с активацией герпесвирусных инфекций**

На сегодняшний день накоплено значительное количество достоверной информации о строении, функциях и работе НГ. Эти клетки, являющиеся частью иммунной системы, составляют самую крупную группу лейкоцитов, циркулирующих в крови. Они играют ключевую роль в первичной защите организма, обладая выраженным микробицидным и регуляторным потенциалом. НГ способны уничтожать различные патогены (бактерии, вирусы, грибы, одноклеточные организмы) в очагах воспаления, используя разнообразные интрацеллюлярные и экстрацеллюлярные механизмы. НГ при взаимодействии с патогенами образуют внеклеточные сетеподобные структуры, содержащие ДНК, ферментные и неферментные белки [5, 32, 304].

Открытие нетоза показало ранее никем не описанную способность НГ к образованию NETs, как способ борьбы НГ с различными патогенами. Под воздействием различных стимулов *in vivo*, таких как патогены, компоненты бактерий, активированные тромбоциты, аутоантитела, перекись водорода, IL8, кристаллы уратов и молекулярные паттерны, связанные с опасностью (DAMP), нейтрофилы могут образовывать NETs [89, 151, 211].

В зависимости от различных стимулов, NETs образуются по различным сигнальным путям, они могут быть активированы через рецепторы, связанные с G-белком (GPCR), хемокиновые и цитокиновые рецепторы, Toll-подобные рецепторы и Fc-рецепторы (CD64 (FcγRI), CD32 (FcγRII), CD16 (FcγRIII) [53, 31]. Эти сигналы проникают внутрь клетки, вызывая выход ионов кальция  $\text{Ca}^{2+}$  из эндоплазматического ретикулума и стимулируя активацию NADPH-оксидазы (NOX), активация которой приводит к образованию ROS. Однако исследования *in vitro* показали, что ROS, помимо NOX, также происходят из митохондрий и играют важную роль в образовании NETs [197]. ROS воздействуют на

азурофильные гранулы, что приводит к высвобождению нейтрофильной эластазы (NE) и миелопероксидазы (MPO) в цитозоль клетки. NE в цитоплазме разрушает актин и мембраны ядер нейтрофилов, после чего вместе с MPO проникает в ядро. Под воздействием ROS также активируется фермент PAD4, который провоцирует цитруллинирование гистонов в нейтрофильной ДНК. Происходит деконденсации хроматина ядра под действием NE, MPO и цитруллинированием гистонов. В дальнейшем происходит разрушение ядерной оболочки НГ, что приводит к выходу деконденсированного хроматина в цитозоль, внутри которого происходит его связывание с цитоплазматическими белками и ферментами. Образование NETs заканчивается разрывом цитоплазматической мембраны НГ под воздействием гасдермина D, что приводит к выходу хроматина из клетки [93, 128].

Гистоны MPO, NE и катепсин G в составе NETs обладают выраженным микробицидным действием, уничтожая внеклеточно расположенные микроорганизмы, но при этом они, при определенных условиях, могут являться первичными компонентами деструкции тканей, негативно влиять на физиологическую функцию клеток, в том числе эндотелиальных, вызывая воспаление [90, 92, 275]. Значимость НГ в развитии COVID-19 очевидна, поскольку они активно рекрутируются в очаги воспаления, активируются и способствуют образованию NETs, в соответствии с описанным выше механизмом.

Ретроспективное исследование, проведенное в группе пациентов с COVID-19, показало, что нейтрофилез и интенсивность образования NETs коррелируют со степенью тяжести и высоким процентом поражения легочной паренхимы, выявленного при проведении компьютерной томографии [108]. Также известно, что неуправляемая активация НГ, вызванная PAMP и DAMP, может привести к интенсивной активации макрофагов с высвобождением большого количества провоспалительных цитокинов [54, 82, 86]. Таким образом, при коронавирусной инфекции иммунные механизмы нацелены на развитие острого воспаления,

направленного на уничтожение SARS-CoV-2, однако чрезмерно гиперактивное иммунное реагирование приводит к необратимому повреждению тканей [275]. ЦШ при COVID-19 приводит к развитию ОРДС, полиорганной недостаточности и может стать причиной летального исхода [187].

НГ способны фагоцитировать вирионы и апоптотические клетки, содержащие вирус, что способствует удалению вируса, предотвращая его репликацию и инфицирование соседних клеток. Современные исследования, доказывающие многофункциональность НГ указывают на существование различных субпопуляций этих клеток, как при физиологических, так и при патологических состояниях [48, 64, 126].

Субпопуляции НГ могут демонстрировать различную функциональную активность, которая напрямую зависит от их фенотипических характеристик, включая количество и плотность функционально-значимых мембранных экспрессируемых рецепторов, таких как CD11b, CD62L, CD66, CD63, CD64, CD32 и CD16 и др. НГ могут переключать свои фенотипы в зависимости от микроокружения, что приводит к формированию различных субпопуляций, способных оказывать как положительное регуляторное влияние на ход инфекционного процесса, так и проявлять супрессорный эффект, противоречащий обычным эффекторным функциям НГ, или же наоборот обладать гиперэргическим повреждающим воздействием [21, 22, 23, 32].

По данным литературы известно, что CD16 (FcγRIIIb) – низкоаффинный наиболее распространенный на поверхности НГ рецептор, взаимодействующий с FcγRIIa и FcγRIIIb, инициирует сигнальные каскады, которые приводят к активации различных эффекторных механизмов, таких как антителозависимая клеточная цитотоксичность, фагоцитоз, дегрануляция, образование ROS и выработка цитокинов [100, 117].

Повышенная экспрессия CD16 рецептора на НГ свидетельствует о чрезмерной активации клетки, а сниженная экспрессия или полное отсутствие

CD16 рецептора характеризует незрелость или несостоятельность НГ, что наблюдается при тяжелых бактериальных и/или вирусных инфекциях или некрозах тканей [12, 16].

Было показано, что экспрессия CD16 обеспечивала дегрануляцию и цитотоксичность, опосредованную иммунными комплексами, которая не зависела от рецепторов различных Т-клеток, что не наблюдалось ранее при других заболеваниях. Т-клетки, несущие CD16 у пациентов с COVID-19, способствовали повреждению эндотелиальных клеток микрососудистого русла и высвобождению хемоаттрактантов для НГ и моноцитов. Клоны CD16 Т-клеток сохранялись после острого периода заболевания, при этом они продолжали сохранять свой цитотоксический фенотип [74]. Одним из наиболее вероятных последствий вовлечения CD16 при тяжелом COVID-19 является усиленная дегрануляция Т-клеток во время их взаимодействия с эндотелиальными клетками [35, 101].

На поверхности большинства клеток человека находятся поверхностные рецепторы к интерферонам I и II типа, такие как IFNAR1 для  $IFN\alpha/\beta$  и CD119 для  $IFN\gamma$  (IFNGR). Эти рецепторы играют ключевую роль в регуляции врожденных противовирусных ответов, включая и систему НГ [147]. В настоящее время установлено, что НГ экспрессируют мембранные рецепторы к  $IFN\alpha$  и  $IFN\gamma$ , образуя субпопуляции с характерным фенотипом. Связываясь с этими рецепторами,  $IFN\alpha$  и  $IFN\gamma$  могут реализовывать свои регуляторные функции и модулировать функциональную активность НГ [8].

По литературным данным было выявлено, что у пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми формами COVID-19 наблюдается изменение фенотипа субпопуляций НГ, которые экспрессируют рецепторы к  $IFN\alpha$  и  $IFN\gamma$ , а также активационный CD16 рецептор, отвечающий за цитотоксическую активность НГ по отношению к клеткам, инфицированным вирусами. Выявленные трансформации фенотипа в представленных субпопуляциях  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^-CD119^+$ ,  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$ ,  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$

свидетельствуют о готовности активированных НГ воспринимать и отвечать на цитокиновые и интерфероновые сигналы, что является важным для назначения дальнейшей таргетной иммунотерапии [12, 19].

В некоторых работах также отмечалось снижением уровня  $CD3^+CD4^+$  Т-лимфоцитов,  $CD3^+CD8^+$  Т-лимфоцитов, ТНК-лимфоцитов, некоторый рост Т-хелперов, увеличение соотношения CD4 и CD8 клеток, уровней В-лимфоцитов, за счет В-общих и В1-, В2-лимфоцитов не клеток памяти, относящихся к плазмócитам. Выявленные нарушения, возможно, свидетельствуют о том, что у таких пациентов в большей степени формируется иммунный ответ по Th2-типу, что может способствовать возникновению или обострению аллергических и аутоиммунных процессов за счет гиперактивации В-клеточного звена иммунной системы [4, 6, 24].

Ранее другими авторами было показано, что в течение первых 3 месяцев после выздоровления у пациентов с легкой и средней тяжестью течения острого COVID-19 наблюдалось значительное снижение общего количества НК-клеток [146]. Также фиксируется уменьшение количества,  $CD19^+$  В-лимфоцитов и  $CD16^+CD56^+$  НК-клеток крови, что, наряду с бактериально-вирусной коинфекцией, является причиной развития бактериальных пневмоний и приводит к утяжелению состояния и, зачастую, к смерти пациента [68]. Снижение Тс-клеток и нарушение регуляции Th1/Th2 ответов также может способствовать обострению заболеваний, вызванных хроническими персистирующими вирусами, такими как герпесвирусы. Многие авторы связывают подобные нарушения в функционировании этих клеток со снижением противовирусной активности иммунной системы. Это может приводить как к недостаточному ответу на новые вирусные антигены, так и к активации хронических вирусных инфекций [68].

Опираясь на полученные, ранее данные в сочетании с появлением новых исследований и знаний о фенотипах НГ и их иммуномодулирующих функциях, ориентируясь на механизмы, регулирующие эти функции, представляется

возможным своевременное выявление дефектов функционирования НГ при иммунозависимых заболеваниях, и разработка новых таргетных иммунотерапевтических подходов.

#### **1.4 Иммунотерапевтические стратегии, направленные на дисфункции нейтрофильных гранулоцитов при постковидном синдроме, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций**

По данным литературы имеется положительный опыт использования во время пандемии COVID-19 в Китае иммуномодулирующего пентапептида тимопентина (Arg-Lys-Asp-Val-Tyr, RKDVY, TP5), являющегося активным центром гормона тимуса тимопоэтина [218]. В России же зарегистрирован лекарственный иммуномодулирующий препарат, активной субстанцией которого является Гексапептид: Arginyl-alpha-Aspartyl-Lysyl-Valyl-Tyrosyl-Arginine (ГП) представляет собой синтетический аналог активного центра гормона тимуса – тимопоэтина, сохраняющий все биологические функции исходного гормона тимуса [11, 31]. Этот пептид обладает положительным иммунорегулирующим эффектом на нарушенную функцию иммунной системы, способствуя восстановлению Т-клеточной активности, увеличению численности и активности НГ и моноцитов, а также нормализации синтеза цитокинов. Кроме того, отмечены его гепатопротекторные и антиоксидантные свойства, а также способность увеличивать эффективность антибактериальной терапии и препятствовать развитию множественной лекарственной устойчивости организма [11, 22].

Изучение молекулярных механизмов нарушений в системе НГ у пациентов с проявлениями ПКС, в частности регуляторных субпопуляций экспрессирующих IFN $\alpha$ / $\beta$ R, IFN $\gamma$ R (CD119) и CD16 рецепторов на мембране НГ, обеспечивающих взаимодействие между врожденным и адаптивным иммунитетом, является

актуальным и представляет несомненный интерес, а изучение эффектов влияния ГП на фенотип и функции НГ может помочь в поиске терапевтических стратегий. Нарушения в работе иммунной системы в противовирусной защите при ПКС могут сопровождаться истощением и функциональной неполноценностью клеток врожденного и адаптивного иммунитета с последующим прогрессированием нарушений молекулярных механизмов, связанных с продукцией интерферона (IFN) возникших при остром COVID-19 [30]. В частности, было показано, что при COVID-19 отмечается подавление выработки IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$ , увеличение концентрации сывороточных цитокинов, связанных с активацией НГ, изменение состава и характеристик субпопуляций нейтрофилов, а также изменение их функций [19]. Также продемонстрированы эффекты позитивного влияния рекIFN $\alpha$ 2b *in vitro* на количественные и фенотипические характеристики субпопуляций НГ [33]. Также были обнаружены различные дисрегуляторные нарушения в системе противовирусной иммунной защиты и системе IFN у пациентов с атипичными хроническими активными ГВИ, что приводит к развитию состояния иммунокомпрометированности у пациентов с ПКС. Эти нарушения могут проявляться как локально, так и системно, и считаются одним из основных признаков постковидного периода [22].

НГ, как эффекторные и регуляторные клетки ИС, экспрессируют на своей поверхности мембранные рецепторы к IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$ , что позволяет формировать субпопуляции с определенным фенотипом. Взаимодействуя с указанными рецепторами, IFN I и II типов способны осуществлять свои регуляторные функции и влиять на функциональную активность НГ [212]. Таким образом, изучение молекулярных механизмов нарушений не только в остром периоде COVID-19, но и в постковидном периоде, особенно у пациентов с проявлениями ПКС, связанных с продукцией IFN, рецепторной функцией НГ – IFN $\alpha$ / $\beta$ R, CD119 (IFN $\gamma$ ) на мембране НГ периферической крови (ПК), является актуальным и представляет несомненный интерес, что может помочь в поиске терапевтических



стратегий, с целью восстановление и усиление врожденного иммунного ответа против перенесенного SARS-CoV-2.

## ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Общая характеристика объекта исследования

Исследование было проведено в период с 2020 по 2024 год на кафедре клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, а также в отделе клинко-экспериментальной иммунологии централизованной научно-исследовательской лаборатории, на базе государственного бюджетного учреждения здравоохранения Республики Адыгея "Центральная районная больница Майкопского района". Проведение исследования в рамках диссертационной работы было одобрено независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол № 93 от 13.10.2020 г.).

Для достижения поставленной цели и задач было проведено обследование 120 человек, которые были поделены на две группы: 60 условно здоровых добровольцев - группа сравнения (ГС) и 60 пациентов сопоставимых по полу и возрасту (28 женщин и 32 мужчин), после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции среднетяжелой ( $n=46$ ) и тяжелой ( $n=14$ ) степени тяжести давностью от 3 до 6 месяцев с наличием характерных жалоб и клинических проявлений ПКС - группа исследования (ГИ) (Таблица 2.1.1).

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.

В ходе исследования строго соблюдались этические нормы, описанные в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human

Subjects, 2013). Прежде чем включить пациентов в исследование, от каждого было получено письменное согласие на использование их биологических материалов, проведение анализов, а также на сбор, обработку и публикацию результатов.

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.

Таблица 2.1.1 – Структура объектов исследования и проведенных исследований

| Исследуемые группы                                                            |                      |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                     |
|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| Группа                                                                        | Количество пациентов | Возраст   | Проведенные исследования                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Кол-во исследований |
|                                                                               |                      |           | Методы исследования                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                     |
| Ретроспективная группа                                                        | 1000                 | 18-65 лет | 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                   | 18-65 лет |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 60                  |
| Условно-здоровые добровольцы (группа сравнения)                               | 60                   | 18-65 лет | Гемограмма                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 120                 |
|                                                                               |                      |           | Определение фагоцитарной и микробицидной активности НГ, NETs, и клеток в апоптозе                                                                                                                                                                                                                                                                    | 360                 |
|                                                                               |                      |           | Определение цитокинов IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL4, IL6, IL8, IL10, IL17A, IL18, IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$                                                                                                                                                                                                                                     | 1200                |
|                                                                               |                      |           | Содержание общего количества иммуноглобулинов (A, M, G)                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 360                 |
|                                                                               |                      |           | Исследование функционально-значимых мембранных рецепторов субпопуляций НГ с уточнением уровня их экспрессии: CD16 <sup>+</sup> IFN $\alpha$ / $\beta$ RI <sup>+</sup> CD119 <sup>+</sup> , CD16 <sup>+</sup> IFN $\alpha$ / $\beta$ RI <sup>+</sup> CD119 <sup>-</sup> , CD16 <sup>+</sup> IFN $\alpha$ / $\beta$ RI <sup>+</sup> CD119 <sup>+</sup> | 360                 |
| Пациенты, перенесшие SARS-CoV-2 инфекцию (группа исследования)                | 60                   | 18-65 лет | 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         |
| Экспериментальные группы в системе <i>in vitro</i>             |    |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |             |
| Пациенты, перенесшие SARS-CoV-2 инфекцию (группа исследования) | 60 | 18-65 лет | Изучение влияния имунотропного ГП и рекIFN $\alpha$ 2b на плотность экспрессии функционально-значимых мембранных рецепторов и количество НГ: CD16 <sup>+</sup> IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 <sup>-</sup> CD119 <sup>+</sup> , CD16 <sup>+</sup> IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 <sup>+</sup> CD119 <sup>-</sup> | 360         |
|                                                                |    |           | Определение фагоцитарной и микробицидной активности НГ, NETs, и клеток в апоптозе                                                                                                                                                                                                                      | 360         |
| <b>Всего</b>                                                   |    |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b>4910</b> |

Пациенты исследуемой группы, подлежали диспансерному наблюдению в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 июля 2021 г. № 698н "Об утверждении Порядка направления граждан на прохождение углубленной диспансеризации, включая категории граждан, проходящих углубленную диспансеризацию в первоочередном порядке", где поясняется, что углубленную диспансеризацию вправе пройти граждане, переболевшие новой коронавирусной инфекцией COVID-19; планируемая дата проведения углубленной диспансеризации устанавливается не ранее 60 календарных дней после выздоровления гражданина, перенесшего новую коронавирусную инфекцию COVID-19, при оказании ему медицинской помощи в амбулаторных условиях или в условиях стационара.

### Дизайн исследования:

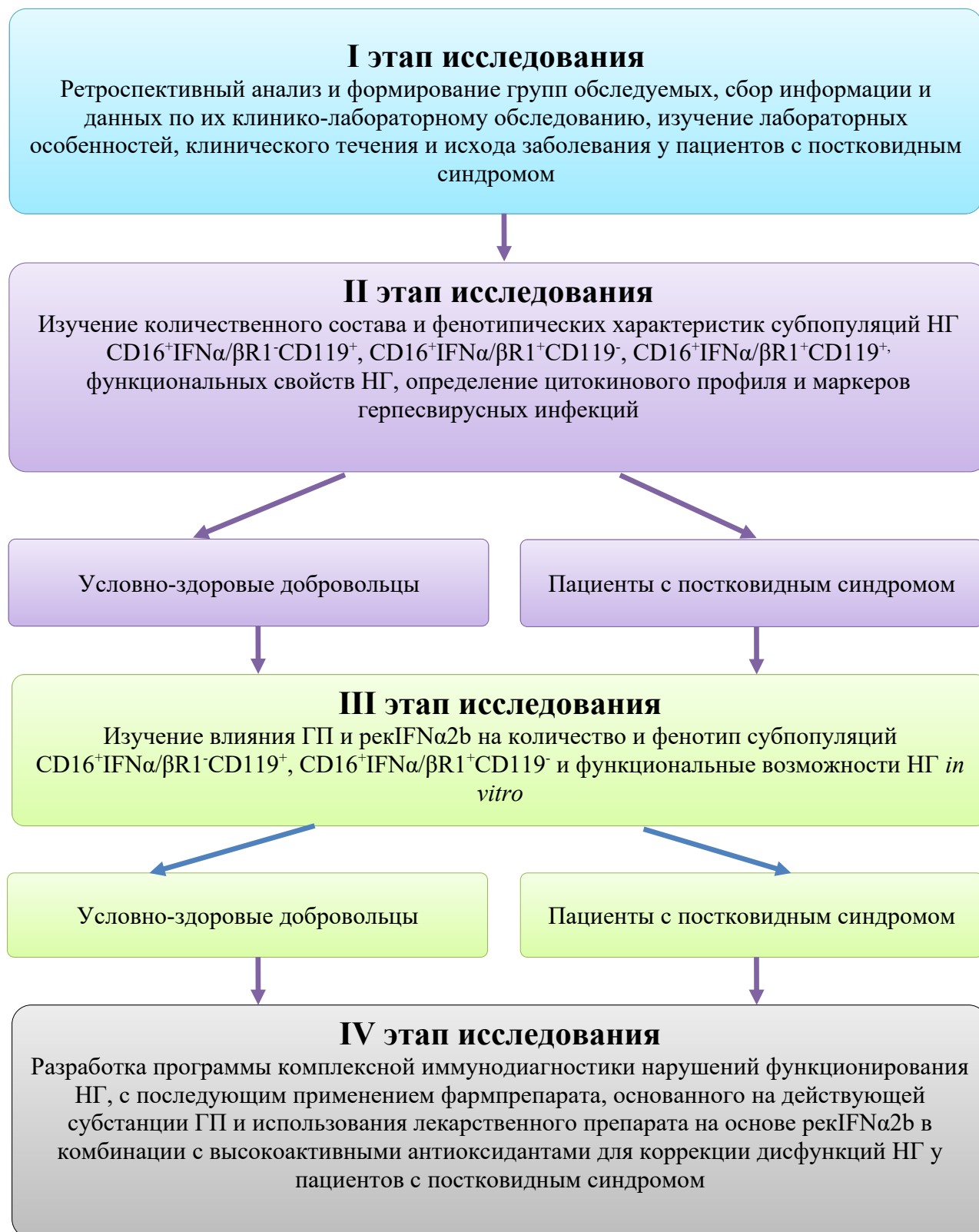


Рисунок 2.1.1 – Дизайн исследования

## **2.2 Методы исследования**

### **2.2.1 Клинические методы исследования**

Оценка клинического статуса включала в себя: сбор жалоб, анамнеза заболевания и жизни пациента, иммунологического и аллергологического анамнеза, объективный осмотр, физикальное обследование с оценкой объективного статуса и клинического течения постковидного периода. Подбор пациентов в группу исследования проводился с учетом наличия клинических признаков и проявлений ПКС различной степени выраженности, согласно модифицированному оценочному опроснику по пятибалльной шкале: 0 баллов - отсутствие симптомов; 1 балл - минимальные проявления ПКС; 2 балла - средняя выраженность проявлений ПКС; 3 балла - тяжелая степень выраженности проявлений ПКС; 4 балла - очень тяжелая степень проявлений ПКС [44].

Опросник содержал следующие жалобы:

- Синдром хронической усталости, непереносимость физической нагрузки, снижение работоспособности, повышенная утомляемость;
- Снижение процессов запоминания, трудности с концентрацией внимания, ощущение тумана в голове;
- Головная боль, головокружение, мигрень;
- Артралгии, миалгии;
- Панические атаки, расстройства настроения, эмоциональная лабильность, психогенная депрессия;
- Нарушения засыпания и сна;
- Повышенная потливость, субфебрилитет;
- Кашель и одышка;
- Клинические проявления ГВИ.

Выраженность клинических проявлений представляли в виде общей суммы баллов.

В исследовании использовались данные историй болезни, выписные эпикризы, амбулаторные карты и анкеты, разработанные в соответствии со шкалой выраженности клинических проявлений ПКС у пациентов, перенесших COVID-19.

Для диагностики и прогноза развития постковидных осложнений, после перенесенного COVID-19 в результате анализа ретроспективного исследования был разработан и внедрен в лечебный процесс новый лабораторный диагностический маркер, используя возможности которого можно было бы предположить возникновение осложнений в постковидном периоде, а также на раннем этапе диагностировать формирование ПКС. Интеграционный диагностический показатель (ИДП) был зарегистрирован в Роспатенте, как ЭВМ программа для практического здравоохранения и объединяет соотношение относительного количества нейтрофильных гранулоцитов (НГ) и лимфоцитов (Л), а также уровень С-реактивного белка (СРБ):  $\text{ИДП} = (\% \text{НГ} * \text{СРБ}) / \% \text{Л}$ . Важно отметить, необходимость включения в формулу ИДП относительного количества НГ, которые играют ключевую роль, как в иммунопатогенезе COVID-19, так и в формировании ПКС [1].

Для диагностики и прогноза течения уже, сформировавшегося ПКС с развитием характерных осложнений и формированием СХУ, когнитивных нарушений и активации ГВИ, в качестве программы для ЭВМ нами также был разработан и зарегистрирован в Роспатенте интеграционный диагностический критерий (ИДК), который характеризует состояния системы НГ у пациентов с ПКС.  $\text{ИДК} = \% \text{ неизмененных НГ} / \% \text{ клеток, сформировавших NETs и \% клеток в состоянии апоптоза}$ . Интенсивность образования NETs в организме коррелирует с тяжестью протекания воспалительного процесса и является прогностическим фактором в развитии тяжелого течения ПКС. Гиперактивация НГ с формированием NETs способствует развитию иммунотромбозов, коагулопатий и нейроиммуновоспаления, опосредованных через процессы



нетоза, что напрямую коррелирует с риском развития и тяжестью протекания ПКС [7].

## **2.2.2 Лабораторные методы исследования**

### **2.2.2.1 Общий анализ крови с изучением морфологического состава клеток**

Проведение гемограммы проводилось на автоматическом гематологическом анализаторе MicroCC-20 Plus («High Technology Inc.», США). Изучение морфологического состава клеток крови проводили с помощью световой микроскопии мазка ПК, увеличение 8x100, окрашенного по Романовскому-Гимзе: проводился подсчет лейкоцитарной формулы с последующим выявлением количества НГ, сформировавших NETs и клеток в состоянии апоптоза на 100 посчитанных НГ. Данные представляли в виде интеграционного диагностического критерия (ИДК), разработанного ранее с целью предикции прогноза развития тяжести ПКС [7].

$$\text{ИДК} = \frac{\% \text{ неизменных НГ}}{\% \text{NETs} + \% \text{НГ в апоптозе}}$$

## **2.2.3 Иммунологические методы исследования**

При проведении научного исследования применялись иммунологические методы, позволяющие определить изменение концентрации сывороточных интерферонов и цитокинов, а также выявить дисфункции в системе НГ, с целью оценки состояния клеточного и гуморального звеньев иммунитета.

### **2.2.3.1 Определение концентрации сывороточных интерферонов, про- и противовоспалительных цитокинов**

Методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови определяли концентрацию интерферонов IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$  и цитокинов TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL4, IL6, IL8, IL10, IL17A, IL18 соответствующими диагностическими системами (ЗАО Вектор Бест, Россия) с помощью анализатора StatFax 4200 (Awareness technology, США) согласно инструкциям по применению к наборам тест-систем, прилагаемых производителем.

### **2.2.3.2 Определение концентрации общих иммуноглобулинов А, М, G**

Определение уровня концентрации общих иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) проводилось с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на анализаторе StatFax 4200 (Awareness Technology, США) с применением соответствующих диагностических систем (ЗАО Вектор Бест, Россия) согласно инструкциям по применению к наборам тест-систем, прилагаемых производителем.

### **2.2.3.3. Фенотипирование субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов**

Имунофенотипирование НГ ПК осуществляли с помощью цитометра FC 500 «Beckman Coulter» (США) у условно-здоровых добровольцев, и пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию, а также при проведении экспериментальной части исследования в системе *in vitro* с ГП ( $10^{-6}$  г/л) и рекIFN $\alpha$ 2b (50 МЕ/мкл). С использованием метода проточной цитометрии было определено процентное соотношение различных субпопуляций НГ: CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>, а также определение плотности экспрессии изучаемых рецепторов с помощью индекса интенсивности флуоресценции (mean of fluorescence index - MFI). Для маркировки

использовались конъюгаты моноклональных антител (МКАТ) с флуоресцентными метками: IFN $\alpha$ βR1-FITC, CD119-PE, CD16-ECD от компании «Beckman Coulter International S.A.» (Франция).

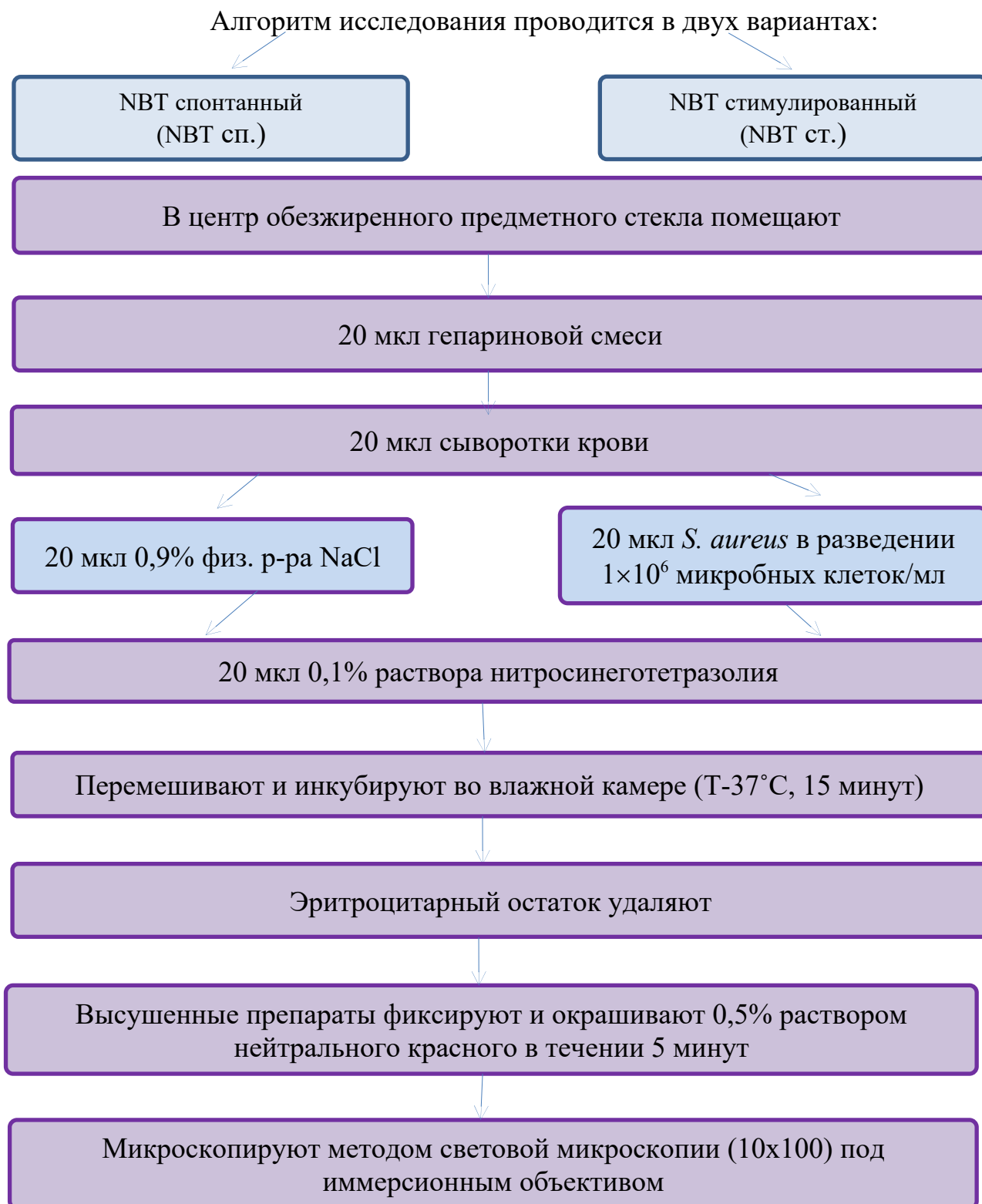
Протокол исследования:

1. В каждую ячейку планшета добавляют по 5 мкл соответствующих МКАТ и 50 мкл исследуемых образцов сыворотки крови;
2. Помещают в термошейкер на 25 минут при 400g оборотах в минуту (RPM) при температуре 24-25°C;
3. Для лизиса эритроцитов и фиксации лейкоцитов добавляют 250 мкл OptiLyse C;
4. После этого образец анализируют на цитометре, применяя метод последовательного гейтирования.

Помимо определения общего количества НГ одновременно экспрессирующих функционально-значимые рецепторы, также регистрировали показатели плотности экспрессии (MFI) каждого исследуемого рецептора по отдельности.

#### **2.2.4. Оценка оксидазной активности нейтрофильных гранулоцитов**

Интегральным показателем биоцидной способности НГ является NBT-тест – спонтанный (NBT сп.) и стимулированный (NBT ст.) с *S. aureus* (штамм № 209), который позволяет оценить NADPH-оксидазную активность и эффекторный резерв НГ. Исследование проводилось в соответствии с учебно-методическими рекомендациями по комплексной оценке системы НГ [15].



По методике Karlow L.S. подсчитывают в препарате 100 НГ, определяют долю НГ с восстановленным индикатором NBT, содержащих нерастворимый формаза в цитоплазме.

1. Вычисляют средний цитохимический индекс (СЦИ) в NBT спонтанном и стимулированном тестах (СЦИ<sub>сп</sub> и СЦИ<sub>ст</sub>):

$$\text{СЦИ} = \frac{0a + 1b + 2c + 3d + 4e}{100},$$

где a, b, c, d, e - количество НГ 0, 1, 2, 3, 4 степеней.

2. Определяют долю формазан позитивных клеток (%ФПК) в NBT спонтанном и стимулированном тестах (%ФПК<sub>сп</sub> и %ФПК<sub>ст</sub>):

$$\% \text{ФПК} = c + d + e,$$

где c, d, e - НГ 2, 3, 4 степеней.

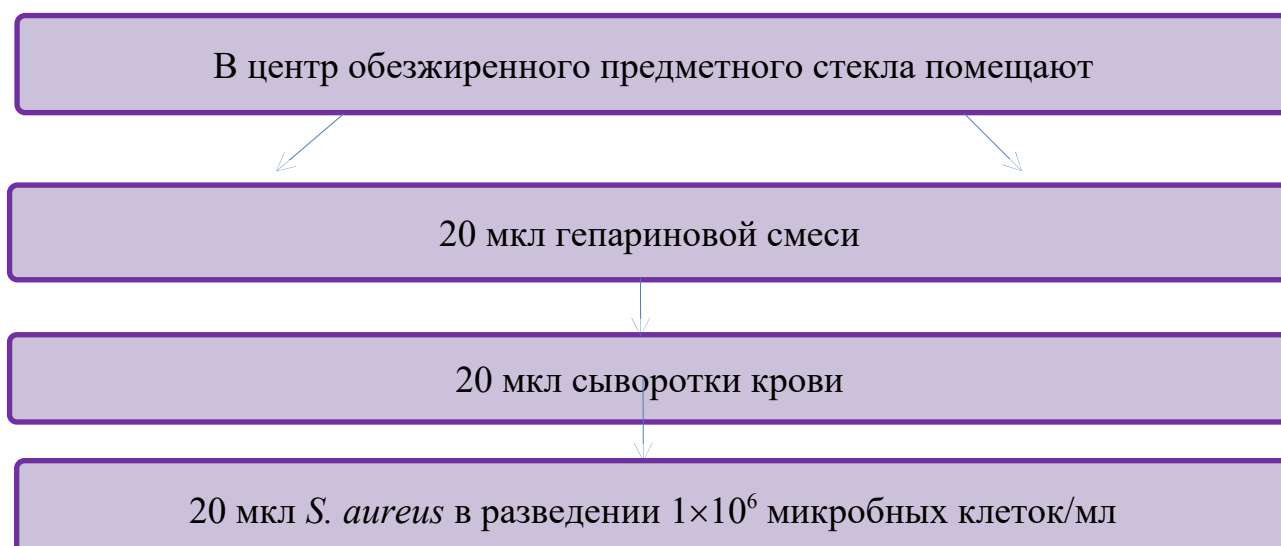
3. Определяют резервные возможности НГ по коэффициенту мобилизации (КМ):

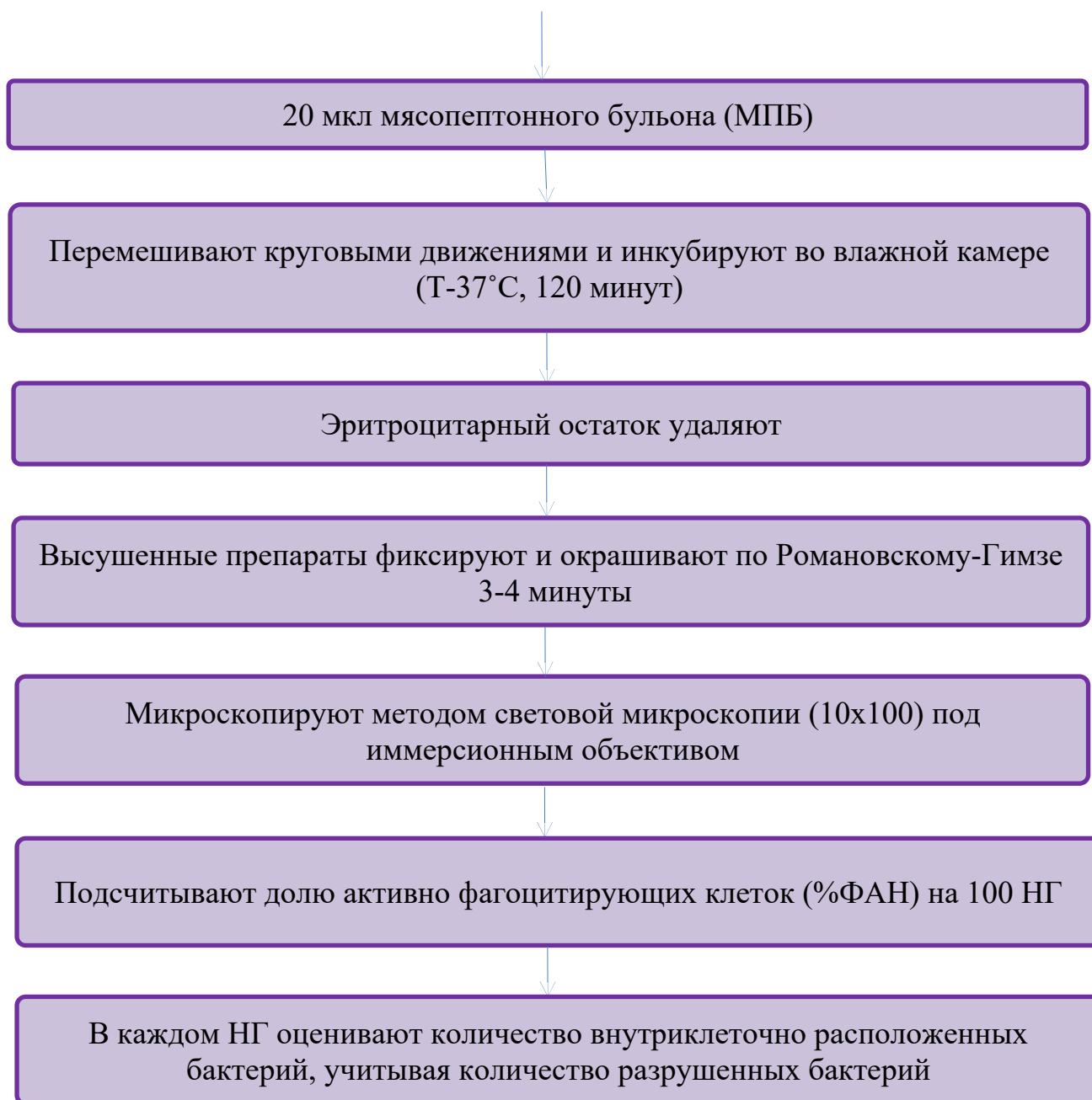
$$\text{КМ} = \frac{\% \text{ФПК}_{\text{ст}}}{\% \text{ФПК}_{\text{сп}}}$$

### 2.2.5 Оценка фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов

Исследование проводится в соответствии с учебно-методическими рекомендациями по комплексной оценке системы НГ [15].

Алгоритм исследования:





Показатели %ФАН, ФЧ, ФИ – характеризуют поглотительную способность. Показатели %П, ИП отражают переваривающую функцию и завершенность фагоцитоза.

Формулы для расчета:

$$1. \quad \%ФАН = \frac{\Phi А}{100},$$

где % ФАН – процент НГ, поглотивших микробы (ФА) на 100 клеток;

$$2. \quad \Phi\text{Ч} = \frac{M}{\Phi\text{А}},$$

где  $\Phi\text{Ч}$  (фагоцитарное число) - среднее число микробов (М) на 1 фагоцитирующий НГ;

$$3. \quad \Phi\text{И} = \frac{M}{100},$$

где  $\Phi\text{И}$  (фагоцитарный индекс) - среднее число микробов (М) на 100 НГ;

$$4. \quad \%П = \frac{M_{уб} \times 100}{M},$$

где  $\%П$  (процент переваривания) – процент убитых бактерий ( $M_{уб}$ );

$$5. \quad \text{ИП} = \frac{M_{уб}}{100},$$

где ИП (индекс переваривания) - среднее число убитых бактерий на 1 НГ.

## 2.2.6 Молекулярно-генетические методы исследования: ИФА и ПЦР-РВ

### 2.2.6.1 Методы выявления герпесвирусных инфекций

Для выявления герпесвирусов у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ, были использованы молекулярно-генетические методы диагностики. С этой целью для оценки наличия и выявления степени активности ГВИ использовался серологический метод диагностики. Анализ проводился на антитела классов IgG к антигенам: ВЭБ VCA, ВЭБ EBNA; ВЧГ6; ВЧГ8; ЦМВ, ВПГ1/2 с использованием твердофазного метода иммуноферментного анализа (ИФА) на приборе StatFax 4200 (Awareness technology, США) с применением соответствующих тест-систем от ЗАО Вектор Бест в соответствии с инструкциями производителя. Образцы слюны, соскобов с миндалин и задней стенки глотки исследовались методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ), при котором проводилась амплификация ДНК герпесвирусов с помощью набора

«АмплиПрайм EBV/CMV/HHV6/HHV8 и ВПГ1/2» на детектирующем амплификаторе QuantStudio 5.

#### **2.2.6.2 Серологическая диагностика перенесенного COVID-19**

Для изучения иммунного ответа на перенесенную инфекцию COVID-19 и с целью определения сероконверсии иммуноглобулинов различных классов к SARS-CoV-2 применяли иммуноферментный метод диагностики с выявлением в сыворотке крови антител классов IgG, IgM, IgA к SARS-CoV-2 с помощью твердофазного ИФА на анализаторе StatFax 4200 (Awareness technology, США) с применением соответствующих тест-систем (ЗАО Вектор Бест, Россия) согласно инструкциям по применению к наборам тест-систем, прилагаемым производителем.

#### **2.2.7 Культуральные методы**

Для оценки влияния иммуномодулирующих субстанций ГП и рекIFN $\alpha$ 2b на фенотипы изучаемых субпопуляций и функциональную активность НГ в системе *in vitro* применяли культуральные методы исследования клеток ПК ( $10^6$  г/л; t-37°C, 60 мин), при этом использовали ламинар Mars 1500 («Scanlaf», Дания), CO<sub>2</sub>–инкубатор «New Brunswick Scientific Galaxy 170S» (Великобритания).

Было проведено исследование образцов ПК 60 пациентов перенесших подтвержденную SARS-CoV-2 инфекцию (подтвержденную положительным ПЦР тестом с наличием в остром периоде различных клинических проявлений и характерными изменениями в легочной ткани по данным лучевых исследований) и предъявляющие жалобы на различные проявления ПКС в возрасте от 18 до 65 лет.



## Алгоритм исследования:



## 2.2.8 Статистические методы

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 перцентилями. 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 ( $p < 0,05$ ).

### **ГЛАВА 3 КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ, ФЕНОТИПА И ЭФФЕКТОРНЫХ ФУНКЦИЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПРИ ПОСТКОВИДНОМ СИНДРОМЕ, АССОЦИИРОВАННЫМ С АКТИВАЦИЕЙ ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

#### **3.1 Клинико-иммунологические особенности пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций**

По мнению зарубежных и российских ученых, остаточные и вновь приобретенные клинические проявления после перенесенной новой коронавирусной инфекции значительно распространены не только у пациентов с коморбидной патологией, но и среди молодых и ранее не предъявлявших жалобы здоровых людей [308]. Часть пациентов, перенесших COVID-19 разной степени тяжести после периода реконвалесценции, отмечают различные проявления ПКС.

Таким образом, становится очевидной важность эффективного выявления и определения пациентов из групп риска по развитию ПКС с целью его своевременной диагностики, динамического наблюдения и дальнейшего терапевтического воздействия.

На основании проведенного дельфийского консенсуса от 6 октября 2021 года и клинического определения случаев состояния после COVID-19 были выделены тематические блоки, которые были включены в клиническое определение состояния после COVID-19, таким образом, определение "постковидный синдром" было предложено в Международной классификации болезней 10 пересмотра - МКБ-10 - U09.9 [84]. ПКС представляет собой полисистемное клиническое состояние, возникающее через 12 и более недель, после перенесенного COVID-19, с сохраняющимися не менее 2 месяцев

симптомами, отражающими дисфункцию многих систем и органов, которые не могут быть объяснены альтернативным диагнозом [132].

Среди наиболее распространенных симптомов ПКС выделяются утомляемость, одышка, когнитивная дисфункция и другие, которые часто оказывают влияние на выполнение повседневных задач. Симптомы могут проявиться после периода выздоровления от острой инфекции COVID-19 или сохраняться с момента первоначального заболевания. Кроме того, возможно периодическое появление или рецидивирование симптомов со временем.

Проявления ПКС разнообразны, непредсказуемы и опасны, поэтому крайне важно оценить у таких пациентов развитие возможных осложнений, часто сопровождающих течение тяжелых вирусных инфекций с развитием синдрома хронической усталости (СХУ) и выраженных когнитивных расстройств (КР) [30, 199]. ПКС объединяет множество неблагоприятных исходов с часто возникающими впервые состояниями, включая сердечно-сосудистые, тромботические и цереброваскулярные заболевания, сахарный диабет 2 типа [14], миалгический энцефаломиелит (МЭ), СХУ [33] и дисавтономию, особенно синдром постуральной ортостатической тахикардии [2]. Стойкое ощущение СХУ характеризуется астенией различной степени выраженности, затяжным или волнообразным течением и является одной из самых частых жалоб пациентов [30]. Ухудшение способности к запоминанию, усвоению новой информации, пониманию, воспроизведению прочитанного или услышанного, а также выполнению повседневных задач, возникновение трудностей в общении с окружающими, концентрацией внимания, снижение умственной работоспособности, забывчивость, ощущение «тумана в голове», нарушение процессов сна и засыпания, а также многочисленные и разнообразные вегетативные нарушения (головная боль, головокружение, перепады артериального давления и пульса, аритмии, тахикардии), мигрирующие боли в суставах и мышцах все это является частыми проявлениями ПКС.

При проведении нейропсихологического тестирования и изучения двигательной активности могут быть выявлены нарушения в области коммуникативных навыков, концентрации внимания, способности к распознаванию, пониманию новой информации и мышлению, а также проблемы с моторикой, запоминанием и воспроизведением рядов слов, цифр и фигур. Возникают проблемы с адаптивным поведением, производительностью, познавательными процессами, осознанием, а также с различными видами памяти: эпизодической, процедурной, семантической, оперативной, фиксационной, кратковременной и долговременной [26, 85, 154].

Пациенты также проявляют жалобы на: повышенную потливость, длительный субфебрилитет, периодические боли в горле, спине, поясничной области, грудной клетке. Одышка, кашель, регионарная лимфаденопатия, потеря или изменение вкуса, запаха или слуха, плохая переносимость света и шума, боли в животе, диарея, кожные проявления васкулитов и/или аллергических реакций, выпадение волос и другие жалобы продолжают беспокоить пациентов в раннем и позднем постковидном периоде [9, 26, 106, 119, 199]. Сохраняющиеся негативные сдвиги в физическом и эмоциональном состоянии приводят к социальной дезадаптации пациентов и отрицательно отражаются на качестве их жизни. Могут наблюдаться такие проявления, как панические атаки, расстройства настроения, включая эмоциональную нестабильность и психогенную депрессию, повышенная тревожность, различные фобии, асоциальное поведение и конфликты. Попытки родственников и медицинских работников повлиять на самооценку пациента могут спровоцировать психотические реакции, взрывное поведение, конверсионные расстройства и суицидальные наклонности [154, 241]. Эти упомянутые осложнения наблюдаются у 30-50% выздоравливающих, чаще у женщин, чем у мужчин, а тяжесть и длительность этих осложнений выше у пациентов с полиорганными и сопутствующими формами патологии, которые проходили лечение в отделениях интенсивной терапии и реанимации [2, 184, 241].

Помимо этого, большая часть пациентов отмечает частые эпизоды острых и рекуррентных респираторных вирусных инфекций, обострение хронических бактериальных и грибковых инфекций, вызывающих хронический синусит, гайморит, фарингит, отит, цистит, уретрит, вульвовагинит, развитие других инфекций различной этиологии и локализации [22, 208].

Было предложено несколько гипотез патогенеза ПКС, в том числе персистирующие резервуары SARS-CoV-2 в тканях [221], микрососудистое свертывание крови с эндотелиальной дисфункцией, нарушенная передача сигналов в стволе мозга и/или блуждающем нерве, негативное воздействие SARS-CoV-2 на микробиоту [102, 115, 244, 245]; иммунная дисрегуляция с реактивацией ГВИ, таких как ВЭБ и ВЧГ6 [22, 131, 136, 242, 297].

Долгосрочные физические и психические последствия COVID-19 вызывают растущую озабоченность общественного здравоохранения, однако существует значительная неопределенность относительно их распространенности, стойкости и предикторов развития ПКС.

Пациенты, перенесшие SARS-CoV-2 инфекцию подлежат диспансерному наблюдению в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 июля 2021 г. № 698н "Об утверждении Порядка направления граждан на прохождение углубленной диспансеризации, включая категории граждан, проходящих углубленную диспансеризацию в первоочередном порядке", в котором поясняется, что углубленную диспансеризацию вправе пройти граждане, переболевшие новой коронавирусной инфекцией COVID-19. Планируемая дата проведения углубленной диспансеризации устанавливается не ранее 60 календарных дней после выздоровления гражданина, перенесшего новую коронавирусную инфекцию COVID-19, при оказании ему медицинской помощи в амбулаторных условиях или в условиях стационара.

Таким образом, под наше наблюдение попали 60 пациентов обоего пола (28 женщин, 32 мужчин) в возрасте от 18 до 65 лет, после перенесенной SARS-CoV-2

инфекции среднетяжелой ( $n=46$ ) и тяжелой ( $n=14$ ) степени тяжести. Включенные в исследование пациенты были поделены на две группы: условно-здоровые добровольцы - группа сравнения (ГС) и пациенты после перенесенного COVID-19 давностью от 3 до 6 месяцев с наличием характерных жалоб и клинических проявлений ПКС - группа исследования (ГИ). По данным анамнеза вирус SARS-CoV-2 в ГИ в 100% случаев был идентифицирован в остром периоде положительным ПЦР-тестом. При этом по результатам компьютерной томографии органов грудной клетки в остром периоде COVID-19 отмечалась картина вирусного поражения легочной ткани с понижением прозрачности по типу «матового стекла» различной степени выраженности (КТ 2-3-4) или его сочетание с консолидациями и мультилобарной вовлеченности. Изменения после воспалительного процесса выявлялись в виде локального одно или двустороннего пневмофиброза, что возможно явилось следствием присоединения бактериальной инфекции, так и могло быть осложнением течения интерстициальной вирусной пневмонии, зоны консолидации и пневмосклероза разной протяженности, дисковидные ателектазы, бронхоэктазы, признаки облитерирующего бронхоолита.

Для оценки выраженности и наличия клинических признаков и проявлений ПКС проводилось анкетирование, согласно модифицированному оценочному опроснику по пятибалльной шкале: 0 баллов - отсутствие симптомов; 1 балл - минимальные проявления ПКС; 2 балла - средняя выраженность проявлений ПКС; 3 балла - тяжелая степень выраженности проявлений ПКС; 4 балла - очень тяжелая степень проявлений ПКС наличие или отсутствие симптомов в зависимости от тяжести их проявления в баллах от 0 до 5 [144]. В результате проведенного исследования установлено, что частота встречаемости клинических проявлений СХУ и КР была выявлена у всех пациентов ГИ с оценкой их выраженности согласно 5-балльной шкале. Таким образом, общее количество

баллов составило - 17,0 (13,5; 20,5), что в 17 раз больше, чем в ГС-1,0 балл (1,0; 2,0) ( $p < 0,05$ ) (Таблица 3.1.1).

Таблица 3.1.1 – Выраженность клинических проявлений ПКС у пациентов, перенесших COVID-19 (в баллах)

| Симптомы                                                                                                                | Группа сравнения<br>(ГС), n=60 | Пациенты с ПКС<br>(ГИ), n=60 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
|                                                                                                                         | Me (Q1;Q3)                     | Me (Q1;Q3)                   |
| Синдром хронической усталости, непереносимость физической нагрузки, снижение работоспособности, повышенная утомляемость | 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; $p < 0,05$                                                        |                                |                              |

Наиболее стойкими жалобами, которые отмечались у всех пациентов в ГИ, являлись: ощущение стойкой хронической усталости, непереносимость

физической нагрузки, снижение работоспособности, повышенная утомляемость. Также у всех пациентов в разной степени выраженности выявлялись 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, а также отмечались 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.

### **3.2 Характеристика этиологической структуры герпесвирусных инфекций у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций**

Современные лабораторные методы диагностики инфекций, вызванных ГВИ, играют ключевую роль в установлении или подтверждении причины заболевания. Для этого осуществляется комплексное молекулярно-генетическое исследование, направленное на определение генетической структуры вируса, а также проводятся иммунологические тесты, которые позволяют выявить вирусные антигены и антитела, выработанные в ответ на инфекцию. С целью выявления этиологической структуры ГВИ проводили молекулярно-биологическое тестирование хронических герпесвирусов (ВПГ1/2, ВЭБ, ВЧГ6, ВЧГ8, ЦМВ), которые имеют важное и ключевое значение для выявления реактивации хронических ГВИ. Иммуноглобулины класса IgG к вирусному капсидному антигену - VCA начинают циркулировать в крови через 1-2 месяца после начала заболевания, затем их титр постепенно уменьшается и остается на минимальном уровне, на протяжении всей жизни. Увеличение титра IgG VCA характерно для обострения хронической ВЭБ инфекции. IgG к ядерному антигену



- EBNA считаются наиболее поздними антителами, так как появляются в крови через 1-3 месяца после начала инфекционного процесса и могут сохраняться в высоких концентрациях в течение длительного времени, затем их титр снижается и остается на уровне, характерном для всей жизни, увеличение титра IgG EBNA свидетельствует о реактивации хронической ВЭБ инфекции. При этом обнаружение ГВИ в образцах слюны, соскобов с миндалин и задней стенки глотки методом ПЦР - РВ подтверждает реактивацию хронических активных ГВИ.

Согласно полученным данным, были выявлены варианты различных 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 3.2.1).

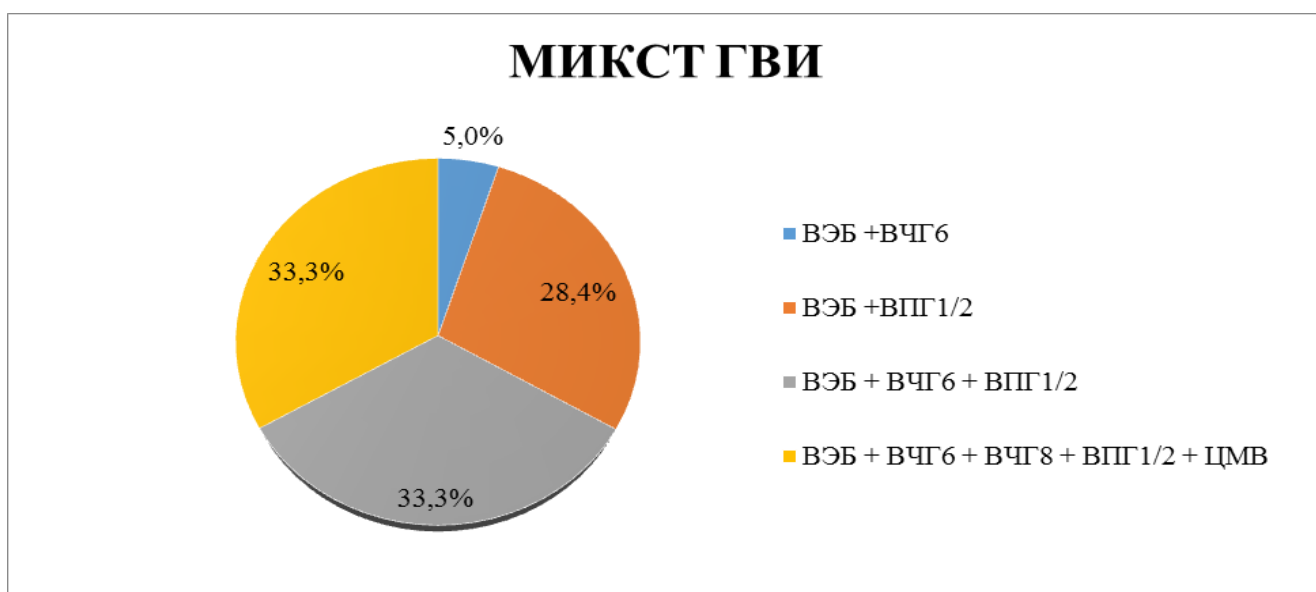


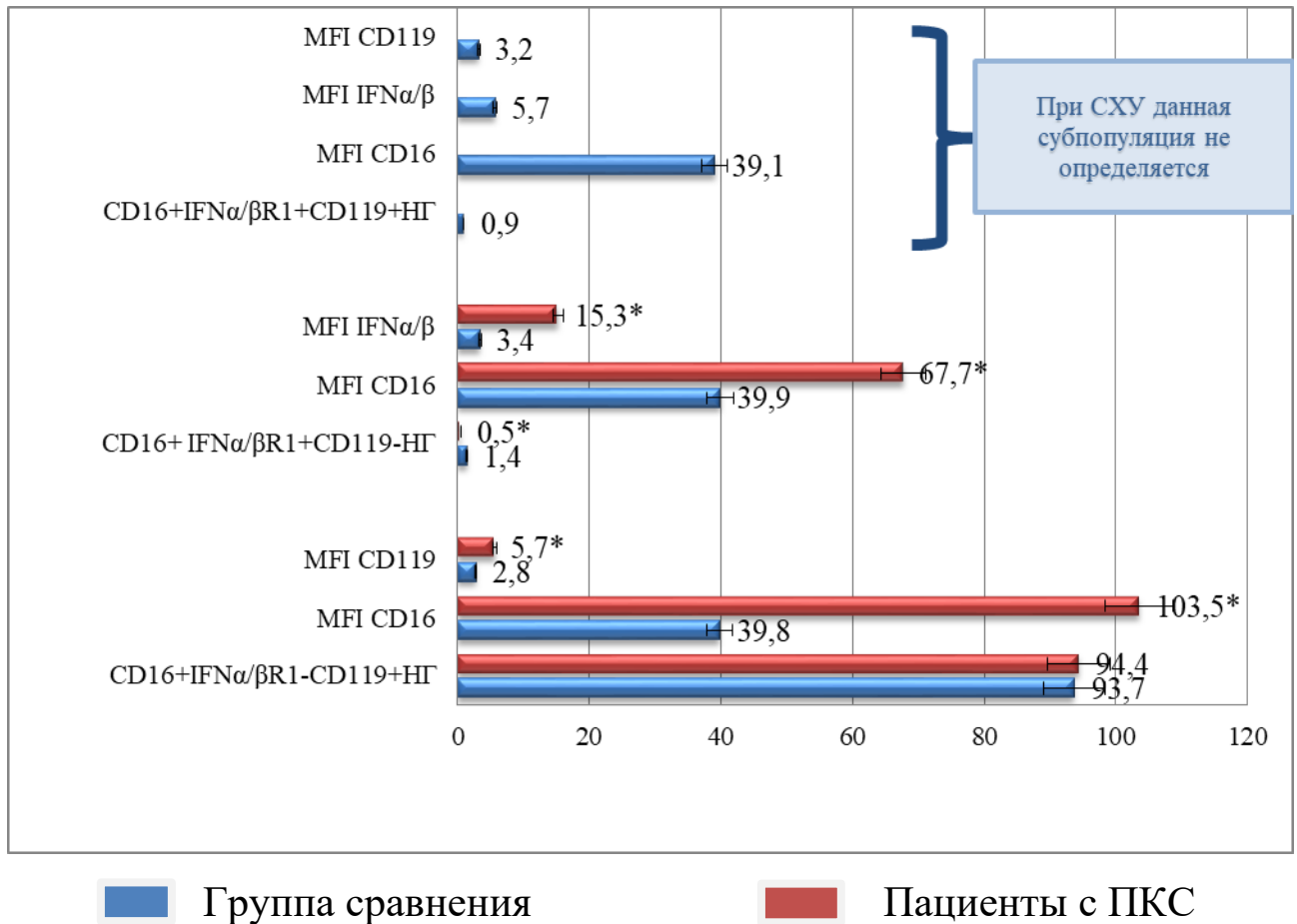
Рисунок 3.2.1 – Этиологическая структура ГВИ у пациентов с ПКС

Стоит отметить, что у пациентов с микст ГВИ, имеющих детекцию 3 и более вирусов герпеса, с доминированием во всех группах ВЭБ, наблюдались наиболее выраженные и стойкие симптомы ПКС, среди которых преобладали жалобы на длительные ощущения СХУ и КР, а выраженность симптомов составила 19,0 (17,0; 21,0) баллов. Наиболее важной особенностью патогенеза

ГВИ следует отметить активную репликацию ВЭБ, ВЧГ6, ВПГ1/2, ЦМВ, ВЧГ8, которая может наблюдаться даже в момент отсутствия клинических проявлений инфекционного процесса.

### **3.3 Содержание и фенотип субпопуляции CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup> нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций**

При исследовании уровня субпопуляций НГ, экспрессирующих рецепторы к IFN I (IFN $\alpha$ / $\beta$ R1), II типов IFN $\gamma$ R (CD119) и активационному маркерному рецептору CD16, было установлено, что в периферической крови ГС циркулируют 3 субпопуляции НГ: CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>. Субпопуляция, экспрессирующая рецептор к IFN $\gamma$  - CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup> составляла 93,7 (89,8; 96,5) % НГ с плотностью экспрессии по MFI CD16 – 39,8 (20,4; 51,3) и CD119<sup>+</sup> (IFN $\gamma$ ) – 2,8 (2,5; 3,1). Доля субпопуляции экспрессирующая рецептор к IFN $\alpha$ / $\beta$  - CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>, была представлена 1,4 (0,5; 2,4) % НГ с плотностью экспрессии по MFI IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 – 3,4 (2,6; 4,1) и MFI CD16 – 39,9 (22,9; 54,5). Также определялась субпопуляция НГ, одновременно экспрессирующая IFN $\alpha$ / $\beta$  и IFN $\gamma$  рецепторы – CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>, представленная всего 0,9 (0,4; 1,8) % НГ, но при этом имеющая более высокие значения плотности экспрессии IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 ( $p>0,05$ ) и CD119 молекул ( $p>0,05$ ) (Рисунок 3.3.1).



\* значимость отличий от показателей группы сравнения;  $p < 0,05$

Рисунок 3.3.1 – Количественные и фенотипические особенности субпопуляций НГ, экспрессирующих рецепторы к IFN I и II типов и активационный маркерный рецептор CD16 у пациентов с ПКС

В ГИ содержание субпопуляции  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+HG$  не отличалось от ГС ( $p > 0,05$ ), но при этом было выявлено увеличение плотности экспрессии рецепторов по MFI в 2,6 раза CD16 ( $p < 0,05$ ) и в 1,9 раз CD119 ( $p < 0,05$ ). Напротив, наблюдалась тенденция снижения в 2,8 раз содержания субпопуляции  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-HG$  ( $p > 0,05$ ). При этом для этой субпопуляции были характерны повышенные уровни экспрессии в 4,5 раза рецептора  $IFN\alpha/\beta R1$  ( $p < 0,05$ ) и в 1,7 раз CD16 ( $p < 0,05$ ) по отношению к показателям ГС. Отличительной особенностью показателей ГИ явилось отсутствие субпопуляции  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$  НГ. При этом только у 3-х пациентов с микст ГВИ регистрировались 0,3 (0,3; 0,7) % данной субпопуляции с повышенными в 1,8 раз

MFI IFN $\alpha$ / $\beta$ R1-10,3 (9,82; 10,5), в 6 раз CD119 - 18,4 (10,4, 34,8) и в 1,4 раза CD16-54,7 (38,4; 91,8) по отношению к значениям ГС ( $p_{1-3}<0,05$ ) (Таблица 3.3.1).

Таблица 3.3.1 – Фенотип субпопуляций НГ, экспрессирующих рецепторы к IFN I и II типов и активационный маркерный рецептор CD16 у пациентов в постковидном периоде

| Показатели                                                                                        | Группа сравнения (ГС),<br>n=60 | Пациенты с ПКС (ГИ),<br>n=60 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
|                                                                                                   | Me(Q1; Q3)                     | Me(Q1; Q3)                   |
| <b>CD16<sup>+</sup>IFN<math>\alpha</math>/<math>\beta</math>R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>НГ</b> |                                |                              |
| НГ, %                                                                                             | 93,7 (89,8; 96,5)              | 94,4 (92,6; 96,1)            |
| CD16 (MFI)                                                                                        | 39,8 (20,4; 51,3)              | 103,5 (73,9; 121,0)*         |
| CD119 (MFI)                                                                                       | 2,8 (2,5; 3,1)                 | 5,2 (4,4; 6,2)*              |
| <b>CD16<sup>+</sup>IFN<math>\alpha</math>/<math>\beta</math>R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>НГ</b> |                                |                              |
| НГ, %                                                                                             | 1,4 (0,5; 2,4)                 | 0,5 (0,4; 2,0)               |
| CD16 (MFI)                                                                                        | 39,9 (22,9; 54,5)              | 67,7 (58,5; 100,3)*          |
| IFN $\alpha$ / $\beta$ (MFI)                                                                      | 3,4 (2,6; 4,1)                 | 15,3 (6,8; 22,2)*            |
| <b>CD16<sup>+</sup>IFN<math>\alpha</math>/<math>\beta</math>R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>НГ</b> |                                |                              |
| НГ, %                                                                                             | 0,9 (0,4; 1,8)                 | 0                            |
| CD16 (MFI)                                                                                        | 39,1 (26,6; 50,3)              | 0                            |
| IFN $\alpha$ / $\beta$ (MFI)                                                                      | 5,7 (4,6; 6,5)                 | 0                            |
| CD119 (MFI)                                                                                       | 3,2 (2,9; 5,8)                 | 0                            |
| * значимость отличий от показателей группы сравнения; $p < 0,05$                                  |                                |                              |

Следует отметить, что у пациентов с ПКС на фоне микст ГВИ отмечается трансформация фенотипа субпопуляций НГ, несущих рецепторы к IFN $\alpha$ / $\beta$  и IFN $\gamma$  и активационного рецептора CD16, отвечающего за цитотоксичность НГ по

отношению к инфицированным вирусами клеткам. Выявлено статистически значимое повышение MFI всех изучаемых рецепторов на субпопуляциях CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>НГ и CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup>НГ, демонстрирующих готовность к восприятию цитокиновых сигналов и ответа на них.

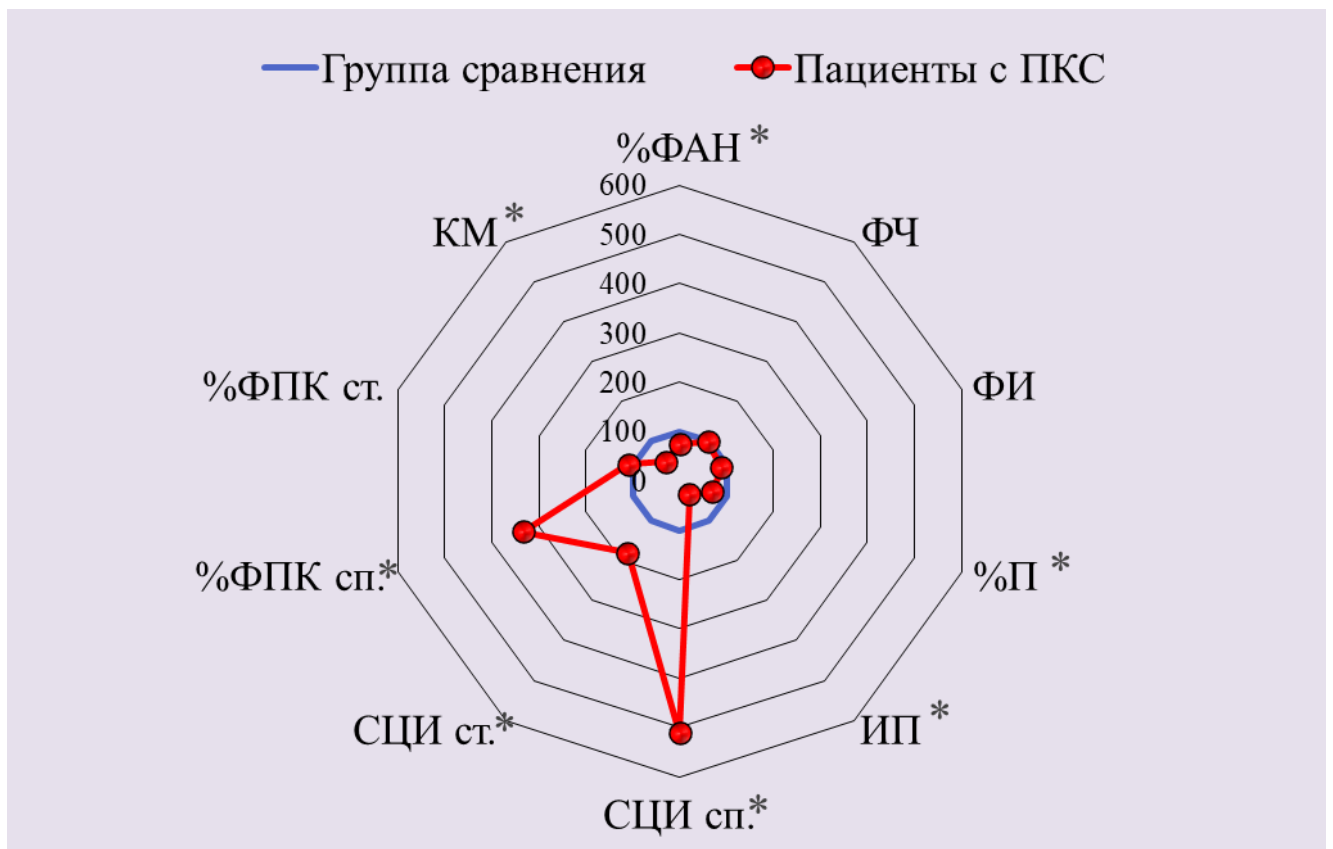
### 3.4 Дефекты эффекторных функций нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций

Анализ функционального потенциала НГ при ПКС выявил снижение доли активно фагоцитирующих НГ (%ФАН) в 1,3 раза, %П в 1,4 раза и ИП в 2,9 раз по отношению к показателям ГС ( $p_{1,2,3}<0,05$ ) (Таблица 3.4.1).

Таблица 3.4.1 – Оценка фагоцитарной активности НГ пациентов с ПКС в системе *in vitro* (Me (Q1; Q3))

| Показатель                                                       | Группа сравнения (ГС), n=60 | Пациенты с ПКС (ГИ), n=60 |
|------------------------------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| %ФАН                                                             | 65,8<br>(60,9; 79,6)        | 49,0*<br>(48,0; 52,0)     |
| ФЧ                                                               | 3,4<br>(2,1; 4,2)           | 3,3<br>(3,1; 3,4)         |
| ФИ                                                               | 1,8<br>(1,6; 2,0)           | 1,6<br>(1,5; 1,8)         |
| %П                                                               | 58,9<br>(51,3; 78,3)        | 40,9*<br>(40,5; 41,7)     |
| ИП                                                               | 1,90<br>(1,10; 2,40)        | 0,65*<br>(0,61; 0,72)     |
| СЦИ сп.                                                          | 0,09<br>(0,06; 0,10)        | 0,46*<br>(0,41; 0,49)     |
| СЦИ ст.                                                          | 0,20<br>(0,08; 0,30)        | 0,36*<br>(0,33; 0,39)     |
| %ФПК сп.                                                         | 2,4<br>(2,3; 3,5)           | 8,0*<br>(6,8; 9,0)        |
| %ФПК ст.                                                         | 5,5<br>(2,8; 6,3)           | 6,0<br>(5,8; 7,0)         |
| КМ                                                               | 1,8<br>(1,60; 2,20)         | 0,8*<br>(0,5; 1,3)        |
| * значимость отличий от показателей группы сравнения; $p < 0,05$ |                             |                           |

В данной группе пациентов отмечалось: в спонтанном NBT-тесте напряженность NADPH-оксидаз по показателям СЦИсп. – 0,46 (0,41;0,49) и %ФПКсп. – 8,0 (6,8; 9,0) % в сравнении с ГС ( $p_{1,2}<0,05$ ). В стимулированном NBT-тесте при дополнительной нагрузке *S. aureus* отмечалось снижение значений СЦИст. – 0,36 (0,33; 0,39) ( $p<0,05$ ) и %ФПКст. 6,0 (5,8; 7,0), ( $p>0,05$ ) что демонстрирует истощение оксидазного микробицидного потенциала с КМ-0,8 (0,75; 1,26) ( $p<0,05$ ) (Рисунок 3.4.1).



\* значимость отличий от показателей группы сравнения;  $p < 0,05$

Рисунок 3.4.1 – Оценка фагоцитарной активности НГ пациентов с ПКС

Большое количество клинических данных и экспериментальных исследований все чаще подтверждает негативное воздействие на организм человека гиперактивированных НГ, способных легко образовывать NETs. Это связано с тем, что NETs способствует развитию многих патологических процессов, включая те, которые возникают при вирусных инфекциях [250].

Интенсивность образования NETs в организме с возникновением тромбозов и коагулопатий сопоставимо с тяжестью течения воспалительного процесса и является неблагоприятным прогностическим фактором в развитии осложнений после перенесенного COVID-19.

С целью поиска новых диагностических возможностей в дополнение к клиническому анализу крови нами был разработан и предложен для внедрения в практическое здравоохранение новый интеграционный диагностический критерий (ИДК) для диагностики и прогноза течения ПКС и характерных осложнений с развитием СХУ, КР и активацией хронических ГВИ [7].

Алгоритм был разработан и зарегистрирован в Роспатенте, как программа для ЭВМ «Критерий прогноза тяжести течения постковидного синдрома». Данный критерий характеризует состояния системы НГ у пациентов с ПКС: ИДК = % неизмененных НГ/ % клеток, сформировавших NETs и % клеток в состоянии апоптоза. Изучение морфологических характеристик клеток крови проводится в препаратах периферической крови с помощью световой микроскопии с увеличением 10\*100 с окрашиванием мазков по Романовскому-Гимзе. При этом определяется относительное количество НГ, появление NETs и клеток с апоптозом (Таблица 3.4.2).

При оценке показателей общеклинического анализа крови в ГС и ГИ не было выявлено значимых изменений общего количества лейкоцитов, НГ и Л ( $p > 0,05$ ), в то же время выявлено увеличение количества моноцитов в ГИ – 9,0 (8,0; 10,0) % против ГС – 5,0 (3,3; 6,8) % в 1,8 раза, что может говорить о возможной реактивации ВЭБ инфекции при развитии ПКС ( $p < 0,05$ ). (Таблица 3.4.2).

Таблица 3.4.2 – Количественные характеристики гемограммы у пациентов с ПКС (Ме (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>))

| Показатель                                                     | Группа сравнения (ГС),<br>n=60 | Пациенты с ПКС (ГИ),<br>n=60 |
|----------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| L, 10 <sup>9</sup> /л                                          | 5,96<br>(5,34; 6,66)           | 6,25<br>(5,75; 6,75)         |
| ЛФ, %                                                          | 35,0<br>(31,0; 42,0)           | 35,0<br>(31,0; 36,0)         |
| ЛФ, 10 <sup>9</sup> /л                                         | 2,17<br>(1,76; 2,48)           | 2,39<br>(2,02; 2,68)         |
| НГ, %                                                          | 57,0<br>(49,0; 61,0)           | 60,0<br>(56,0; 63,0)         |
| НГ, 10 <sup>9</sup> /л                                         | 3,37<br>(2,72; 3,9)            | 3,75<br>(3,22; 4,25)         |
| СЯЛ, %                                                         | 53,0<br>(47,0; 58,5)           | 55,5<br>(54,3; 59,8)         |
| ПЯЛ, %                                                         | 2,0<br>(1,0; 3,0)              | 3,0<br>(1,0; 4,5)            |
| МОН, %                                                         | 5,0<br>(3,3; 6,8)              | 9,0*<br>(8,0; 10,0)          |
| ЭОЗ, %                                                         | 0,0<br>(0,0; 1,0)              | 3,5<br>(3,0; 4,0)            |
| NETs                                                           | 1,0<br>(0; 1,0)                | 2,0*<br>(1,75; 2,5)          |
| Клетки в<br>апоптозе                                           | 1,0<br>(0; 1,0)                | 2,0<br>(1,0; 3,0)            |
| * значимость отличий от показателей группы сравнения; p < 0,05 |                                |                              |

При морфологической оценке 100 % НГ у условно здоровых добровольцев выявляются клетки с неизменными зрелыми НГ - 99%, отсутствуют NETs и клетки с апоптозом составляют не более 1 %.

$$\text{ИДК} = \frac{\% \text{ неизменных НГ}}{\% \text{NETs} + \% \text{НГ в апоптозе}}$$



Данный алгоритм программы показывает, что с использованием оператора деления вычисляется ИДК – НГ-ПКС- % неизменных НГ/ % клеток, сформировавших NETs и % клеток в состоянии апоптоза. Интерпретация полученных данных осуществляется с последующим представлением пользователю в форме прогноза о развитии тяжести ПКС в постковидном периоде. При расчете у условно-здоровых лиц ИДК НГ-ПКС должен составлять 99,0 (Рисунок 3.4.2).



Рисунок 3.4.2 – Алгоритм программы ИДК-ПКС

Таким образом, стоит отметить, что снижение данного коэффициента, наиболее характерно для лиц с выраженными проявлениями СХУ, КР и активацией ХГВИ, при этом основными жалобами являются, такие как, непереносимость физической нагрузки, уменьшение работоспособности, повышенная утомляемость, нарушение процессов запоминания, затруднения с концентрацией внимания, ощущение памяти, головные боли, головокружение, мигрень, боли в суставах, мышечные боли, панические атаки, нарушения настроения,

эмоциональная нестабильность, психогенная депрессия, нарушения засыпания и сна, повышенная потливость, субфебрилитет, сохраняющиеся кашель и одышка, клинические проявления ГВИ. Автоматический расчет ИДК позволит пользователю оценить риски развития и прогноза постковидных осложнений, у пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию (Рисунок 3.4.3).

**Критерий прогноза тяжести течения постковидного синдрома (ИДК-ПКС)**

**Интеграционный диагностический критерий в прогнозе развития тяжести постковидного синдрома**

ФИО пациента: Иванов И.И. Дата рождения: 25.06.1984

Диагноз пациента по перечню МКБ10: Постковидный синдром

ФИО врача: Петров П.П.

% неизмененных НГ: 95 %

% клеток, сформировавших NET: 3 %

% клеток в состоянии апоптоза: 2 %

Расчитать ИДК НГ-ПКС

**ИДК** 19

Степень тяжести течения постковидного синдрома: Среднетяжелое течение постковидного синдрома

Записать в базу Сформировать заключение

| ФИО пациента | Дата рождения | Диагноз по МКБ10     | % неизмененных НГ | % клеток, сформировавших NET | % клеток в состоянии апоптоза | ИДК | Степень тяжести | ФИО врача   |
|--------------|---------------|----------------------|-------------------|------------------------------|-------------------------------|-----|-----------------|-------------|
| Иванов И.И.  | 25.06.1984    | Постковидный синдром | 95                | 3                            | 2                             | 19  | Среднетяж.      | Петров П.П. |

О программе Выход

**Интеграционный диагностический критерий прогноза тяжести течения постковидного синдрома**

| Наименование исследования | Результат | Референсные значения |
|---------------------------|-----------|----------------------|
| ИДК ПКС                   | 19        | 15 - 23,99           |

Заключение: Среднетяжелое течение постковидного синдрома

Дата заключения: 12.04.2024-13:37:34 Подпись: \_\_\_\_\_

Рисунок 3.4.3 – Экранные изображения программы для ЭВМ ИДК-ПКС

Конечный результат представляется в виде степени течения ПКС (Таблица 3.4.3):

- если ИДК=49-99 - прогнозирование благоприятного исхода в постковидном периоде; (1-2% NETs+ клеток в состоянии апоптоза);
- если ИДК=24-48,9 - легкое течение ПКС; (3-4% NETs+ клеток в состоянии апоптоза);
- если ИДК=15-23,9 - среднетяжелое течение ПКС; (5-6% NETs+ клеток в состоянии апоптоза);
- если ИДК=9-14,9 - тяжелое течение ПКС; (7-10% NETs+ клеток в состоянии апоптоза);
- если ИДК=0-8,9 - крайне тяжелое течение ПКС; (>10 % NETs+ клеток в состоянии апоптоза).

Таблица 3.4.3 – Прогноз течения ПКС в зависимости от показателя ИДК

| Группа пациентов                                            | ИДК                | Степень протекания ПКС    |
|-------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------|
| Пациенты, перенесшие COVID-19 тяжелой степени тяжести, n=14 | 12,4 (9,90; 14,14) | Тяжелое течение ПКС       |
| Пациенты, перенесшие COVID-19 средней степени тяжести, n=22 | 18,0 (16,5; 19,8)  | Среднетяжелое течение ПКС |
| Пациенты, перенесшие COVID-19 легкой степени тяжести, n=24  | 28,2 (24,8; 33,0)  | Легкое течение ПКС        |

При оценке ИДК в ГИ было выявлено: у 23% пациентов, перенесших COVID-19 тяжелой степени тяжести ИДК составил 12,4 (9,90; 14,14), что в 8 раз меньше, чем в ГС 99,0 (99,0; 99,0), ( $p<0,05$ ) и говорит о тяжелом течении ПКС; у 37 % пациентов, перенесших COVID-19 среднетяжелой степени тяжести ИДК составил 18,0 (16,5; 19,8) что в 5,5 раз меньше, чем в ГС 99,0 (99,0; 99,0), ( $p<0,05$ ) и говорит о среднетяжелом течении ПКС; у 40 %, перенесших COVID-19 легкой степени тяжести ИДК составил 28,2 (24,8; 33,0), что в 5,5 раз меньше, чем в ГС 99,0 (99,0; 99,0), ( $p<0,05$ ), и говорит о легком течении ПКС (Рисунок 3.4.4).



\* значимость отличий от показателей группы сравнения;  $p < 0,05$

Рисунок 3.4.4 – Интеграционный диагностический критерий – ИДК-ПКС

Стоит подчеркнуть, что все пациенты, перенесшие COVID-19 тяжелой степени тяжести, были подвержены тяжелому течению ПКС и имели наиболее низкие показатели ИДК. В соответствии с вышеописанным было отмечено, что снижение данного коэффициента, регистрировалось у лиц с большим количеством клинических проявлений ПКС основными жалобами, которых являлись: сохраняющийся кашель и одышка, снижение работоспособности, утомляемость, головная боль, головокружение, ощущение «тумана» в голове, неожиданно возникшие проблемы с памятью и усвоением новой информации, нарушение концентрации внимания, понимания, проблемы в общении с окружающими, а также нарушения процессов засыпания и сна. В более редких случаях отмечались жалобы на anosmia, dysgeusia, кожные высыпания, аллергические реакции, тошноту, диарею, и отвращение к некоторым продуктам.

В результате анализа ретроспективного исследования в целях диагностики и прогноза развития постковидных осложнений, после перенесенного COVID-19 нами был также разработан и предложен для внедрения в практическое здравоохранение интеграционный диагностический показатель (ИДП) - новый лабораторный маркер, используя возможности которого можно было бы предположить возникновение осложнений в постковидном периоде, а также на раннем этапе диагностировать формирование ПКС [1].

Изучение морфологических показателей клеток крови проводится в препаратах периферической крови с помощью световой микроскопии с увеличением 10\*100 с окрашиванием мазков по Романовскому-Гимзе. При этом определяется относительное количество НГ и Л с последующим определением уровня СРБ в сыворотке крови. В результате ретроспективного анализа было выявлено, что в период острого COVID-19 часть пациентов, проходившая лечение в стационарных условиях, при выписке имела высокие показатели ИДП: 49,06 (33,03; 63,24) что в 11 раз больше значений ГС – 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) ( $p < 0,05$ ), что могло быть расценено, как высокий риск развития тяжелого течения ПКС (Рисунок 3.4.5). При этом все пациенты были выписаны из стационара в соответствии с критериями выписки, согласно Временным методическим рекомендациям, актуальным на тот момент.



\* значимость отличий от показателей группы сравнения;  $p < 0,05$

Рисунок 3.4.5 – Интеграционный диагностический показатель – ИДП-ПКС

Стоит отметить, что повышение данного показателя отмечается у пациентов в постковидном периоде, имеющих характерные признаки ПКС с последующими жалобами на хроническую усталость, непереносимость физической нагрузки, значительное снижение работоспособности и повышенную утомляемость. Также обращают на себя пристальное внимание различные проявления когнитивных расстройств, головной боли, головокружения, мигрени, артралгий, миалгий, панических атак, расстройства настроения, эмоциональной лабильности, психогенной депрессии, нарушения засыпания и сна, повышенной потливости, субфебрилитета, сохраняющихся кашля и одышки, а также клинические проявления активации хронических ГВИ. Таким образом, была разработана и зарегистрирована в Роспатенте программа для ЭВМ «Показатель

прогноза развития постковидного синдрома». Данный показатель объединяет соотношение относительного количества нейтрофильных гранулоцитов (НГ) и лимфоцитов (Л), а также уровень С-реактивного белка (СРБ):  $\text{ИДП} = (\% \text{НГ} * \text{СРБ}) / \% \text{Л}$ . Важно отметить, необходимость включения в формулу ИДП относительного количества НГ, которые играют ключевую роль, как в иммунопатогенезе COVID-19, так и в формировании ПКС. Гиперактивация этих иммунных клеток, с формированием NETs способствует развитию иммунотромбозов и нейроиммуновоспаления, что коррелирует с риском развития ПКС (Рисунок 3.4.6).



Рисунок 3.4.6 – Алгоритм программы ИДП-ПКС

Автоматический расчет ИДП позволяет пользователю оценить прогноз развития постковидных осложнений, у пациентов, перенесших SARS-CoV-2 (Рисунок 3.4.7). На рисунке приведен алгоритм программы расчета  $\text{ИДП} = (\% \text{НГ} * \text{СРБ}) / \% \text{Л}$ . Интерпретация полученных данных в зависимости от вычисленной величины осуществляется с последующим представлением пользователю в виде заключения о прогнозе развития постковидных осложнений. Таким образом, результат представляется в виде градации степени риска развития постковидных осложнений:

- Если ИДП < 4,47 - низкий риск развития постковидных осложнений;
- Если ИДП > 4,47-6,43 – средняя степень риска развития постковидных осложнений;

- Если ИДП >6,43 - высокий риск развития постковидных осложнений.

Интеграционный диагностический показатель прогноза развития ПКС (ИДП-ПКС)

ФИО пациента

Иванов И.И.

Дата рождения

21.06.1984

Диагноз пациента по перечню МКБ10

Постковидный синдром

Рассчитать ИДП ИГ-ПКС

ФИО врача

Петров П.П.

количество лимфоцитов (Л)

22 %

уровень С-реактивного белка (СРБ)

10

количество нейтрофильных гранулоцитов (НГ)

74 %

ИДП

33,64

Степень тяжести течения постковидного синдрома

Высокая степень риска развития постковидного синдрома

Записать в базу

Сформировать заключение

| ФИО пациента | Дата рождения | Диагноз по МКБ10 | % лимфоц. | уровень СРБ | % нейтроф. | ИДП   | Степень риска | ФИО врача   |
|--------------|---------------|------------------|-----------|-------------|------------|-------|---------------|-------------|
| Иванов И.И.  | 21.06.1984    | Посткови         | 22        | 10          | 74         | 33,64 | Высокая степ  | Петров П.П. |

О программе

Аквизиция Windows

ФИО пациента

Иванов И.И.

Дата рождения

21.06.1984

Диагноз по перечню МКБ10

Постковидный синдром

Ф.И.О врача

Петров П.П.

Интеграционный диагностический показатель прогноза развития постковидного синдрома

| Наименование исследования | Результат | Референсные значения |
|---------------------------|-----------|----------------------|
| ИДП ПКС                   | 33,64     | > 6,43               |

Заключение:

Высокая степень риска развития постковидного синдрома

Дата заключения

12.04.2024-12:55:59

Подпись

Рисунок 3.4.7 – Экранные изображения программы для ЭВМ ИДП-ПКС

Таким образом, получены убедительные данные, свидетельствующие об информативной значимости ИДП, как в прогнозе исхода и развития ранних постковидных осложнений, так и в качестве предиктора развития ПКС.

### **3.5 Особенности системы интерферонов, про- и противовоспалительных цитокинов у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций**

Повышенные уровни различных цитокинов на пике заболевания и в период реконвалесценции COVID-19, а также те цитокины, которые сохраняются в постковидном периоде при ПКС, могут служить прогностическими биомаркерами, указывающими на незавершенность иммунного воспаления. Это может стать основанием для необходимости мониторинга динамики уровней цитокинов в процессе наблюдения за пациентами в постковидном периоде.

Представления о потенциальных молекулярных механизмах стойкого воспаления при ПКС могут предложить возможные терапевтические мишени, так как более половины всех пациентов с ПКС имеют воспалительную белковую сигнатуру, в то время как у других отмечается не воспалительный вариант течения ПКС.

Патофизиологические механизмы, лежащие в основе ПКС, являются многофакторными и сопровождаются нарушением регуляции иммунной и вегетативной нервной системы. Поэтому необходимы будущие исследования, чтобы понять основной иммунопатофизиологический процесс, который может активировать врожденные и адаптивные иммунные реакции, включая фенотипы, связанные с синдромом пост-COVID-19.

Среди потенциальных механизмов развития ПКС значительную роль играют гиперактивация НГ и NETs, опосредованная действием провоспалительных цитокинов, хемокинов и циркулирующих гистонов, что может приводить к прогрессированию неконтролируемого системного гипервоспаления, усилению респираторной декомпенсации, микротромбозу и неадекватному иммунному ответу, включая нарушение регуляции цитокинового профиля [118, 250].



Для выявления дефектов цитокинового профиля и системы интерферонов у 60 пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ, были проведены исследования уровня про- и противовоспалительных цитокинов и интерферонов статуса (Таблица 3.5.1).

Анализ результатов позволил выявить следующие тенденции: концентрация TNF $\alpha$  в исследуемой группе - 4,15 (2,1; 5,8) пг/мл не отличалась от значений ГС - 4,43(2,6; 4,9) пг/мл ( $p>0,05$ ), также, как и уровень IL18 у пациентов ГИ не показал статистически значимой разницы 183,0 (156,8; 232,9) пг/мл по сравнению с показателями ГС 322,51 (185,5; 381,7) пг/мл ( $p>0,05$ ). В то же время уровень провоспалительного цитокина IL1 $\beta$  в ГИ оказался повышенным в 39,5 раз до 3,95 (1,6; 5,6) пг/мл против 0,1 (0,01; 0,1) пг/мл ( $p<0,05$ ) в ГС. Повышенный уровень IL1 $\beta$  тесно связан с активацией Th1-зависимого иммунного ответа, что может стать причиной воспалительных и дегенеративных процессов. Кроме того, его увеличение является неблагоприятным элементом для развития нейроиммуновоспалительных реакций, которые играют ключевую роль в возникновении когнитивных нарушений и симптомов ПКС. Анализ уровня системного провоспалительного цитокина IL6 выявил неоднозначный характер изменений: у 56 пациентов ГИ концентрация показателя регистрировалась на уровне 1,7 (1,2; 2,8) пг/мл и не отличалась от данных ГС ( $p>0,05$ ), в то же время, у 4 пациентов было выявлено значительное повышение уровня данного показателя в 25 раз 307,7 (197,2; 357,1) пг/мл против ГС 12,3 (1,9; 13,1) пг/мл ( $p<0,05$ ). Стоит отметить, что высокие уровни IL6 в периферической крови наблюдались у пациентов, перенесших тяжелую форму COVID-19, что сопровождалось в последующем тяжелым течением ПКС, с наиболее выраженными и стойкими жалобами согласно шкале-опроснику - 19 (17-21) балла, что в 19 раз больше, чем в ГС-1,0 балл (0,5; 2,0) ( $p<0,05$ ) и было ассоциировано с микст ГВИ, подтвержденными лабораторными исследованиями. Исследование уровня IL17A выявило также неоднозначные данные по ГИ, где у 56 пациентов отмечено

снижение показателя до уровня 0,03 (0,01; 0,02) пг/мл, и, напротив, у 4 пациентов с микст ГВИ регистрировалось повышение данного показателя в 34 раза 460,95 (374,1; 461,0) пг/мл по сравнению с ГС 13,6 (7,7; 21,8) пг/мл ( $p<0,05$ ). Было показано, что данная часть пациентов имела низкие показатели ИДК 12,4 (9,90; 14,14) по сравнению с ГС 99,0 (99,0; 99,0) ( $p<0,05$ ) и по нашему мнению, была более подвержена формированию тромбоэмболий за счет образования NETs, так как известно, что IL17A действует как цитокин, активирующий НГ, и тем самым способствует воспалению и повреждению тканей, участвуя в патогенезе формирования тромбоза за счет усиления активации тромбоцитов [203]. Уровень концентрации IL8 в ГИ был повышен в 2 раза 10,7 (6,4;16,8) пг/мл по сравнению с ГС 5,3 (3,5; 5,7) пг/мл ( $p<0,05$ ), при этом у 1 пациента данный показатель был значительно больше уровня ГС в 22,4 раза и находился на уровне 119,0 пг/мл и сопровождался выраженными жалобами на одышку, хроническую усталость и стойкие когнитивные нарушения, при этом отмечалась подтвержденная лабораторными данными активация ВЭБ инфекции, а ИДК характеризовался тяжелым течением ПКС. Острый период COVID-19 у данного пациента характеризовался тяжелой степенью тяжести, а поражение легочной ткани по данным лучевых исследований находилось в пределах КТЗ-4, с последующим образованием участков фиброза.

Таблица 3.5.1 – Цитокиновый профиль пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ

| Показатель<br>Ме<br>(Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )         | Группа сравнения (ГС),<br>(n=60) | Пациенты с ПКС (ГИ),<br>(n=60)                   |
|----------------------------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------|
| IL1 $\beta$<br>(пг/мл)                                         | 0,1<br>(0,01; 0,1)               | 3,95*<br>(1,6; 5,6)                              |
| TNF $\alpha$<br>(пг/мл)                                        | 4,43<br>(2,6; 4,9)               | 4,15<br>(2,1; 5,8)                               |
| IL6<br>(пг/мл)                                                 | 12,3<br>(1,9; 13,1)              | 1,7 (1,2; 2,8),<br>n=56                          |
|                                                                |                                  | 307,7* (197,2; 357,1),<br>n=4                    |
| IL8<br>(пг/мл)                                                 | 5,3<br>(3,5; 5,7)                | 10,7* (6,4; 16,8),<br>n=59                       |
|                                                                |                                  | 119,0*, n=1                                      |
| IL18<br>(пг/мл)                                                | 322,51<br>(185,5; 381,7)         | 183,0<br>(156,8; 232,9)                          |
| IL17A<br>(пг/мл)                                               | 13,6<br>(7,7; 21,8)              | 0,03 (0,01; 0,02),<br>n=56                       |
|                                                                |                                  | 460,95* (374,1; 461,0),<br>n=4                   |
| IL10<br>(пг/мл)                                                | 3,0<br>(2,5; 3,3)                | 3,1 (2,0; 4,9), n=51<br>15,6 (12,1; 18,2) *, n=9 |
| IL4<br>(пг/мл)                                                 | 2,7<br>(2,2; 2,9)                | 3,4(1,7; 4,95), n=42<br>20,0 (18,2; 23,3)*, n=18 |
| IFN $\alpha$<br>(пг/мл)                                        | 17,4<br>(16,2; 25,7)             | 1,4*<br>(1,0; 3,9)                               |
| IFN $\gamma$<br>(пг/мл)                                        | 5,7<br>(5,3; 13,9)               | 2,3*<br>(1,6; 3,35)                              |
| * значимость отличий от показателей группы сравнения; p < 0,05 |                                  |                                                  |

Анализ уровня противовоспалительных цитокинов IL4 и IL10 также выявил изменения их концентрации в сыворотке крови. Так было отмечено повышение уровня IL4 у 42 пациентов ГИ в 1,3 раза - 3,4 (1,7; 4,95) пг/мл, а у 18 пациентов в 7,5 раз - 20,0 (18,2; 23,3) пг/мл против ГС 2,7 (2,2; 2,9) пг/мл ( $p_{1,2} < 0,05$ ). В то же

время, показатели IL10 у 51 пациента составили 3,1 (2,0; 4,9) пг/мл и не отличались от ГС ( $p_1 > 0,05$ ), а у 9 пациентов были повышены в 5,2 раза - 15,6 (12,1; 18,2) пг/мл против ГС 3,0 (2,5; 3,3) пг/мл ( $p < 0,05$ ). Пациенты с повышенным уровнем IL4 и IL10 предъявляли различные жалобы на симптомы ПКС среднего и тяжелого вариантов течения, также у данных пациентов отмечалась активация ГВИ в разных микст вариациях.

Анализ функционального состояния системы сывороточных интерферонов I и II типов показал снижение уровней IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$  у пациентов с ПКС, что свидетельствует о недостаточной противовирусной защите и характеризуется активацией ГВИ. Оценка функционального состояния системы интерферонов I и II типов позволила выявить снижение уровней IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$ , что подтверждает слабую противовирусную защиту у пациентов с ПКС и характеризуется активацией ГВИ. Уровень IFN $\alpha$  в ГИ оказался значительно ниже в 12,4 раза - 1,4 (1,0; 3,9) пг/мл по сравнению с ГС - 17,4 (16,2; 25,7) пг/мл ( $p < 0,05$ ), при этом показатели IFN $\gamma$  были ниже в 2,5 раза - 2,3 (1,6; 3,35) пг/мл, чем в ГС - 5,7 (5,3; 13,9) пг/мл ( $p < 0,05$ ). Таким образом, наблюдается дисбаланс системы цитокинов и интерферонов статуса, ассоциированный с дефицитом IFN I и II типов, а выявленные изменения в уровнях цитокинов свидетельствуют о развитии нейроиммуновоспаления, риске возникновения тромбозов и тромбоэмболий после перенесенного COVID-19, которые могут зачастую протекать в комбинации с активацией ГВИ.

### **3.6 Состояние гуморального иммунного ответа у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций**

При исследовании гуморального иммунного ответа в ГИ были выявлены следующие показатели: общий IgA выявлялся на уровне 2,0 (1,3; 2,5) г/л и не отличался от ГС 1,3 (1,0; 1,9) г/л; общий IgM составил 1,35 (0,82; 2,12) г/л и

соответствовал показателям контрольной группы 1,2 (0,82; 1,5); общий IgG имел тенденцию к снижению, но статически значимо не отличался от ГС и регистрировался в пределах 10,6 (7,3; 14,5) г/л против ГС 14,8 (12,5; 15,3) г/л ( $p_{1,2,3}>0,05$ ) (Таблица 3.6.1).

Для оценки иммунного ответа на перенесенную инфекцию COVID-19 и с целью определения сероконверсии иммуноглобулинов различных классов к SARS-CoV-2 определяли уровень антител классов IgG, IgM, IgA к SARS-CoV-2 (Таблица 3.6.1).

Таблица 3.6.1 – Показатели иммуноглобулинов у пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ

| Показатели           | Группа сравнения (ГС),<br>(n=60) | Пациенты с ПКС (ГИ),<br>(n=60) |
|----------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| Общий IgA, г/л       | 1,3 (1,0; 1,9)                   | 2,0 (1,3; 2,5)                 |
| Общий IgM, г/л       | 1,2 (0,82; 1,5)                  | 1,35 (0,82; 2,12)              |
| Общий IgG, г/л       | 14,8 (12,5; 15,3)                | 10,6 (7,3; 14,5)               |
| IgA к SARS-CoV-2, КП | < 0,8                            | 0,4 (0,32; 0,46), n=4          |
|                      | $0,8 \leq \text{КП} \leq 1,1$    | 0,9 (0,88; 0,92), n=5          |
|                      | $\geq 1,1$                       | 4,0 (3,1; 6,2), n=51           |
| IgM к SARS-CoV-2, КП | < 0,8                            | 0,22 (0,14; 0,44), n=35        |
|                      | $0,8 \leq \text{КП} \leq 1,1$    | 0,92 (0,89; 0,96), n=7         |
|                      | $\geq 1,1$                       | 12,0 (3,8; 12,6), n=18         |
| IgG к SARS-CoV-2, КП | $\geq 1,1$                       | 13,3 (12,9; 13,5), n=60        |

Оценка показателей уровня иммуноглобулинов к новой коронавирусной инфекции COVID-19 показал следующие тенденции: у всех 60 пациентов ГИ регистрировался титр IgG к SARS-CoV-2 выше коэффициента позитивности (КП), что дополняет анамнез пациентов ГИ о подтвержденной перенесенной SARS-

CoV-2 инфекции. Немаловажным являлось определение титра IgA к SARS-CoV-2, при котором было выявлено, что у 51 пациента отмечались титры выше значения КП, а определение титра IgM в то же время выявило ключевые и значимые результаты, так как у 18 пациентов было отмечено повышение его уровня выше КП, что предполагает наличие остатков и/или продолжающуюся персистенцию вирусных частиц в эпителиальных клетках кишечника и эндотелии сосудов с вероятным последующим развитием аутоиммунных процессов, миокардитов, коагулопатий, тромбоэмболий и прогрессирования симптомов нейроиммуновоспаления (Таблица 3.6.1).

Выявление иммуноглобулинов разных классов к SARS-CoV-2 инфекции в постковидном периоде выполнялось в качестве вспомогательного метода диагностики для подтверждения факта перенесенной ранее инфекции, оценки состояния иммунного ответа и с целью возможного выявления продолжительной персистенции SARS-CoV-2 в организме человека.

## ГЛАВА 4 ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЕ IN VITRO ФЕНОТИПА СУБПОПУЛЯЦИЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ И ИХ ЭФФЕКТОРНЫХ ФУНКЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С АКТИВАЦИЕЙ ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

### 4.1 Эффекты влияния гексапептида in vitro на нейтрофильные гранулоциты у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций

По данным литературы имеется положительный опыт использования во время пандемии COVID-19 в Китае иммуномодулирующего пентапептида тимопентина (Arg-Lys-Asp-Val-Tyr, RKDVY, TP5), являющегося активным центром гормона тимуса тимопоэтина [218]. В России зарегистрирован иммуномодулирующий препарат, содержащий Гексапептид - Arginyl-alpha-Aspartyl-Lysyl-Valyl-Tyrosyl-Arginine, который является синтетическим аналогом активного центра тимопоэтина, гормона тимуса, сохраняя все его биологические функции [11]. Этот пептид оказывает положительное иммунорегулирующее воздействие на нарушенные функции ИС, способствуя восстановлению активности Т-клеток, увеличению числа и активности НГ и моноцитов, а также нормализации синтеза цитокинов. Кроме того, препарат демонстрирует гепатопротекторные и антиоксидантные свойства, повышает эффективность антибактериальной терапии и помогает предотвратить развитие множественной лекарственной устойчивости [11, 22].

Изучение молекулярных механизмов нарушений в системе НГ у пациентов с проявлениями ПКС, в частности регуляторных субпопуляций экспрессирующих IFN $\alpha$ / $\beta$ R, IFN $\gamma$ R (CD119) и CD16 рецепторов на мембране НГ, обеспечивающих взаимодействие между врожденным и адаптивным иммунитетом, является

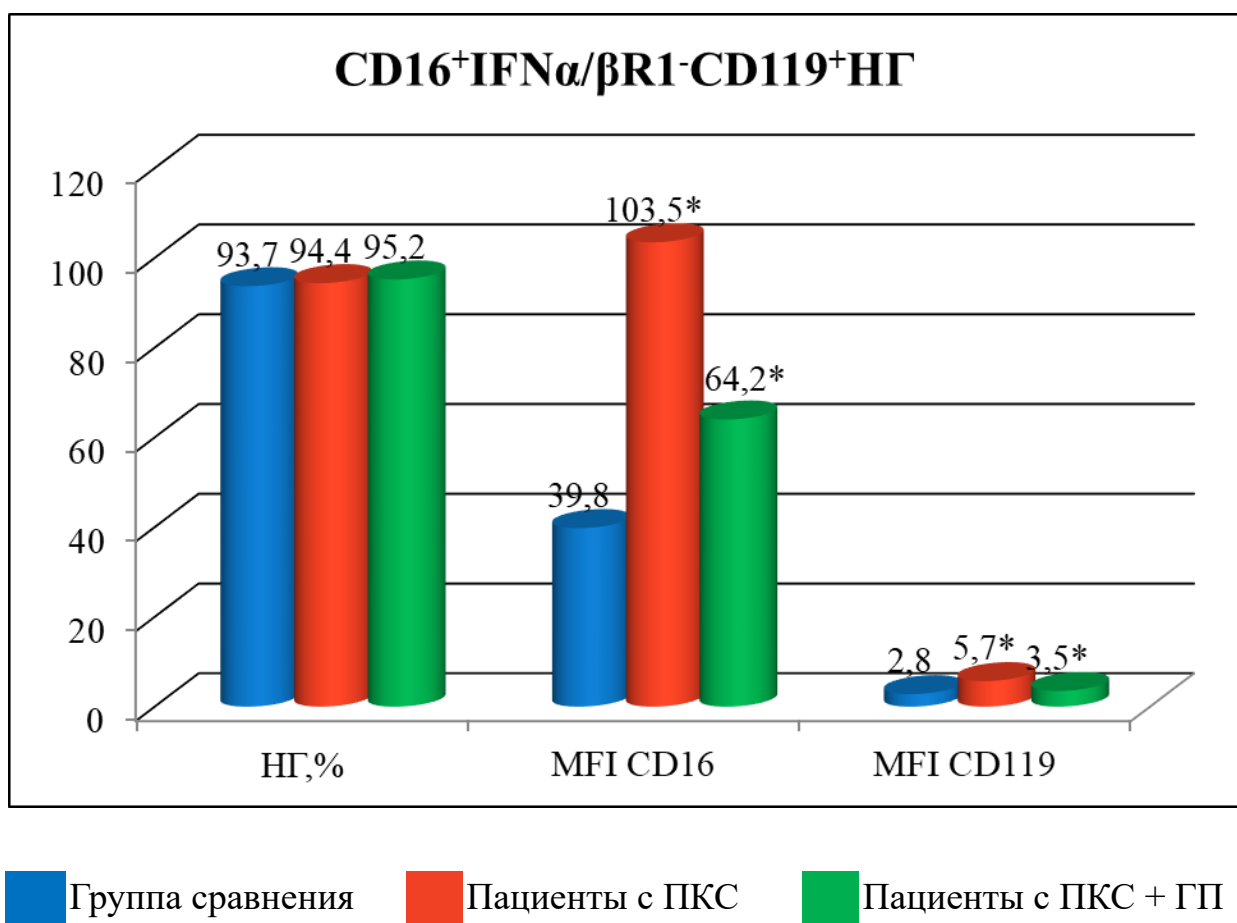
актуальным и представляет несомненный интерес, а изучение эффектов влияния ГП на фенотип и функции НГ может помочь в поиске терапевтических стратегий.

Проведено исследование образцов ПК 60 пациентов перенесших SARS-CoV-2 инфекцию с различными симптомами и проявлениями ПКС, до инкубации - группа исследования (ГИ) и после инкубации с ГП (в концентрации  $10^{-6}$  г/л) в системе *in vitro* в течение 60 мин при  $T=37^{\circ}\text{C}$ . Определяли количество НГ субпопуляций  $\text{CD16}^{+}\text{IFN}\alpha/\beta\text{R1}^{-}\text{CD119}^{+}$ ,  $\text{CD16}^{+}\text{IFN}\alpha/\beta\text{R1}^{+}\text{CD119}^{-}$  и их фенотипа по плотности экспрессии мембранных рецепторов – MFI.

#### **4.1.1 Эффекты влияния гексапептида на количество и фенотип субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих рецепторы к IFN I и II типов, и CD16 при постковидном синдроме, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций**

Инкубация ПК пациентов с ПКС с ГП *in vitro* выявила позитивные эффекты, на фенотип 2 субпопуляций:  $\text{CD16}^{+}\text{IFN}\alpha/\beta\text{R1}^{-}\text{CD119}^{+}$ ,  $\text{CD16}^{+}\text{IFN}\alpha/\beta\text{R1}^{+}\text{CD119}^{-}$  не влияя на их содержание. Так на НГ субпопуляции  $\text{CD16}^{+}\text{IFN}\alpha/\beta\text{R1}^{-}\text{CD119}^{+}$  наблюдалось снижение в 1,6 раз плотности экспрессии по MFI как CD16 до 64,0 (54,5; 76,0) против 103,5 (83,9; 121,0) в ГИ до инкубации ( $p<0,05$ ) так и CD119 до 3,5 (3,5; 5,2) против 5,7 (5,4; 6,8) в ГИ до инкубации ( $p<0,05$ ). При этом регистрируемые показатели MFI CD16 и MFI CD119 оставались повышенными по отношению к уровню экспрессии молекул на НГ данной субпопуляции в ГС ( $p_{1,2}<0,05$ ) (Рисунок 4.1.1.1).



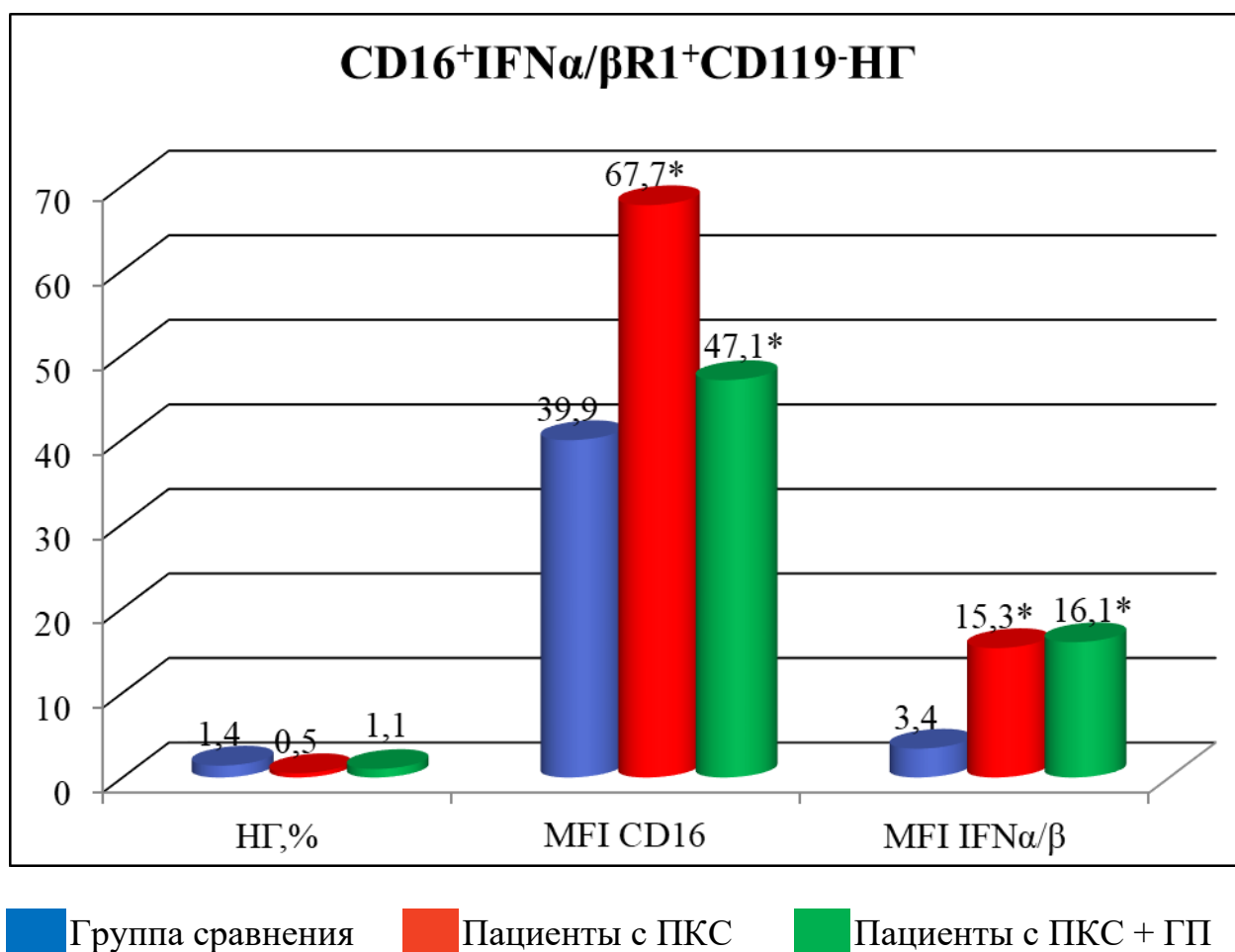


\* значимость отличий от показателей группы сравнения;  $p < 0,05$

^ значимость отличий показателей ГИ до и после инкубации;  $p < 0,05$

Рисунок 4.1.1.1 – Эффекты влияния тимического Гексапептида на фенотип субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>НГ в системе *in vitro*

Воздействие ГП на фенотип субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>НГ также заключались в снижении в 1,4 раза MFI CD16 по отношению к показателям ГИ до инкубации ( $p < 0,05$ ) практически до уровня, определяемого в ГС ( $p > 0,05$ ), при этом плотность экспрессии IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 не менялась и не отличалась от значений, регистрируемых в ГИ до инкубации пациентов с ПКС ( $p > 0,05$ ), но оставаясь в 4,7 раз выше значений в ГС ( $p < 0,05$ ) (Рисунок 4.1.1.2).



\* значимость отличий от показателей группы сравнения;  $p < 0,05$ ;

^ значимость отличий показателей ГИ до и после инкубации;  $p < 0,05$

Рисунок 4.1.1.2 – Эффекты влияния тимического Гексапептида на фенотип субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>НГ в системе *in vitro*

Выявлено позитивное иммуномодулирующее влияние ГП на количественные и фенотипические характеристики субпопуляций НГ: CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>. В эксперименте *in vitro* под влиянием ГП было показано умеренное снижение MFI CD16 рецептора в обеих субпопуляциях и MFI CD119 рецептора в субпопуляции CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup>НГ ( $p_{1,2} < 0,05$ ), но при этом показатели MFI IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 в субпопуляции CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>НГ сохранялись на уровне значений ГИ до инкубации ( $p > 0,05$ ) (Таблица 4.1.1.1).

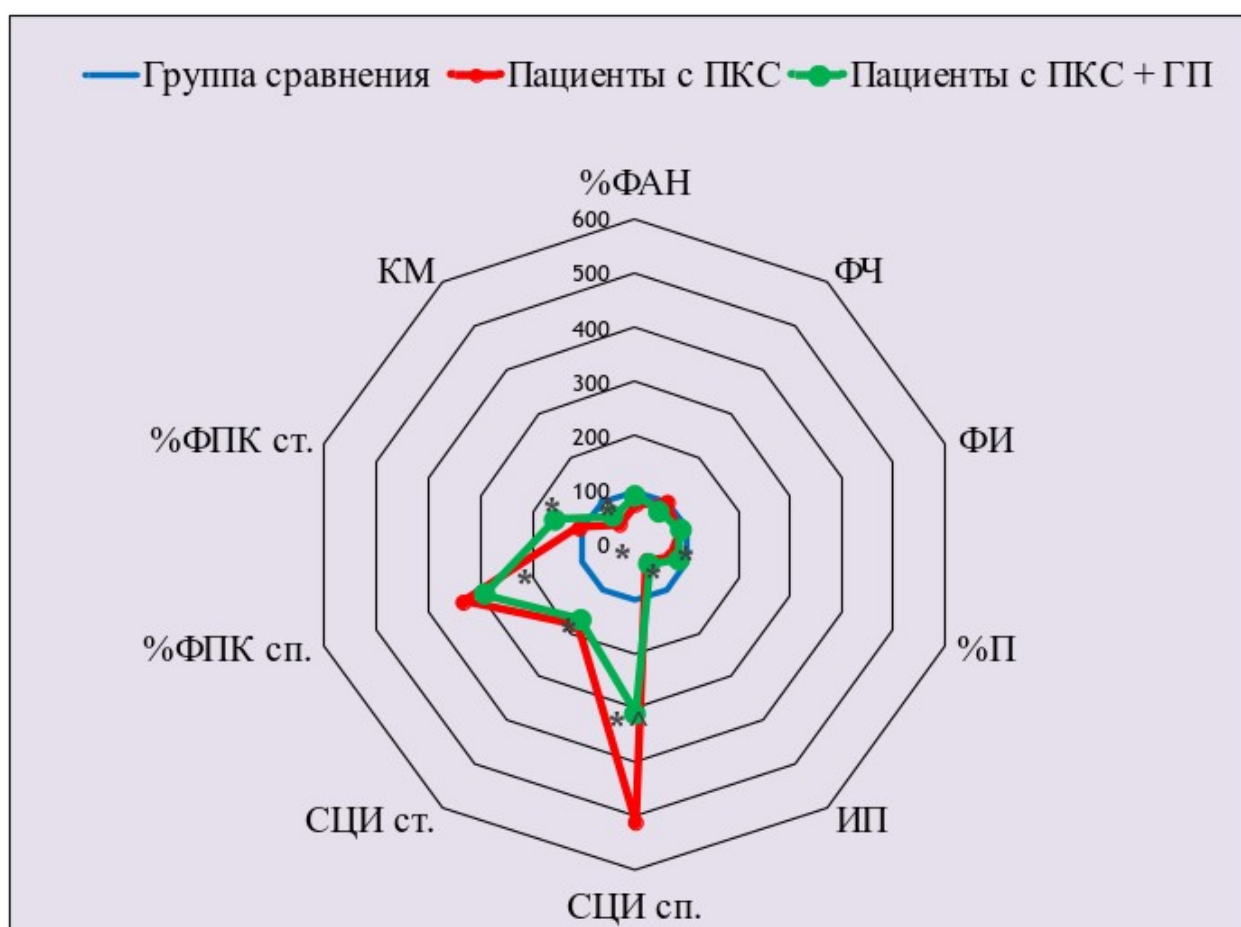
Таблица 4.1.1.1 – Эффекты влияния Гексапептида на фенотип субпопуляций НГ, экспрессирующих рецепторы к IFN I и II типов и активационный маркерный рецептор CD16, у пациентов с ПКС (Me (Q1; Q3))

| Показатели                                                                                                                            | Группа сравнения<br>(ГС), n=60 | Пациенты с ПКС до<br>инкубации с ГП, n=60 | Пациенты с ПКС<br>после инкубации с<br>ГП, n=60 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| <b>CD16<sup>+</sup>IFN<math>\alpha</math>/<math>\beta</math>R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup>НГ</b>                                     |                                |                                           |                                                 |
| НГ, %                                                                                                                                 | 93,7<br>(89,8; 96,5)           | 94,4<br>(92,6; 96,1)                      | 95,2<br>(91,9; 97,0)                            |
| CD16 (MFI)                                                                                                                            | 39,8<br>(20,4; 51,3)           | 103,5*<br>(83,9; 121,0)                   | 64*^<br>(54,5; 76,0)                            |
| CD119 (MFI)                                                                                                                           | 2,8<br>(2,5; 3,1)              | 5,7*<br>(5,4; 6,8)*                       | 3,5*^<br>(3,5; 5,2)                             |
| <b>CD16<sup>+</sup>IFN<math>\alpha</math>/<math>\beta</math>R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>НГ</b>                                     |                                |                                           |                                                 |
| НГ, %                                                                                                                                 | 1,4<br>(0,5; 2,4)              | 0,5<br>(0,4; 2,0)                         | 1,0<br>(0,6; 1,9)                               |
| CD16 (MFI)                                                                                                                            | 39,9<br>(22,9; 54,5)           | 67,7*<br>(58,5; 100,3)*                   | 47^<br>(35,8; 52,8)                             |
| IFN $\alpha$ / $\beta$ (MFI)                                                                                                          | 3,4<br>(2,6; 4,1)              | 15,3*<br>(6,8; 22,2)*                     | 16,0*<br>(10,6; 21,3)                           |
| <b>CD16<sup>+</sup>IFN<math>\alpha</math>/<math>\beta</math>R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>НГ</b>                                     |                                |                                           |                                                 |
| НГ, %                                                                                                                                 | 0,9<br>(0,4; 1,8)              | 0                                         | 0                                               |
| CD16 (MFI)                                                                                                                            | 39,1<br>(26,6; 50,3)           | 0                                         | 0                                               |
| IFN $\alpha$ / $\beta$ (MFI)                                                                                                          | 5,7<br>(4,6; 6,5)              | 0                                         | 0                                               |
| CD119 (MFI)                                                                                                                           | 3,2<br>(2,9; 5,8)              | 0                                         | 0                                               |
| * значимость отличий от показателей группы сравнения; p < 0,05;<br>^ значимость отличий показателей ГИ до и после инкубации; p < 0,05 |                                |                                           |                                                 |

#### **4.1.2 Влияние гексапептида на эффекторные функции нейтрофильных гранулоцитов при постковидном синдроме, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций**

В исследуемых группах также проводилась оценка фагоцитарной активности НГ и параллельно производился подсчет на 100 НГ доли клеток в апоптозе и клеток, образующих NETs.

Анализ функционального потенциала НГ при ПКС выявил снижение в 1,3 раза доли активно фагоцитирующих НГ (%ФАН) ( $p < 0,05$ ), %П в 1,4 раза и 2,9 раз ИП ( $p_{1,2} < 0,05$ ) по отношению к показателям ГС, на фоне увеличения содержания НГ образующих NETs и клеток в апоптозе. При этом в этой группе пациентов отмечалось: в спонтанном NBT-тесте напряженность NADPH-оксидаз по показателям СЦИсп. – 0,46 (0,41; 0,49) и %ФПКсп. – 8,0 (6,8; 9,0) % в сравнении с ГС ( $p_{1,2} < 0,05$ ). В стимулированном NBT-тесте при дополнительной нагрузке *S. aureus* регистрировалось снижение значений СЦИ ст. – 0,36 (0,33; 0,39) и %ФПКст. 6,0 (5,8; 7,0), что демонстрирует истощение оксидазного микробицидного потенциала с КМ-0,86 (0,75; 1,26) ( $p_{1,2} < 0,05$ ) (Рисунок 4.1.2.1).



\* значимость отличий от показателей группы сравнения;  $p < 0,05$ ;

^ значимость отличий показателей ГИ до и после инкубации;  $p < 0,05$

Рисунок 4.1.2.1 – Эффекты влияния Гексапептида на функциональную активность НГ пациентов с ПКС в системе *in vitro*

После инкубации ПК пациентов с ПКС в системе *in vitro* с ГП отмечалось статистически значимое увеличение доли ФАН ( $p < 0,05$ ) и восстановление процессов киллинга и переваривания (%П, ИП) практически до уровня показателей ГС ( $p_{1,2} > 0,05$ ), снижение спонтанной и усиление стимулированной активности NADPH-оксидаз, как по показателям %ФПК, так и по СЦИ с сохранением резервного микробицидного потенциала с КМ - 1,2 (1,1; 1,9). ГП в системе *in vitro* не влиял на процессы образования NETs и апоптоз (Таблица 4.1.2.1).

Таблица 4.1.2.1 – Эффекты влияния Гексапептида на функциональную активность НГ пациентов с ПКС в системе *in vitro* (Ме (Q1; Q3))

| Показатели                                                                                                                                 | Группа сравнения (ГС), n=60 | Пациенты с ПКС до инкубации с ГП, n=60 | Пациенты с ПКС после инкубации с ГП, n=60 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------|
| %ФАН                                                                                                                                       | 65,8<br>(60,9; 79,6)        | 49,0*<br>(48,0; 52,0)                  | 61,0^<br>(53,5; 66,0)                     |
| ФЧ                                                                                                                                         | 3,4<br>(2,1; 4,2)           | 3,3<br>(3,1; 3,4)                      | 2,6<br>(2,3; 2,8)                         |
| ФИ                                                                                                                                         | 1,8<br>(1,6; 2,0)           | 1,6<br>(1,5; 1,8)                      | 1,6<br>(1,4; 1,7)                         |
| %П                                                                                                                                         | 58,9<br>(51,3; 78,3)        | 40,9*<br>(40,5; 41,7)                  | 50,0^<br>(42,9; 53,6)                     |
| ИП                                                                                                                                         | 1,90<br>(1,10; 2,40)        | 0,65*<br>(0,61; 0,72)                  | 0,83*<br>(0,79; 1,1)                      |
| СЦИ сп.                                                                                                                                    | 0,09<br>(0,06; 0,10)        | 0,46*<br>(0,41; 0,49)                  | 0,28<br>(0,16; 0,29)                      |
| СЦИ ст.                                                                                                                                    | 0,20<br>(0,08; 0,30)        | 0,36*<br>(0,33; 0,39)                  | 0,34<br>(0,30; 0,36)                      |
| %ФПК сп.                                                                                                                                   | 2,4<br>(2,3; 3,5)           | 8,0*<br>(6,8; 9,0)                     | 7,0<br>(6,0; 7,0)                         |
| %ФПК ст                                                                                                                                    | 5,5<br>(2,8; 6,3)           | 6,0<br>(5,8; 7,0)                      | 8,5<br>(7,0; 9,5)                         |
| КМ                                                                                                                                         | 1,8<br>(1,60; 2,20)         | 0,8*<br>(0,5; 1,3)                     | 1,2<br>(1,1; 1,9)                         |
| NETs                                                                                                                                       | 1,0<br>(0; 1,0)             | 2,0*<br>(1,75; 2,5)                    | 1,0<br>(1,0; 2,0)                         |
| Клетки в апоптозе                                                                                                                          | 1,0<br>(0; 1,0)             | 2,0<br>(1,0; 3,0)                      | 2,0<br>(1,0; 2,0)                         |
| * значимость отличий от показателей группы сравнения; $p < 0,05$ ;<br>^ значимость отличий показателей ГИ до и после инкубации; $p < 0,05$ |                             |                                        |                                           |

#### 4.2 Эффекты влияния рекIFN $\alpha$ 2b *in vitro* на нейтрофильные гранулоциты у пациентов с постковидным синдромом, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций

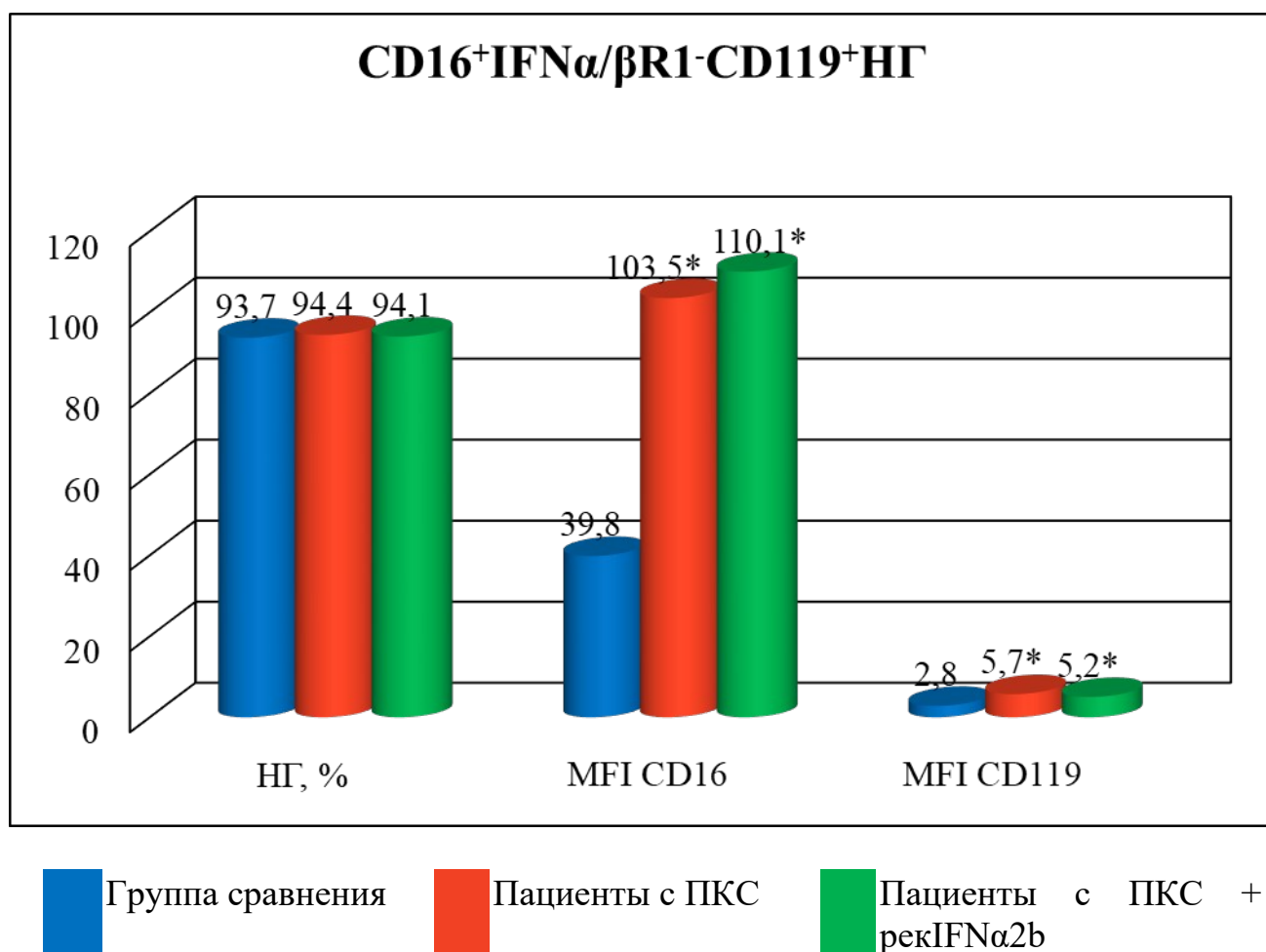
Нарушения в работе ИС в противовирусной защите при ПКС могут сопровождаться истощением и функциональной неполноценностью клеток врожденного и адаптивного иммунитета с последующим прогрессированием нарушений молекулярных механизмов, связанных с продукцией интерферона (IFN) возникших при остром COVID-19 [30]. В частности, было показано, что при COVID-19 отмечается подавление выработки IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$ , увеличение концентрации сывороточных цитокинов, связанных с активацией НГ, изменение состава и характеристик субпопуляций нейтрофилов, а также изменение их функций [19]. Также продемонстрированы эффекты позитивного влияния рекIFN $\alpha$ 2b *in vitro* на количественные и фенотипические характеристики субпопуляций НГ [33]. Также были обнаружены различные дисрегуляторные нарушения в системе противовирусной иммунной защиты и системе IFN у пациентов с атипичными хроническими активными ГВИ, что приводит к развитию состояния иммунокомпрометированности у пациентов с ПКС. Эти нарушения могут проявляться как локально, так и системно, и считаются одним из основных признаков постковидного периода [22].

Проведено исследование образцов ПК 60 пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию с различными симптомами и проявлениями ПКС, до инкубации - группа исследования (ГИ) и после инкубации с рекIFN $\alpha$ 2b (50 МЕ/мкл) в системе *in vitro* в течение 60 мин при T-37<sup>0</sup>C. Определяли количество НГ субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>, и их фенотипа по плотности экспрессии мембранных рецепторов – MFI.

#### **4.2.1 Эффекты влияния рекIFN $\alpha$ 2b на количество и фенотип субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих рецепторы к IFN I и II типов, и CD16 при постковидном синдроме, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций**

Инкубация ПК пациентов с ПКС с рекIFN $\alpha$ 2b *in vitro* не влияла на количество НГ субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup> и CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup> как по сравнению с показателями ГС ( $p_{1,2}>0,05$ ) так и по отношению к значениям ГИ до инкубации ( $p_{1,2}>0,05$ ). В то же время на НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup> в ГИ после инкубации наблюдались незначительные тенденции увеличения плотности экспрессии по MFI CD16 до 110,0 (95,7; 127,0) против 103,5 (83,9; 121,0) в ГИ до инкубации ( $p>0,05$ ) и снижения плотности экспрессии по MFI CD119 до 5,0 (3,7; 6,3) против 5,7 (5,4; 6,8) в ГИ до инкубации ( $p>0,05$ ). При этом регистрируемые показатели MFI CD16 и MFI CD119 оставались повышенными по отношению к уровню экспрессии молекул на НГ данной субпопуляции в ГС ( $p_{1,2}<0,05$ ) (Рисунок 4.2.1.1).

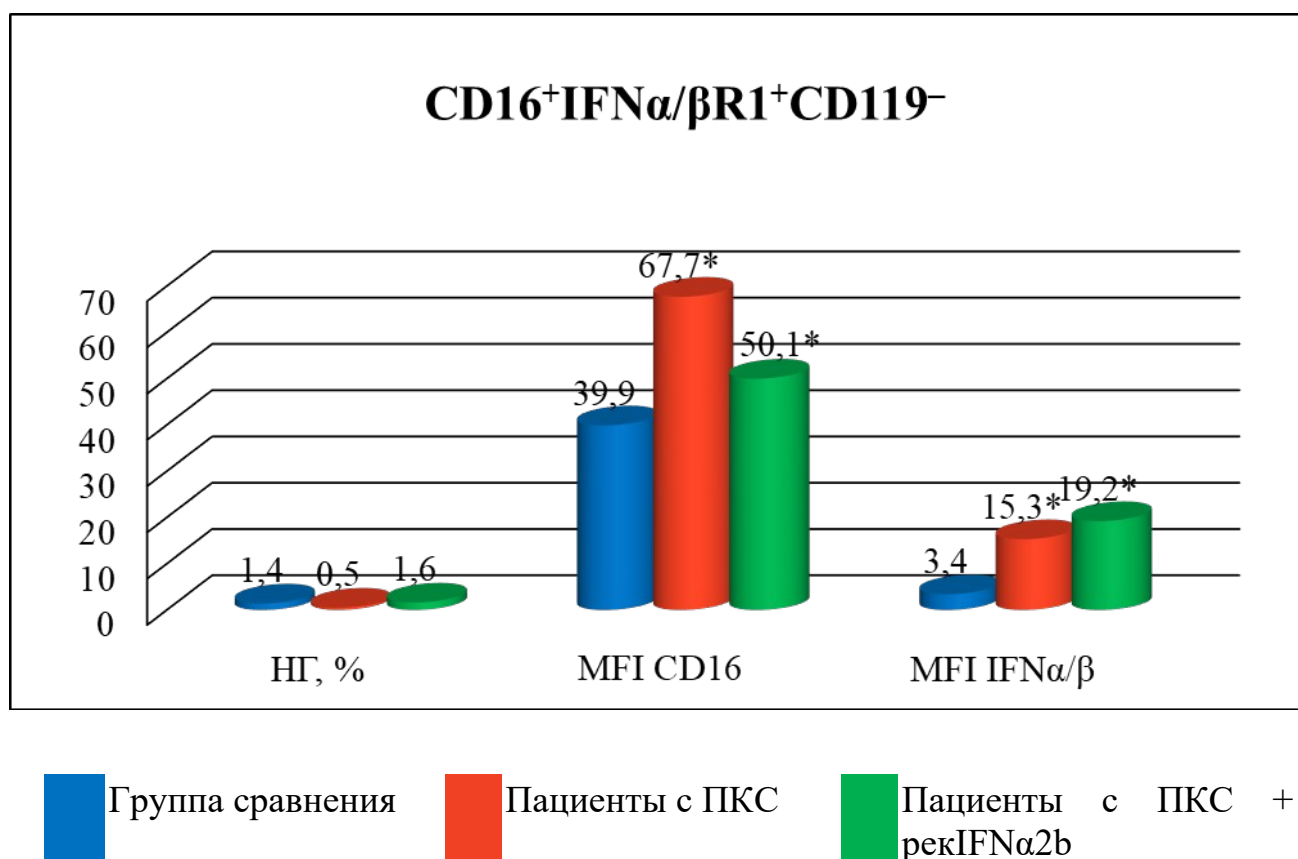




\* значимость отличий от показателей группы сравнения;  $p < 0,05$ ;

Рисунок 4.2.1.1 – Эффекты влияния рекIFN $\alpha$ 2b на фенотип субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1-CD119<sup>+</sup>НГ в системе *in vitro*

Воздействие влияния рекIFN $\alpha$ 2b на фенотип субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1-CD119-НГ заключались в снижении в 1,4 раза MFI CD16 по отношению к показателям ГИ до инкубации ( $p < 0,05$ ) практически до уровня, определяемого в ГС ( $p > 0,05$ ), при этом плотность экспрессии IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 увеличилась в 1,3 раза от значений, регистрируемых в ГИ до инкубации ( $p > 0,05$ ), но оставаясь в 5,6 раз выше значений в ГС ( $p < 0,05$ ) (Рисунок 4.2.1.2).



\* значимость отличий от показателей группы сравнения;  $p < 0,05$ ;

^ значимость отличий показателей ГИ до и после инкубации;  $p < 0,05$

Рисунок 4.2.1.2 – Эффекты влияния рекIFN $\alpha$ 2b на фенотип субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>НГ в системе *in vitro*

Таким образом, у пациентов с ПКС выявлена трансформация субпопуляций НГ CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>НГ и CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup>НГ, несущих рецепторы к IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$  и активационный рецептор CD16, отвечающий, за цитотоксичность НГ по отношению к инфицированным вирусом клеткам. Выявлено значимое повышение плотности экспрессии всех изучаемых рецепторов свидетельствующее об активации НГ с предположительной инициацией антителозависимой клеточной цитотоксической реакции или NETosis (Таблица 4.2.1.1).

Таблица 4.2.1.1 – Эффекты влияния рекIFN $\alpha$ 2b на фенотип субпопуляций НГ, экспрессирующих рецепторы к IFN I и II типов и активационный маркерный рецептор CD16, у пациентов с ПКС (Me (Q1; Q3))

| Показатели                                                                                                                          | Группа сравнения<br>(ГС), n=60 | Пациенты с ПКС до<br>инкубации с<br>рекIFN $\alpha$ 2b,<br>n=60 | Пациенты с ПКС после<br>инкубации с<br>рекIFN $\alpha$ 2b, n=60 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| <b>CD16<sup>+</sup>IFN<math>\alpha</math>/<math>\beta</math>R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup>НГ</b>                                   |                                |                                                                 |                                                                 |
| НГ, %                                                                                                                               | 93,7<br>(89,8; 96,5)           | 94,4<br>(92,6; 96,1)                                            | 94,0<br>(92,4; 95,0)                                            |
| CD16 (MFI)                                                                                                                          | 39,8<br>(20,4; 51,3)           | 103,5*<br>(83,9; 121,0)                                         | 110,0*<br>(95,7;127,0)                                          |
| CD119 (MFI)                                                                                                                         | 2,8<br>(2,5; 3,1)              | 5,7*<br>(5,4; 6,8)*                                             | 5,0*<br>(3,7;6,3)                                               |
| <b>CD16<sup>+</sup>IFN<math>\alpha</math>/<math>\beta</math>R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>НГ</b>                                   |                                |                                                                 |                                                                 |
| НГ, %                                                                                                                               | 1,4<br>(0,5; 2,4)              | 0,5<br>(0,4; 2,0)                                               | 1,6<br>(0,5;1,9)                                                |
| CD16 (MFI)                                                                                                                          | 39,9<br>(22,9; 54,5)           | 67,7*<br>(58,5; 100,3)*                                         | 50,0*^<br>(40,1;62,3)                                           |
| IFN $\alpha$ / $\beta$ (MFI)                                                                                                        | 3,4<br>(2,6; 4,1)              | 15,3*<br>(6,8; 22,2)*                                           | 19,2*<br>(13,9;26,1)                                            |
| <b>CD16<sup>+</sup>IFN<math>\alpha</math>/<math>\beta</math>R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>НГ</b>                                   |                                |                                                                 |                                                                 |
| НГ, %                                                                                                                               | 0,9<br>(0,4; 1,8)              | 0                                                               | 0                                                               |
| CD16 (MFI)                                                                                                                          | 39,1<br>(26,6; 50,3)           | 0                                                               | 0                                                               |
| IFN $\alpha$ / $\beta$ (MFI)                                                                                                        | 5,7<br>(4,6; 6,5)              | 0                                                               | 0                                                               |
| CD119 (MFI)                                                                                                                         | 3,2<br>(2,9; 5,8)              | 0                                                               | 0                                                               |
| * значимость отличий от показателей группы сравнения; p <0,05;<br>^ значимость отличий показателей ГИ до и после инкубации; p <0,05 |                                |                                                                 |                                                                 |

Получены позитивные эффекты влияния рекIFN $\alpha$ 2b *in vitro* на фенотип субпопуляций и функции НГ. РекIFN $\alpha$ 2b *in vitro* не влиял на количество и соотношение 2 субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>. При этом на НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup> сохранялись повышенные показатели MFI CD16 и MFI CD119 по отношению к уровню в ГС; а на НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup> отмечено снижение MFI CD16 до уровня ГС, и усиление экспрессии IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 по сравнению с показателями ГИ до инкубации и ГС.

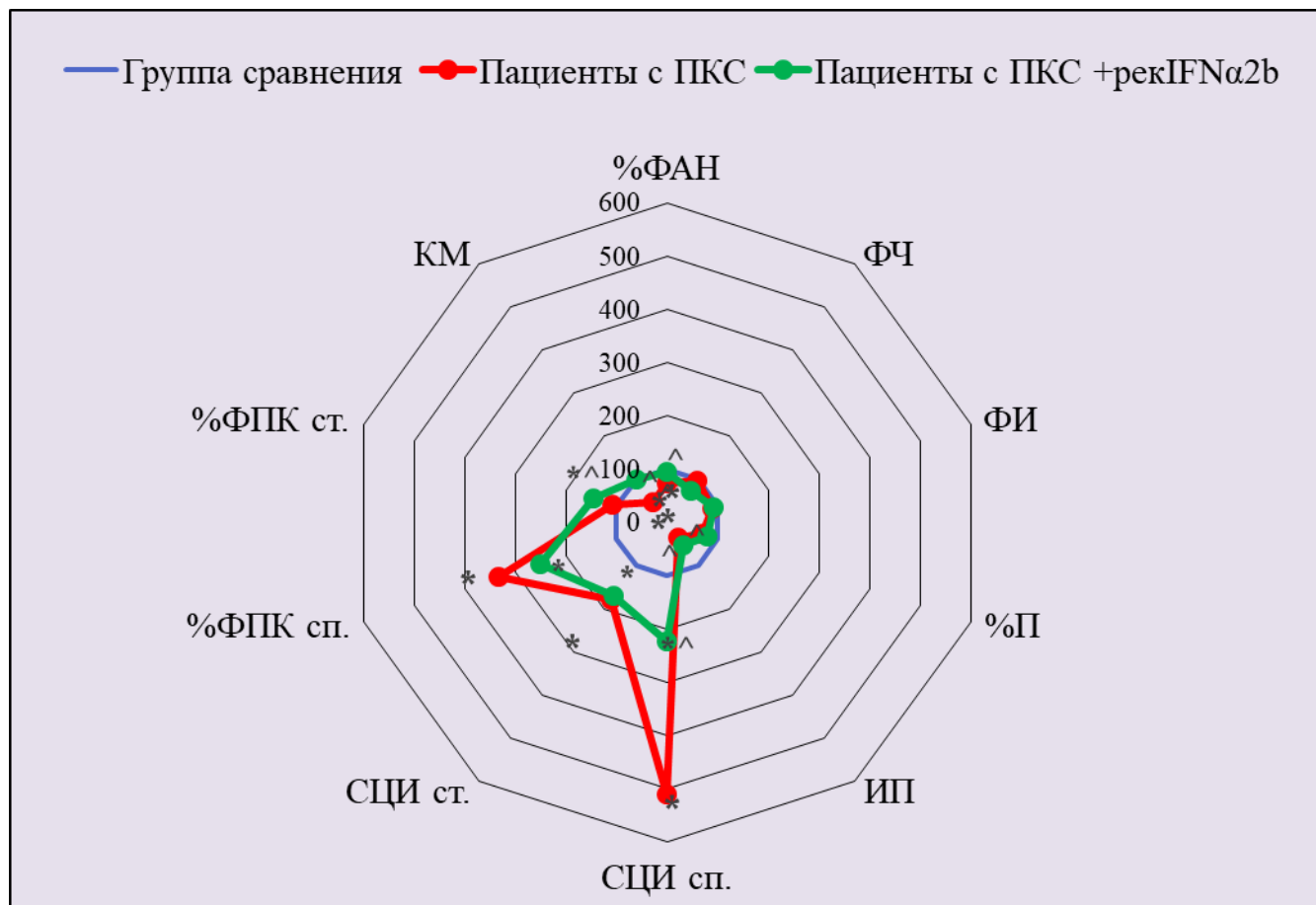
#### **4.2.2 Влияние рекIFN $\alpha$ 2b на эффекторные функции нейтрофильных гранулоцитов при постковидном синдроме, ассоциированным с активацией герпесвирусных инфекций**

В исследуемых группах также проводилась оценка фагоцитарной активности НГ и параллельно производился подсчет на 100 НГ доли клеток в апоптозе и клеток, образующих NETs.

Анализ функционального потенциала НГ при ПКС выявил значительное снижение в 1,3 раза доли активно фагоцитирующих НГ (%ФАН) ( $p < 0,05$ ), %П в 1,4 раза и 2,9 раз ИП ( $p_{1,2} < 0,05$ ) по отношению к показателям ГС, на фоне увеличения содержания НГ образующих NETs и клеток в апоптозе. При этом в этой группе пациентов отмечалось: в спонтанном NBT-тесте напряженность NADPH-оксидаз по показателям СЦИсп. – 0,46 (0,41; 0,49) и %ФПКсп. – 8,0 (6,8; 9,0) % по отношению к ГС ( $p_{1,2} < 0,05$ ). В стимулированном NBT-тесте при дополнительной нагрузке *S. aureus* повышение значений СЦИст. – 0,36 (0,33; 0,39) и %ФПКст. 6,0 (5,8; 7,0), что демонстрирует истощение оксидазного микробицидного потенциала с КМ-0,86 (0,75; 1,26) ( $p_{1,2} < 0,05$ ) (Рисунок 4.2.2.1).

Установлено снижение функциональной активности НГ, проявляющееся в снижении процессов захвата и переваривания бактериальных антигенов и

напряженности NADPH-оксидазной активности с истощением резервных возможностей НГ.



\* значимость отличий от показателей группы сравнения;  $p < 0,05$ ;

^ значимость отличий показателей ГИ до и после инкубации;  $p < 0,05$

Рисунок 4.2.2.1 – Эффекты влияния рекIFNα2b на функциональную активность НГ пациентов с ПКС в системе *in vitro*

После инкубации ПК пациентов с ПКС в системе *in vitro* с рекIFNα2b отмечалось увеличение доли ФАН ( $p < 0,05$ ) и восстановление процессов киллинга и переваривания (%П, ИП) практически до уровня показателей ГС ( $p_{1,2} > 0,05$ ), снижение спонтанной и усиление стимулированной активности NADPH-оксидаз, как по показателям %ФПК, так и по СЦИ с сохранением резервного микробицидного потенциала с КМ - 1,78 (1,58; 1,92). РекIFNα2b в системе *in vitro* не влиял на процессы образования NETs и апоптоз (Таблица 4.2.2.1).

Таблица 4.2.2.1 – Эффекты влияния рекIFN $\alpha$ 2b на функциональную активность НГ пациентов с ПКС в системе *in vitro* (Me (Q1; Q3))

| Показатели                                                                                                                                                               | Группа сравнения (ГС), n=60 | Пациенты с ПКС до инкубации с рекIFN $\alpha$ 2b, n=60 | Пациенты с ПКС после инкубации с рекIFN $\alpha$ 2b, n=60 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| %ФАН                                                                                                                                                                     | 65,8<br>(60,9; 79,6)        | 49,0*<br>(48,0; 52,0)                                  | 62,0^<br>(57,5; 67,0)                                     |
| ФЧ                                                                                                                                                                       | 3,4<br>(2,1; 4,2)           | 3,30<br>(3,1; 3,4)                                     | 2,5^<br>(2,3; 2,6)                                        |
| ФИ                                                                                                                                                                       | 1,8<br>(1,6; 2,0)           | 1,6<br>(1,5; 1,8)                                      | 1,63<br>(1,56; 1,7)                                       |
| %П                                                                                                                                                                       | 58,9<br>(51,3; 78,3)        | 40,9*<br>(40,5; 41,7)                                  | 47,2^<br>(42,9; 51,5)                                     |
| ИП                                                                                                                                                                       | 1,90<br>(1,10; 2,40)        | 0,65*<br>(0,61; 0,72)                                  | 1,0^<br>(0,74; 1, 5)                                      |
| СЦИ сп.                                                                                                                                                                  | 0,09<br>(0,06; 0,10)        | 0,46*<br>(0,41; 0,49)                                  | 0,2*^<br>(0,18; 0,21)                                     |
| СЦИ ст.                                                                                                                                                                  | 0,20<br>(0,08; 0,30)        | 0,36*<br>(0,33; 0,39)                                  | 0,34*<br>(0,32; 0,37)                                     |
| %ФПК сп.                                                                                                                                                                 | 2,4<br>(2,3; 3,5)           | 8,0*<br>(6,8; 9,0)                                     | 6,0*^<br>(6,0; 6,5)                                       |
| %ФПК ст                                                                                                                                                                  | 5,5<br>(2,8; 6,3)           | 6,0<br>(5,8; 7,0)                                      | 8,0*^<br>(8,0; 9,0)                                       |
| КМ                                                                                                                                                                       | 1,8<br>(1,60; 2,20)         | 0,86*<br>(0,75; 1,26)                                  | 1,78^<br>(1,58; 1,92)^                                    |
| NETs                                                                                                                                                                     | 1,0<br>(0; 1,0)             | 2,0*<br>(1,75; 2,5)                                    | 1,0<br>(1,0; 2,0)                                         |
| Клетки в апоптозе                                                                                                                                                        | 1,0<br>(0; 1,0)             | 2,0<br>(1,0; 3,0)                                      | 2,0<br>(1,0; 2,0)                                         |
| * значимость отличий от показателей группы сравнения; p < 0,05<br>^ - значимость отличий показателей ГИ до инкубации и ГИ после инкубации с рекIFN $\alpha$ 2b; p < 0,05 |                             |                                                        |                                                           |

Учитывая, что IFN I и II типов усиливают NETosis [182], возможно предположить, что значительное повышение экспрессии рецепторов, отмечаемое в ГИ до инкубации, может усугубить нейтрофильную инфильтрацию и нетоз, а также связанные с этими процессами проявления ПКС, показано, что рекIFN $\alpha$ 2b в системе *in vitro* не влиял на процессы образования NETs и апоптоз.

#### 4.2.3. Алгоритм комплексной диагностики дисфункций НГ пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ



Рисунок 4.2.3.1 – Алгоритм комплексной диагностики дисфункций НГ пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Последствия пандемии COVID-19 оказались крупномасштабными и непредсказуемыми, что, несомненно, вызывает озабоченность и тревожность всего практического здравоохранения. Согласно многочисленным исследованиям, у 10-20% реконвалесцентов наблюдаются остаточные и вновь приобретенные стойкие симптомы, и осложнения, которые сохраняются в течение 4-12 недель после выздоровления от SARS-CoV-2 инфекции. Данное состояние на сегодняшний день добавлено в МКБ-10 и получило наименование «постковидный синдром». Воздействие SARS-CoV-2, главным образом нацелено на поражение легочной ткани, однако в большинстве случаев происходит повреждение других систем и органов с осложнениями, характеризующимися затяжным и волнообразным течением.

Нарушение работы противовирусной иммунной защиты и вероятность возникновения осложнений, типичных для тяжелых вирусных инфекций, таких как синдром хронической усталости и проблемы с когнитивными функциями, вызывают множество жалоб и значительные расстройства в постковидном периоде. Такие длительные и разнообразные симптомы наблюдаются как у пациентов, перенесших легкую, так и тяжелую форму COVID-19, и, несмотря на невероятные усилия научного и медицинского сообщества, направленные на борьбу с непредвиденными последствиями, в настоящее время существует недостаточное количество исследований, посвященных иммунопатофизиологическим механизмам развития этого синдрома. Недостаточная информированность и отсутствие обоснованных дифференцированных подходов к этио- и иммунопатогенезу осложняют диагностику ПКС, тем самым сказываясь на профилактике, диагностике и лечении данного состояния, что может сопровождаться разнообразными серьезными осложнениями различной природы.

Для диагностики и прогноза развития постковидных осложнений в качестве программы для ЭВМ был разработан и внедрен в лечебный процесс новый лабораторный диагностический маркер. Интеграционный диагностический показатель (ИДП - ПКС) - «Показатель прогноза развития постковидного синдрома» объединяет процентное соотношение относительного количества нейтрофильных гранулоцитов (НГ) и лимфоцитов (Л), а также уровень С-реактивного белка (СРБ):  $\text{ИДП} = (\% \text{НГ} * \text{СРБ}) / \% \text{Л}$  (свидетельство о регистрации № 2024661675 от 21.05.2024 г.). Следует подчеркнуть важность учета в формуле ИДП - ПКС относительного количества НГ, которые играют ключевую роль как в иммунопатогенезе COVID-19, так и в процессе формирования ПКС. Таким образом, ИДП у пациентов, проходивших лечение в стационарных условиях, при выписке 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) ( $p < 0,05$ ), а через 4 недели после выписки значение ИДП оставался повышенным в 3,5 раза - 13,89 (9,45; 18,76) ( $p < 0,05$ ), что могло быть расценено, как высокий риск развития тяжелого течения ПКС в постковидном периоде.

Для изучения клинико-анамнестических особенностей пациентов, страдающих ПКС, была использована модифицированная шкала-опросник позволяющая, выявить ведущие клинические критериальные признаки синдрома хронической усталости, когнитивных нарушений и иммунокомпрометированности. Согласно анкетированию наиболее выраженными признаками, которые отмечались в 100% случаев и имели разную степень выраженности в исследуемой группе, являлись: ощущение стойкой хронической усталости, 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. Анализ результатов шкалы-опросника показал достоверно значимую выраженность симптомов у пациентов, страдающих ПКС, что составило 16,0 (14,75; 20,25) баллов по сравнению с показателями условно здоровых лиц 1,0 (0,5; 2, 0) балл ( $p < 0,05$ ).

Выявление этиологической структуры ГВИ (ВЭБ, ВПГ1/2, ВЧГ6, ВЧГ8, ЦМВ) 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 + ВПГ1/2 + ВЧГ8 + ЦМВ - 33,3 % случаев. Стоит отметить, что у пациентов, имеющих детекцию 3-х 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. Наиболее ведущей особенностью патогенеза ГВИ следует выделить их активную репликацию, которая может отмечаться даже в момент отсутствия клинических проявлений инфекционного заболевания. Таким образом, была выявлена ассоциированность ПКС с различными ГВИ, что имеет большое прогностическое и диагностическое значение, а также определяет выбор дальнейшей лечебной тактики.

Изучение основных параметров функционирования противовирусной иммунной защиты в контексте иммунокомпрометированности и важной роли ГВИ в развитии ПКС позволило выявить различные варианты негативной трансформации фенотипа НГ, связанные с различными дефектами функциональной и микробицидной активности НГ.

Было исследовано содержание субпопуляций  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$ ,  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^-$ ,  $CD16^+IFN\alpha/\beta R1^+CD119^+$  НГ и их фенотипа по плотности экспрессии мембранных рецепторов – MFI. При исследовании уровня

субпопуляций НГ, экспрессирующих рецепторы к IFN I (IFN $\alpha$ / $\beta$ R1), II типов IFN $\gamma$ R (CD119) и активационный маркерный CD16 рецептор, было установлено, что в периферической крови ГС циркулируют 3 субпопуляции НГ: CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup>, экспрессирующая рецептор к IFN $\gamma$  и представленная 93,7 (89,8; 96,5) % НГ; CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>, экспрессирующая рецептор к IFN $\alpha$ / $\beta$  и представленная 1,4 (0,5; 2,4) % НГ и CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>, одновременно экспрессирующая IFN $\alpha$ / $\beta$  и IFN $\gamma$  рецепторы и представленная всего 0,9 (0,4; 1,8) % НГ, но при этом имеющая более высокие значения плотности экспрессии IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 и CD119 молекул ( $p > 0,05$ ). В ГИ содержание НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup> НГ не отличалось от ГС, но при этом было выявлено увеличение плотности экспрессии рецепторов по MFI CD16 в 2,6 раза ( $p < 0,05$ ) и CD119 в 1,9 раз ( $p < 0,05$ ). Напротив, наблюдалась тенденция к снижению в 2,8 раз содержания субпопуляции CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup> НГ ( $p > 0,05$ ) но при этом были характерны повышенные уровни экспрессии IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 в 4,5 раза ( $p < 0,05$ ) и CD16 в 1,7 раз ( $p < 0,05$ ) по отношению к показателям ГС. Отличительной особенностью показателей ГИ явилось отсутствие субпопуляции CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup>, которая, по-видимому, не определяется у пациентов с СХУ. При этом только у 3 пациентов с микст ГВИ регистрировались всего 0,3 % НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>+</sup> с повышенными MFI IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 в 1,8 раз, CD119 в 6 раз и CD16 в 1,4 раза по отношению к значениям ГС ( $p < 0,05$ ). Таким образом, у пациентов с ПКС на фоне активации микст ГВИ отмечается трансформация фенотипа субпопуляций НГ, несущих рецепторы к IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$  и активационный CD16 рецептор, отвечающий за цитотоксичность НГ по отношению к инфицированным вирусами клеткам. Выявлено статистически значимое повышение плотности экспрессии всех изучаемых рецепторов на субпопуляциях CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup> НГ и CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup> НГ, демонстрирующих их готовность к восприятию и ответу цитокиновых сигналов.

Оценка функционального потенциала НГ при ПКС выявила снижение доли активно фагоцитирующих НГ (%ФАН) в 1,3 раза, %переваривания (%П) в 1,4 раза и индекса переваривания (ИП) в 2,9 раза по отношению к показателям ГС ( $p_{1,2,3}<0,05$ ). При этом в данной группе пациентов отмечалось: в спонтанном NBT-тесте напряженность NADPH-оксидаз по показателям СЦИсп. - 0,46 (0,41;0,49) и %ФПКсп. – 8,0 (6,8; 9,0) в сравнении с ГС ( $p_{1,2}<0,05$ ). В стимулированном NBT-тесте при дополнительной нагрузке *S. aureus* отмечалось снижение значений СЦИст. – 0,36 (0,33; 0,39) ( $p<0,05$ ) и %ФПКст. 6,0 (5,8; 7,0) ( $p>0,05$ ), что демонстрирует истощение оксидазного микробицидного потенциала с КМ-0,8 (0,75; 1,26) ( $p<0,05$ ). При морфологической оценке 100 % НГ у условно здоровых добровольцев в периферической крови выявляются клетки с неизменными зрелыми НГ - 99%, отсутствуют NETs, и клетки с апоптозом составляют не более 1 %. Для диагностики и прогноза течения уже, сформировавшегося ПКС с развитием характерных осложнений и формированием СХУ, когнитивных нарушений и активацией ГВИ, в качестве программы для ЭВМ нами был разработан новый лабораторный маркер. Интеграционный диагностический критерий (ИДК - ПКС) - «Критерий прогноза течения ПКС» (свидетельство о регистрации: №2024666662 от 15.07.2024 г.). Данный показатель характеризует состояния системы НГ у пациентов с ПКС:  $\text{ИДК} = \% \text{ неизменных НГ} / \% \text{ клеток, сформировавших NETs и \% клеток в состоянии апоптоза}$ . Степень образования NETs в организме коррелирует с тяжестью воспалительного процесса и является прогностическим показателем развития тяжелых форм ПКС. Гиперактивация НГ, с формированием NETs способствует развитию иммунотромбозов, коагулопатий и нейроиммуновоспаления, опосредованных через процессы нетоза, что напрямую коррелирует с риском развития и тяжестью протекания ПКС. Таким образом, 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 ( $p<0,05$ ) и говорит о

тяжелом течении ПКС; у 37 % пациентов, перенесших COVID-19 среднетяжелой степени тяжести ИДК составил 18,0 что в 5,5 раз меньше, чем в ГС ( $p<0,05$ ) и говорит о среднетяжелом течении ПКС; у 40 %, перенесших COVID-19 среднетяжелой степени тяжести ИДК составил 28,2, что в 3,5 раза меньше, чем в ГС ( $p<0,05$ ), что говорит о легком течении ПКС.

Среди потенциальных механизмов развития ПКС значительную роль играют гиперактивация НГ и образование NETs, опосредованные действием провоспалительных цитокинов, хемокинов и циркулирующих гистонов, что может приводить к прогрессированию неконтролируемого системного гипервоспаления, усилению респираторной декомпенсации, микротромбозу и неадекватному иммунному ответу, включая нарушение регуляции цитокинового профиля. Оценка профиля нейтрофил-ассоциированных сывороточных цитокинов у пациентов с ПКС показала нарушения противовирусной иммунной защиты, которые обуславливают активацию ГВИ, что приводит в свою очередь к возникновению нейроиммуновоспаления, сопровождающегося СХУ и КР, на фоне повышенного уровня в ГИ IL 1 $\beta$  в 39,5 раз до 3,95 (1,6; 5,6) пг/мл против ГС ( $p<0,05$ ) и IL8, повышенного в 2 раза в ГИ 10,7 (6,4;16,8) пг/мл по сравнению с ГС ( $p<0,05$ ). Анализ уровня системного провоспалительного цитокина IL6 выявил неоднозначный характер изменений: у 56 пациентов ГИ концентрация показателя регистрировалась на уровне 1,7 (1,2; 2,8) пг/мл и не отличалась от данных ГС ( $p>0,05$ ), в то же время, у 4 пациентов, перенесших тяжелую степень COVID-19 и имеющих тяжелое течение ПКС, ассоциированного с микст ГВИ было выявлено значительное повышение уровня данного показателя в 25 раз 307,7 (197,2; 357,1) пг/мл против ГС ( $p<0,05$ ) с сопутствующим повышением уровня IL17A в 34 раза 460,95 (374,1; 461,0) пг/мл по сравнению с ГС ( $p<0,05$ ). Таким образом, стоит предположить наличие у данной категории пациентов продолжающегося вялотекущего воспалительного процесса и значительную склонность к возникновению тромбозов за счет активации тромбоцитов, НГ и

формирование NETs. В то же время регистрировалось повышение уровня IL4 в 7,5 раз у 30% ( $p < 0,05$ ) и в 1,3 раза у 70% ( $p > 0,05$ ) пациентов по сравнению с ГС и имеющих сопутствующее повышение уровня IL10 в 5,2 раза у 15% пациентов ( $p > 0,05$ ). Таким образом, установлен дисбаланс цитокинов, вызванный избыточной продукцией провоспалительных цитокинов IL1 $\beta$  и IL8, при недостаточной выработке противовоспалительных цитокинов IL4 и IL10. Такой дисбаланс характерен для активации Th1-зависимого иммунного ответа и ассоциирован с воспалительными и деструктивными процессами, что представляет собой неблагоприятный прогностический фактор для развития синдрома хронической усталости и нейроиммунного воспаления.

Анализ результатов исследования интерферонового статуса показал статистически достоверный дефицит IFN I и II типов, что подтверждает слабую противовирусную защиту у пациентов с ПКС и характеризуется активацией ГВИ. Уровень IFN $\alpha$  в ГИ оказался значительно ниже в 12,4 раза по сравнению с ГС ( $p < 0,05$ ), при этом показатели IFN $\gamma$  были ниже в 2,5 раза, чем в ГС ( $p < 0,05$ ). Таким образом, были обнаружены нарушения в работе системы IFN, проявляющиеся в недостаточной реакции ИС на вирусную инфекцию и приводящие к недостаточной противовирусной иммунной защите. При серологическом исследовании общих иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG в сыворотке крови не было обнаружено статистически значимых различий по сравнению с ГС ( $p > 0,05$ ). В то же время анализ показателей уровня IgA, IgM, IgG к новой коронавирусной инфекции COVID-19 показал следующие тенденции: у всех 60 пациентов ГИ регистрировался титр IgG к SARS-CoV-2 выше коэффициента позитивности (КП), что дополняет анамнез пациентов ГИ о подтвержденной перенесенной SARS-CoV-2 инфекции. Немаловажным являлось определение титра IgA к SARS-CoV-2, при котором было выявлено, что у 51 пациента отмечались титры выше значения КП, а определение титра IgM в то же время выявило ключевые и значимые результаты, так как у 18 пациентов было

отмечено повышение его уровня выше КП, что предполагает наличие остатков и/или продолжающуюся персистенцию вирусных частиц в эпителиальных клетках кишечника и эндотелии сосудов с возможным последующим развитием аутоиммунных процессов, миокардитов, коагулопатий, тромбоэмболий и прогрессирования симптомов нейроиммуновоспаления.

Принимая во внимание ключевую роль НГ, как элементов клеточного звена врожденного иммунитета и их способность влиять на развитие, прогрессирование и исход заболевания через восстановление измененного фенотипа функционально-значимых субпопуляций, были осуществлены экспериментальные исследования в системе *in vitro*. Целью исследований была оценка воздействия иммуномодулирующих препаратов, таких как рекIFN $\alpha$ 2b и ГП на нарушенные эффекторные функции и негативно трансформированный фенотип субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>. Инкубация ПК пациентов с ПКС с ГП *in vitro* выявила модулирующие эффекты, на фенотип 2 субпопуляций: CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>, не влияя при этом на их содержание. Так в ГИ после инкубации с ГП на субпопуляции НГ CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup> наблюдалось снижение в 1,6 раз плотности экспрессии по MFI как CD16 до 64,0 (54,5; 76,0), так и CD119 до 3,5 (3,5; 5,2) против ГИ до инкубации ( $p_{1,2} < 0,05$ ). При этом регистрируемые показатели MFI CD16 и MFI CD119 оставались повышенными по отношению к уровню экспрессии молекул на НГ данной субпопуляции в ГС ( $p_{1,2} < 0,05$ ). Воздействия ГП на фенотип субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>НГ также заключались в снижении в 1,4 раза MFI CD16 по отношению к показателям ГИ до инкубации ( $p < 0,05$ ) практически до уровня, определяемого в ГС ( $p > 0,05$ ), при этом плотность экспрессии IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 не менялась и не отличалась от значений, регистрируемых в ГИ до инкубации ( $p > 0,05$ ), но оставаясь в 4,7 раз выше значений в ГС ( $p < 0,05$ ). Анализ функционального потенциала НГ после инкубации НГ в системе *in vitro* с ГП показал статистически значимое увеличение доли ФАН ( $p < 0,05$ ) и



восстановление процессов киллинга и переваривания (%П, ИП) до уровня показателей ГС ( $p_{1,2} < 0,05$ ), снижение спонтанной и усиление стимулированной активности NADPH-оксидаз, как по показателям %ФПК, так и по СЦИ с сохранением резервного микробицидного потенциала и КМ. ГП в системе *in vitro* не влиял на процессы образования NETs и апоптоз.

Инкубация ПК пациентов с ПКС с рекIFN $\alpha$ 2b *in vitro* не влияла на количество НГ субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup> и CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>, как по сравнению с показателями ГС, так и по отношению к значениям ГИ до инкубации ( $p_{1,2} > 0,05$ ). В то же время в ГИ после инкубации с рекIFN $\alpha$ 2b на НГ субпопуляции CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup> наблюдались незначительные тенденции увеличения плотности экспрессии по MFI CD16 до 110,0 (95,7; 127,0) против ГИ до инкубации ( $p > 0,05$ ) и снижения плотности экспрессии по MFI CD119 до 5,0 (3,7; 6,3) против показателей в ГИ до инкубации ( $p > 0,05$ ). При этом регистрируемые показатели MFI CD16 и MFI CD119 оставались повышенными по отношению к уровню экспрессии молекул на НГ данной субпопуляции в ГС ( $p_{1,2} < 0,05$ ). Эффекты влияния рекIFN $\alpha$ 2b на фенотип субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup> НГ заключались в снижении в 1,4 раза MFI CD16 по отношению к показателям ГИ до инкубации ( $p < 0,05$ ) практически до уровня, определяемого в ГС ( $p > 0,05$ ), при этом плотность экспрессии IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 увеличилась в 1,3 раза от значений, регистрируемых в ГИ до инкубации ( $p > 0,05$ ), оставаясь в 5,6 раз выше значений в ГС ( $p < 0,05$ ). Получены позитивные эффекты влияния рекIFN $\alpha$ 2b *in vitro* на фенотип субпопуляций и функции НГ. У пациентов с ПКС, ассоциированным с ГВИ выявлена трансформация фенотипа субпопуляций CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>-</sup>CD119<sup>+</sup>НГ и CD16<sup>+</sup>IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>CD119<sup>-</sup>НГ, несущих рецепторы к IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$  и активационный рецептор CD16, отвечающий, за цитотоксичность НГ по отношению к инфицированным вирусами клеткам. При анализе функционального потенциала НГ после инкубации с рекIFN $\alpha$ 2b в системе *in vitro* отмечалось увеличение доли ФАН ( $p < 0,05$ ) и восстановление процессов

киллинга и переваривания (%П, ИП) до уровня показателей ГС ( $p_{1,2} < 0,05$ ), снижение спонтанной и усиление стимулированной активности NADPH-оксидаз, как по показателям %ФПК, так и по СЦИ с сохранением резервного микробицидного потенциала и КМ. РекIFN $\alpha$ 2b в системе *in vitro* не влиял на процессы образования NETs и апоптоз.

Принимая во внимание, что интерфероны I и II типов стимулируют NETosis, можно предположить, что значительное увеличение экспрессии всех изученных рецепторов, выявленное в ГИ, свидетельствует об активации НГ с возможным запуском антителозависимой клеточной цитотоксической реакции или NETosis, что может усугубить нейтрофильную инфильтрацию и нетоз, а также связанные с этими процессами проявления ПКС, ассоциированного с ГВИ.

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 $\alpha$ 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 ПКС в итоге нами был разработан алгоритм комплексной клинико-лабораторной диагностики дисфункций НГ для пациентов с ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ.

## ВЫВОДЫ

1. На базе проведения ретроспективного анализа данных 1000 историй болезни пациентов, перенесших подтвержденную SARS-CoV-2 инфекцию и клинико-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: интеграционный диагностический показатель – ИДП-ПКС в качестве предиктора развития ПКС после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции и интеграционный диагностический критерий – 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 клинико-лабораторной диагностики дисфункций НГ у пациентов с ПКС, ассоциированного с активацией ГВИ.

4. Полученные экспериментальные данные о положительном иммуномодулирующем влиянии рекIFN $\alpha$ 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 $\alpha$ 2b и ГП.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

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 развившегося ПКС.

Внедрение в работу профильных специалистов созданного алгоритма комплексной клинико-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 $\alpha$ 2b и тимического гексапептида на восстановление адекватной работы НГ. В связи с этим, перспективным направлением для дальнейшего развития данной темы является создание программы таргетной иммуномодулирующей терапии для пациентов, страдающих ПКС, ассоциированным с активацией ГВИ с применением отечественных фармацевтических препаратов с содержанием исследованных субстанций, разрешенных к применению в клинической практике. Также несомненный интерес вызывает продолжение клинических исследований, направленных на оценку клинико-иммунологической эффективности разработанной программы таргетной иммуномодулирующей терапии для пациентов с ПКС, связанным с активацией ГВИ.



## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

COVID-19 – новая коронавирусная инфекция

IFN – интерферон

IL – интерлейкин

Ig - иммуноглобулины

MFI – средний индекс флюоресценции (middle index of fluorescence)

NETs – нейтрофильные экстрацеллюлярные сети (neutrophil extracellular traps)

ROS – активные формы кислорода (reactive oxygen species)

МПО – миелопероксидаза

ИС – иммунная система

ПК – периферическая кровь

НГ – нейтрофильные гранулоциты

Л – лимфоциты

СРБ – С-реактивный белок

ОРДС –острый респираторный дистресс-синдром

ЦШ – цитокиновый шторм

ПКС – постковидный синдром

СХУ – синдром хронической усталости

КР – когнитивные расстройства

рекIFN $\alpha$ 2b – рекомбинантный интерферон  $\alpha$ 2b

ГП – Гексапептид

МкАТ – моноклональные антитела

%ФАН – процент активно фагоцитирующих нейтрофилов

ФИ – фагоцитарный индекс

ФЧ – фагоцитарное число

%П – процент переваривания

ИП – индекс переваривания

СЦИ – средний цитохимический индекс

ФПК – формаза́н позитивная клетка

КМ – коэффициент мобилизации

КП – коэффициент позитивности

ГВИ – герпесвирусная инфекция

ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр

ЦМВ – цитомегаловирус

ВЧГ6 – вирус человеческого герпеса 6 типа

ВПГ1/ 2 – вирус простого герпеса типа 1/ 2

ПЦР-РВ– полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

ФИПС – Федеральная служба по интеллектуальной собственности

ИДП – интеграционный диагностический показатель

ИДК – интеграционный диагностический критерий

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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. – DOI 10.46235/1028-7221-1199-РОС.
2. Врожденные и приобретенные интерферонопатии, ассоциированные с нетипично протекающими вирусными инфекциями и с COVID-19 / И. В. Нестерова, С. В. Ковалева, Г. А. Чудилова // Иммуноterapia в практике ЛОР-врача и терапевта / Под ред. А.С. Симбирцев, Г.В. Лавренова. – Санкт-Петербург: Диалог, 2022. – С. 234-269.
3. Высокие уровни цитокинов IL17A, IL18, 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 [и др.] // Инфекционные болезни. – 2023. – Т. 21 (4). – С. 12–20. – DOI 10.20953/1729-9225-2023-4-12-20.
4. Добрынина М.А. Формирование вторичных иммунодисфункций у постковидных пациентов и патогенетические подходы к их коррекции: специальности 3.2.7. Иммунология, 3.1.18. Внутренние болезни: диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Добрынина Мария Александровна; Институт иммунологии и физиологии. – Екатеринбург, 2025. – 190 с.
5. Долгушин И. И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов / И. И. Долгушин, Ю. С. Андреева, А. Ю. Савочкина. – Москва: Издательство РАМН, 2009. – 208 с.

6. Изменения врожденных факторов иммунной системы по данным изучения иммунной системы периферической крови у постковидных пациентов / М.А. Добрынина, А.В. Зурочка, М.В. Комелькова [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2023. – Т. 13, № 5. – С. 864–872. – DOI 10.15789/2220-7619-АП-9641.
7. Интеграционный диагностический критерий, оценивающий тяжесть течения COVID-19 и риск возникновения постковидного синдрома / И. В. Нестерова, М. Г. Атажахова, В. А. Матушкина // Медицинская иммунология. – 2024. – Т. 26, № 3. – С. 1383-1392. – DOI 10.15789/1563-0625-IDC-2594.
8. Интерфероно- и иммунотерапия в лечении нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваний у детей и взрослых / И. В. Нестерова, В. В. Малиновская, С. В. Ковалева, Г. А. Чудилова. – USA, GB, Russia, Москва: Capricorn Publishing, 2020. – 366 с.
9. Канорский С. Г. Постковидный синдром: распространенность и патогенез органных поражений, направления коррекции. Систематический обзор / С. Г. Канорский // Кубанский научный медицинский вестник. – 2021. – Т. 28 (6). – С. 90–116. – DOI 10.25207/1608-6228-2021-28-6-90-116.4.
10. Климов Н.А. Взгляд на патогенез постковидного синдрома / Н.А. Климов, А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2024. – Т. 21, № 2. – С. 72–81. – DOI 10.17816/CI636474.
11. Маркова Т. П. Имунофан в комплексном лечении детей с повторными респираторными заболеваниями и микоплазменной инфекцией / Т. П. Маркова, Д. Г. Чувиров // Эффективная фармакотерапия. – 2022. – Т. 18 (12). – С. 12–18.
12. Матушкина В.А. Вариативность патогенетически обусловленных иммунодисрегуляторных нарушений при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) и их влияние на выраженность клинических проявлений: специальности 3.1.22. Инфекционные болезни, 3.2.7. Иммунология:

- диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Матушкина Валерия Александровна; Кубанский государственный медицинский университет. – Краснодар, 2024. – 202 с.
13. Метаболические нарушения в постковидном периоде / Ю.Н. Панина, В.И. Вишневский, Е.Н. Мельчинская, М.В. Вишневский // Актуальные проблемы медицины. – 2023. – Т. 46 (1). – С. 5–15. – DOI 10.52575/2687-0940-2023-46-1-5-15.
  14. Методические рекомендации «Особенности течения Long-COVID инфекции. Терапевтические и реабилитационные мероприятия» // Терапия. – 2022. – Т. 1 (Приложение). – С. 1–147. – DOI 10.18565/therapy.2022.1su– P. 1.1-147.
  15. Методы комплексной оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии [методические рекомендации] / И. В. Нестерова, Г. А. Чудилова, С. В. Ковалева [и др.]. – Краснодар, 2017. – 52 с.
  16. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: значение для диагностики и прогноза COVID-19 / Д. В. Кассина, И. А. Василенко, А. С. Гурьев [и др.] // Альманах клинической медицины. – 2020. – Т. 48 (Спецвыпуск 1). – С. S43–50. – DOI 10.18786/2072-0505-2020-48-029.
  17. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле / И. В. Нестерова, Н. В. Колесникова, Г. А. Чудилова [и др.] // Иммунология. – 2015. – Т. 36, № 4. – С. 257-265.
  18. Нейтрофильные гранулоциты: отражение в зеркале современных представлений / И.В. Нестерова, Г.А. Чудилова, С.В. Ковалева [и др.]. – Москва: Capricorn Publishing, UK, USA, 2018. – 338 с.
  19. Неоднозначная роль нейтрофильных гранулоцитов в иммунопатогенезе COVID-19: взаимосвязь с дисбалансом провоспалительных нейтрофил-ассоциированных цитокинов и дефицитом интерферона- $\alpha$  / И. В. Нестерова,

- В. Н. Городин, В. А. Матушкина [и др.] // Инфекционные болезни. – 2022. – Т. – 20 (4). – С. 12–24. – DOI 10.20953/1729-9225-2022-4-12-24.
20. Неоднозначность влияний рекомбинантного интерферона  $\alpha 2B$  в эксперименте *in vitro* на уровне экспрессии ядерного фактора NF-kb, рецепторов IFN $\alpha\beta$ R и IFN $\gamma$ R (CD119) нейтрофильных гранулоцитов пациентов с хроническими герпес-вирусными инфекциями / И.В. Нестерова, Е.О. Халтурина, В.Н. Нелюбин [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2022. – Т. 196 №1-4. – С. 38-46. – DOI 10.17816/CI2022221-4-7.
  21. Нестерова И. В. Вторичные иммунодефициты и методы их коррекции в практике врача оториноларинголога / И. В. Нестерова // Иммуноterapia в практике ЛОР-врача и терапевта / под редакцией А. С. Симбирцева, Г. В. Лавреновой. – Санкт-Петербург: Диалог, 2018. – С. 32–97.
  22. Нестерова И. В. Клинико-иммунологическая эффективность интеграционной программы реабилитации иммунной системы у пациентов с атипичной хронической активной герпесвирусной коинфекцией до и во время COVID-19, а также в постковидном периоде / И. В. Нестерова, Е. О. Халтурина, В. В. Малиновская // Эффективная фармакотерапия. – 2022. – Т. 18 (37). – С. 30–41. – DOI 10.33978/2307-3586-2022-18-37-30-41.7.
  23. Нестерова И. В. Моно и микст герпесвирусные инфекции: ассоциированность с клиническими синдромами иммунодефицита / И. В. Нестерова, Е. О. Халтурина // Вестник РУДН. Серия: Медицина. – 2018. – Т. 22, № 2. – С.226–234. – DOI 10.22363/2313-0245-2018-22-2-226-234.
  24. Оценка взаимосвязи нарушения цитотоксических Т-лимфоцитов с другими компартментами иммунной системы у постковидных пациентов / М.А. Добрынина, А.В. Зурочка, М.В. Комелькова [и др.] // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2022. – Т. 19, № 3. – С. 294–303. – DOI 10.22138/2500-0918-2022-19-3-294-303.

25. Позитивные эффекты рекомбинантного интерферона  $\alpha 2b$  на фенотип субпопуляции CD16+IFN $\alpha$ /βR1-CD119+, CD16+IFN $\alpha$ /βR1+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. – DOI 10.46235/1028-7221-13908-РЕО.
26. Постковидные неврологические синдромы / В. В. Белопасов, Е. Н. Журавлева, Н. П. Нугманова, А. Т. Абдрашитова // Клиническая практика. – 2021. – Т. 12 (2). – С. 69–82. – DOI 10.17816/clinpract71137.17.
27. Постковидный синдром. Мифы и реалии / В. В. Ковальчук, М. С. Дроздова, Ю. А. Чепель, К. В. Нестерин // Эффективная фармакотерапия. – 2022. – Т. 18 (23). – С. – 20–26. – DOI 10.33978/2307-3586-2022-18-23-20-26.16.
28. Постковидный транзиторный гипогонадизм и эректильная дисфункция / Асфандияров Ф.Р., Круглов В.А., Выборнов С.В. [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2021. – Т. 14 (3). – С. 112-118.
29. Халтурина Е.О. Интеграционная программа коррекции иммунной системы в лечении иммунокомпрометированных пациентов с атипичными хроническими герпес-вирусными инфекциями: специальность 3.2.7. Иммунология: диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Халтурина Евгения Олеговна; Сеченовский университет. – Москва, 2023. – 431 с.
30. Хасанова Д. Р. Постковидный синдром: обзор знаний о патогенезе, нейропсихиатрических проявлениях и перспективах лечения / Д. Р. Хасанова, Ю. В. Житкова, Г. Р. Васкаева // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2021. – Т. 13(3). – С. 93–98. – DOI 10.14412/2074-2711-2021-3-93-98.
31. Чапурина В. Н. Иммуноterapia в коррекции дефектов функционирования нейтрофильных гранулоцитов при нетипично протекающих гнойно-

- воспалительных заболеваниях у детей: специальность 3.2.7. Аллергология и иммунология: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Чапурина Валерия Николаевна; Кубанский государственный медицинский университет. – Краснодар, 2022. – 158 с.
32. Чудилова Г. А. Мультивариантность фенотипической трансформации субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов при различных иммунозависимых заболеваниях: специальность 14.03.09 «Клиническая иммунология, аллергология»: диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Чудилова Галина Анатольевна; Кубанский государственный медицинский университет. – Краснодар, 2020. – 375 с.
  33. Эффекты влияния рекомбинантного интерферона  $\alpha$ -2b на фенотип субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов пациентов с COVID-19 / И. В. Нестерова, В. Н. Городин, Г. А. Чудилова [и др.] // Инфекционные болезни. – 2022. – Т. – 20(1). – С. 43-51. – DOI 10.20953/1729-9225-2022-1-43-51.27.
  34. A comparative study on the clinical features of COVID-19 pneumonia to other pneumonias / D. Zhao, F. Yao, L. Wang [et al.] // Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. – 2020. – Vol. 71 (15) – P. 756-761. – DOI 10.1093/cid/ciaa247.
  35. A Granulocytic Signature Identifies COVID-19 and Its Severity / J. Vitte, A.B. Diallo, A. Boumaza [et al.] // The Journal of Infectious Diseases. – 2020. – Vol. 222 (12). – P. 1985–1996. – DOI 10.1093/infdis/jiaa591.
  36. A Review of Persistent Post-COVID Syndrome (PPCS) / B. Oronsky, C. Larson, T. C. Hammond [et al.] // Clinical reviews in allergy & immunology. – 2023. – Vol. 64 (1). – P. 66-74. – DOI 10.1007/s12016-021-08848-3.
  37. Abduljalil J.M. Epidemiology, genome, and clinical features of the pandemic SARS-CoV-2: a recent view / J.M. Abduljalil, B.M. Abduljalil // New Microbes New Infect. – 2020. – Vol. 35. – P. 100672. – DOI 10.1016/j.nmni.2020.100672.



38. Activation and evasion of type I interferon responses by SARS-CoV-2 / X. Lei, X. Dong, R. Ma [et al.] // Nat Commun. – 2020. – Vol. 11 (1). – P. 3810. – DOI 10.1038/s41467-020-17665-9.
39. Acute and long-term disruption of glycometabolic control after SARS-CoV-2 infection / L. Montefusco, M. Ben Nasr, F. D'Addio [et al.] // Nat Metab. – 2021. – Vol. 3 (6). – P. 774-785. – DOI 10.1038/s42255-021-00407-6.
40. Admission hyperglycaemia as a predictor of mortality in patients hospitalized with COVID-19 regardless of diabetes status: data from the Spanish SEMI-COVID-19 Registry / F.J. Carrasco-Sánchez, M.D. López-Carmona, F.J. Martínez-Marcos [et al.] // Ann. Med. – 2021. – Vol. 53 (1). – P. 103–116. – DOI 10.1080/07853890.2020.1836566.
41. Allergic disorders and susceptibility to and severity of COVID-19: A nationwide cohort study / J.M. Yang, H.Y. Koh, S.Y. Moon [et al.] // J Allergy Clin Immunol. – 2020. – Vol. 146 (4). – P. 790-798. – DOI 10.1016/j.jaci.2020.08.008.
42. An Insight Into Pathophysiology, Epidemiology, and Management of Cardiovascular Complications of SARS-CoV-2 Infection, Post-acute COVID Syndrome, and COVID / F. Vaccine Davoudi, S. Miyashita, T.K. Yoo [et al.] // Crit Pathw Cardiol. – 2022. – Vol. 21 (3). – P. 123-129. – DOI 10.1097/HPC.0000000000000290.
43. Analysis of 2019-nCoV receptor ACE2 expression in different tissues and its significance study / T. Han, J. Kang, G. Li [et al.] // Ann Transl Med. – 2020. – Vol. 8 (17). – P. 1077. – DOI 10.21037/atm-20-4281.
44. Astuti I. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response / I. Astuti, Ysrafil // Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews. – 2020. – Vol. 14. – P. 407–412. – DOI 10.1016/j.dsx.2020.04.020. 25.

45. Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19 / P. Bastard, L.B. Rosen, Q. Zhang [et al.] // *Science*. – 2020. – Vol. 370 (6515). – P. eabd4585. – DOI 10.1126/science.abd4585.
46. Autoantibodies in COVID-19: frequency and function / Z.W. Gao, H.Z. Zhang, C. Liu, K. Dong // *Autoimmun Rev*. – 2021. – Vol. 20 (3). – P. 102754. – DOI 10.1016/j.autrev.2021.102754.
47. Baig A.M. Chronic COVID syndrome: Need for an appropriate medical terminology for long-COVID and COVID long-haulers / A.M. Baig // *J Med Virol*. – 2021. – Vol. 93(5). – P. 2555-2556. – DOI 10.1002/jmv.26624.
48. Beyrau M. Neutrophil heterogeneity in health and disease: a revitalized avenue in inflammation and immunity / M. Beyrau, J. V. Bodkin, S. Nourshargh // *Open biology*. – 2012. – Vol. 2. – P. 120-134. – DOI 10.1098/rsob.120134.
49. Bidirectional associations between COVID-19 and psychiatric disorder: retrospective cohort studies of 62 354 COVID-19 cases in the USA / M. Taquet, S. Luciano, J.R. Geddes, P.J. Harrison // *Lancet Psychiatry*. – 2021. – Vol. 8 (2). – P. 130-140. – DOI 10.1016/S2215-0366(20)30462-4.
50. Billiau A. Interferon-Gamma: A Historical Perspective / A. Billiau, P. Matthys // *Cytokine Growth Factor Rev*. – 2009. – Vol. 20 (2). – P. 97–113. – DOI 10.1016/j.cytogfr.2009.02.004.
51. Biological mechanisms underpinning the development of long COVID / R. Perumal, L. Shunmugam, K. Naidoo [et al.] // *Iscience*. – 2023. – Vol. 26, №. 6. – P. 106935. – DOI 10.1016/j.isci.2023.106935.
52. Biomarkers in long COVID-19: A systematic review / Y.J. Lai, S.H. Liu, S. Manachevakul [et al.] // *Front Med (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1085988. – DOI 10.3389/fmed.2023.1085988.
53. Block H. A Fragile Balance: Does Neutrophil Extracellular Trap Formation Drive Pulmonary Disease Progression? / H. Block, A. Zarbock // *Cells*. – 2021. – Vol. 10, No.8. – P. 1932.

54. Bolourani S. The interplay of DAMPs, TLR4, and proinflammatory cytokines in pulmonary fibrosis / S. Bolourani, M. Brenner, P. Wang // *Journal of Molecular Medicine*. – 2021. – Vol. 99. – P. 1373–1384. – DOI 10.1007/s00109-021-02113-y.9.24.
55. Brinkmann V. Neutrophil extracellular traps in the second decade / V. Brinkmann // *Journal of innate immunity*. – 2018. – Vol. 10 (5-6). – P. 414–421. – DOI <https://doi.org/10.1159/000489829>.
56. Campen C.L.M.C.V. Orthostatic Symptoms and Reductions in Cerebral Blood Flow in Long-Haul COVID-19 Patients: Similarities with Myalgic Encephalomyelitis Chronic Fatigue Syndrome / C.L.M.C.V. Campen, P.C. Rowe, F.C. Visser // *Medicina (Kaunas)*. – 2021. – Vol. 58 (1). – Vol. 28. – DOI 10.3390/medicina58010028.
57. Capatina C. Pituitary and SARS CoV-2: An unremitting conundrum / C. Capatina, C. Poiana, M. Fleseriu // *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. – 2023. – Vol. 37 (4). – P. 101752. – DOI 10.1016/j.beem.2023.101752.
58. Cardiovascular complications in COVID-19 / B. Long, W.J. Brady, A. Koyfman, M. Gottlieb // *Am J Emerg Med*. – 2020. – Vol. 38 (7). – P. 1504-1507. – DOI 10.1016/j.ajem.2020.04.048.
59. Carfi A. Gemelli Against COVID-19 Post-Acute Care Study Group. Persistent Symptoms in Patients After Acute COVID-19 / A. Carfi, R. Bernabei, F. Landi // *JAMA*. – 2020. – Vol. 324 (6). – P. 603-605. – DOI 10.1001/jama.2020.12603.
60. Carfi A. Persistent symptoms in patients after acute COVID-19 / A. Carfi, R. Bernabei, F. Landi // *JAMA*. – 2020. – Vol. 324. – P. 603–605. – DOI 10.1001/jama.2020.12603. 2.
61. Cellular and molecular biomarkers of long COVID: a scoping review / E. Espín, C. Yang, C. – P. Shannon [et al.] // *EBioMedicine*. – 2023. – Vol. 91. – P. 104552. – DOI 10.1016/j.ebiom.2023. 104552.

62. Cerebral Micro-Structural Changes in COVID-19 Patients - An MRI-based 3-month Follow-up Study / Y. Lu, X. Li, D. Geng [et al.] // *EClinicalMedicine*. – 2020. – Vol. 25. – P. 100484. – DOI 10.1016/j.eclinm.2020.100484.
63. Characterising long COVID: a living systematic review / M. Michelen, L. Manoharan, N. Elkheir [et al.] // *BMJ Glob Health*. – 2021. – Vol. 6 (9). – P. e005427. – DOI 10.1136/bmjgh-2021-005427.
64. Christoffersson G. The neutrophil: one cell on many missions or many cells with different agendas? / G. Christoffersson, M. Phillipson // *Cell and Tissue Research*. – 2018. – Vol. 371. – P. 415–423. – DOI 10.1007/s00441-017-2780-z.
65. Clinical and Autoimmune Characteristics of Severe and Critical Cases of COVID-19 / Y. Zhou, T. Han, J. Chen [et al.] // *Clin Transl Sci*. – 2020. – Vol. 13 (6). – P. 1077-1086. – DOI 10.1111/cts.12805.
66. Clinical and high-resolution CT features of the COVID-19 infection: comparison of the initial and follow-up changes / Y. Xiong, D. Sun, Y. Liu [et al.] // *Investigative radiology*. – 2020. – Vol. 55 (6). – P. 332-339. – DOI 10.1097/RLI.0000000000000674.
67. Clinical and pulmonary function analysis in long-COVID revealed that long-term pulmonary dysfunction is associated with vascular inflammation pathways and metabolic syndrome / S. Sanhueza, M.A. Vidal, M.A. Hernandez [et al.] // *Front Med (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1271863. – DOI 10.3389/fmed.2023.1271863.
68. Clinical Characteristics and Immune Injury Mechanisms in 71 Patients with COVID-19 / Y. Wu, X. Huang, J. Sun [et al.] // *mSphere*. – 2020. – Vol. 5 (4). – P. e00362-20. – DOI 10.1128/mSphere.00362-20.
69. Clinical Characteristics of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS) Diagnosed in Patients with Long COVID / K. Tokumasu, H. Honda, N. Sunada [et al.] // *Medicina (Kaunas)*. – 2022. – Vol. 58 (7). – P. 850. – DOI 10.3390/medicina58070850.

70. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China / C. Huang, Y. Wang, X. Li [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395 (10223). – P. 497–506. – DOI 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
71. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China / Q. Ruan, K. Yang, W. Wang [et al.] // *Intensive Care Medicine*. – 2020. – Vol. 46 (5). – P. 846-848. – DOI 10.1007/s00134-020-05991-x.
72. Co-infection with respiratory pathogens among COVID-2019 cases / X. Zhu, Y. Ge, T. Wu [et al.] // *Virus Res*. – 2020. – Vol. 285 (198005). – P. 11.
73. Complement activation in patients with COVID-19: A novel therapeutic target / M. Cugno, P.L. Meroni, R. Gualtierotti [et al.] // *J Allergy Clin Immunol*. – 2020. – Vol. 146 (1). – P. 215-217. – DOI 10.1016/j.jaci.2020.05.006.
74. Complement activation induces excessive T cell cytotoxicity in severe COVID-19 / P. Georg, R. Astaburuaga-García, L. Bonaguro [et al.] // *Cell*. – 2022. – Vol. 185 (3). – P. 493-512.e25. – DOI 10.1016/j.cell.2021.12.040.
75. Complement and tissue factor-enriched neutrophil extracellular traps are key drivers in COVID-19 immunothrombosis / P. Skendros, A. Mitsios, A. Chrysanthopoulou [et al.] // *J Clin Invest*. – 2020. – Vol. 130 (11). – P. 6151-6157. – DOI 10.1172/JCI141374.
76. Comprehensive Health Assessment 3 Months After Recovery From Acute Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) / B. van den Borst, J.B. Peters, M. Brink [et al.] // *Clin Infect Dis*. – 2021. – Vol. 73 (5). – P. e1089-e1098. – DOI 10.1093/cid/ciaa1750.
77. Connors J.M. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation / Connors J.M., Levy J.H. // *Blood*. – 2020. – Vol. 135 (23). – P. 2033-2040. – DOI 10.1182/blood.2020006000.

78. Could SARS-CoV-2 Have Bacteriophage Behavior or Induce the Activity of Other Bacteriophages? / C. Brogna, B. Brogna, D.R. Bisaccia [et al.] // *Vaccines* (Basel). – 2022. – Vol. 10 (5). – P. 708. – DOI 10.3390/vaccines10050708.
79. Course of post COVID-19 disease symptoms over time in the ComPaRe long COVID prospective e-cohort / V-T. Tran, R. Porcher, I. Pane, P. Ravaud // *Nature Communication*. – 2022. – Vol. 13 (1). – P. 1812.
80. COVID-19 and cytomegalovirus co-infection: a challenging case of a critically ill patient with gastrointestinal symptoms / P. H. Amaral, B. M. Ferreira, S. Roll [et al.] // *Eur J Case Rep Intern Med*. – 2020. – Vol. 7 (10). – P. 001911.
81. COVID-19 and the Endocrine System: A Review of the Current Information and Misinformation / S.A. Mirza, A.A.E. Sheikh, M. Barbera [et al.] // *Infect Dis Rep*. – 2022. – Vol. 14 (2). – P. 184-197. – DOI 10.3390/idr14020023.
82. COVID-19 in Relation to Hyperglycemia and Diabetes Mellitus / H. M. Al-Kuraishy, A. I. Al-Gareeb, M. Alblihed [et al.] // *Front. Cardiovasc. Med*. – 2021. – Vol. 8. – P. 644095. – DOI 10.3389/fcvm.2021.644095.
83. COVID-19 Infection: A Neuropsychiatric Perspective / T.A. Manolis, E.J. Apostolopoulos, A.A. Manolis [et al.] // *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. – 2021. – Vol. 33 (4). – P. 266-279.
84. COVID-19 rapid guideline: managing the long-term effects of COVID-19 / NICE. – London, 2023. – URL: [www.nice.org.uk/guidance/ng188](http://www.nice.org.uk/guidance/ng188) (Accessed 09.10.2023).
85. COVID-19 severity correlates with airway epithelium-immune cell interactions identified by single-cell analysis / R. L. Chua, S. Lukassen, S. Trump [et al.] // *Nat Biotechnol*. – 2020. – Vol. 38. – P. 970-979. – DOI 10.1038/s41587-020-0602-4.
86. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression / P. Mehta, D. F. McAuley, M. Brown [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395(10229). – P. 1033-1034. – DOI 10.1016/S0140-6736(20)30628-0.

87. Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV / W. Ji, W. Wang, X. Zhao et al. // J Med Virol. – 2020. – Vol. 92 (4). – P. 433-440. – DOI 10.1002/jmv.25682.
88. CXCR2 antagonist for patients with chronic obstructive pulmonary disease with chronic mucus hypersecretion: a phase 2b trial / A. L. Lazaar, B. E. Miller, A. C. Donald [et al.] // Respir. Res. – 2020. – Vol. 21, No. 1. – P. 149. – DOI 10.1186/s12931-020-01401-4.
89. Cystic fibrosis sputum DNA has NETosis characteristics and neutrophil extracellular trap release is regulated by macrophage migration-inhibitory factor / M. Dwyer, Q. Shan, S. D'Ortona [et al.] // Journal of innate immunity. – 2014. – Vol.6, No.6. – P. 765-79.
90. Damage to endothelial barriers and its contribution to long COVID / X. Wu, M. Xiang, H. Jing [et al.] // Angiogenesis. – 2024. – Vol. 27 (1). – P. 5-22. – DOI 10.1007/s10456-023-09878-5.
91. Damaged lung gas exchange function of discharged COVID-19 patients detected by hyperpolarized<sup>129</sup>Xe MRI / H. Li, X. Zhao, Y. Wang [et al.] // Sci Adv. – 2021. – Vol. 7 (1). – P. eabc8180. – DOI 10.1126/sciadv.abc8180.
92. De Bont C. M. NETosis, complement, and coagulation: a triangular relationship / C.M. De Bont, W.C. Boelens, G.J.M. Pruijn // Cellular and Molecular Immunology. – 2019. – Vol. 16 (1). – P. 19-27.
93. Diagnostic potential of NETosis-derived products for disease activity, atherosclerosis and therapeutic effectiveness in Rheumatoid Arthritis patients / C. Pérez-Sánchez, P. Ruiz-Limón, M. A. Aguirre [et al.] // J Autoimmun. – 2017. – Vol. 82. – P. 31-40. – DOI 10.1016/j.jaut.2017.04.007.
94. Distinguishing features of Long COVID identified through immune profiling / J. Klein, J. Wood, J. Jaycox [et al.] // Preprint at medRxiv. – 2022. – Vol. 8. – P. 22278592. – DOI 10.1101/2022.08.09.22278592.

95. Early evidence of pronounced brain involvement in fatal COVID-19 outcomes / C.H. von Weyhern, I. Kaufmann, F. Neff, M. Kremer // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395 (10241). – P. e109. – DOI 10.1016/S0140-6736(20)31282-4.
96. EBV DNA increase in COVID-19 patients with impaired lymphocyte subpopulation count / S. Paolucci, I. Cassaniti, F. Novazzi [et al.] // *International journal of infectious diseases*. – 2021. – Vol. 104. – P. 315-319.
97. Effect of SARS-CoV-2 infection upon male gonadal function: a single center-based study / L. Ma, W. Xie, D. Li [et al.] // *medRxiv*. – 2020. – Vol. 03 (21). – DOI 10.1101/2020.03.21.20037267.
98. Ehsani A. H. Pityriasis rosea as a cutaneous manifestation of COVID-19 infection / A. H. Ehsani, M. Nasimi, Z. Bigdelo // *J Eur Acad Dermatol*. – 2020. – Vol. 34 (9). – P. E436-E437.
99. Emerging Roles of Coronavirus in Autoimmune Diseases / S.Y. Zhou, C. Zhang, W.J. Shu [et al.] // *Arch Med Res*. – 2021. – Vol. 52 (7). – P. 665-672. – DOI 10.1016/j.arcmed.2021.03.012.
100. Endocytosis of soluble immune complexes leads to their clearance by FcγRIIIB but induces neutrophil extracellular traps via FcγRIIA in vivo / K. Chen, H. Nishi, R. Travers [et al.] // *Blood*. – 2012. – Vol. 120, № 22. – P. 4421-4431. – DOI 10.1182/blood-2011-12-401133.
101. Endothelial cell, myeloid, and adaptive immune responses in SARS-CoV-2 infection / N. Degauque, A. Haziot, S. Brouard, N. Mooney // *FASEB J*. – 2021. – Vol. 35 (5). – P. e21577. – DOI 10.1096/fj.202100024R.
102. Endothelial dysfunction and altered endothelial biomarkers in patients with post-COVID-19 syndrome and chronic fatigue syndrome (ME/CFS) / M. Haffke, H. Freitag, G. Rudolf [et al.] // *J. Transl Med*. – 2022. – Vol. – 20. – P. 138. – DOI 10.1186/s12967-022-03346-2.



103. Enguix D. M. Pityriasis rosea Gibert type rash in an asymptomatic patient that tested positive for COVID-19 / D. M. Enguix, M. D. S. Nievas, D. T. M. Romero // *Med Clin-Barcelona*. – 2020. – Vol. 155 (6). – P. – 272-273.
104. Epidemiological and clinical perspectives of long COVID syndrome / K. Huerne, K.B. Filion, R. Grad [et al.] // *Am J Med Open*. – 2023. – Vol. 9. – P. 100033. – DOI 10.1016/j.ajmo.2023.100033.
105. Epstein–Barr virus coinfection in COVID-19 / A. Nadeem, K. Suresh, H. Awais, S. Waseem // *J Investig Med High Impact Case Rep*. – 2021. – Vol. 9. – P. 23247096211040626.
106. Evaluation of the effects of COVID-19 pandemic on hair diseases through a web-based questionnaire / D. Turkmen, N. Altunisik, S. Sener, C. Colak // *Dermatol Ther*. – 2020. – Vol. 33 (6). – P. e13923. – DOI 10.1111/dth.13923.
107. Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2 / F. Xiao, M. Tang, X. Zheng [et al.] // *Gastroenterology*. – 2020. – Vol. 158 (6). – P. 1831-1833.e3. – DOI 10.1053/j.gastro.2020.02.055.
108. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps in COVID-19 / J. Wang, Q. Li, Y. Yin [et al.] // *Front. Immunol*. – 2020. – Vol. 11. – P. – 2063. – DOI 10.3389/fimmu.2020.02063.
109. Exploring New Mechanism of Depression from the Effects of Virus on Nerve Cells / X. Yu, S. Wang, W. Wu [et al.] // *Cells*. – 2023. – Vol. 12 (13). – P. 1767. – DOI 10.3390/cells12131767.
110. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues / M.Y. Li, L. Li, Y. Zhang, X.S. Wang // *Infect Dis Poverty*. – 2020. – Vol. 9 (1). – P. 45. – DOI 10.1186/s40249-020-00662-x.
111. Eze B. COVID-19 pain and comorbid symptoms / B. Eze, A. Starkweather // *Topics in Pain Management*. – 2021. – Vol. 36. – P. 1–7.

112. Fatigue symptoms during the first year following ARDS / K. J. Neufeld, J. S. Leoutsakos, H. Yan [et al.] // *Chest*. – 2020. – Vol. 158. – P. 999-1007. – DOI 10.1016/j.chest.2020.03.059.
113. Female gender is associated with long COVID syndrome: A prospective cohort study / F. Bai, D. Tomasoni, C. Falcinella [et al.] // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2022. – Vol. 28. – P. e9–e611. – DOI 10.1016/j.cmi.2021.11.002.
114. Female reproductive health impacts of Long COVID and associated illnesses including ME/CFS, POTS, and connective tissue disorders: a literature review / B. Pollack, E. von Saltza, L. Mc Corkell [et al.] // *Front Rehabil Sci.* – 2023. – Vol. 4. – P. 1122673. – DOI 10.3389/fresc.2023.1122673.
115. Ferini-Strambi L. COVID-19 and neurological disorders: are neurodegenerative or neuroimmunological diseases more vulnerable? / L. Ferini-Strambi, M. Salsone // *J Neurol.* – 2021. – Vol. 268 (2). – P. 409-419. – DOI 10.1007/s00415-020-10070-8.
116. Fernández-de-Las-Peñas C. Long COVID: current definition / C. Fernández-de-Las-Peñas // *Infection*. – 2022. – T. 50, №. 1. – P. 285-286.
117. Fetz A. E. Human neutrophil FcγRIIIb regulates neutrophil extracellular trap release in response to electrospun polydioxanone biomaterials / A. E. Fetz, M. Z. Radic, G. L. Bowlin // *Acta Biomaterialia*. – 2021. – Vol. 130. – P. 281-290. – DOI 10.1016/j.actbio.2021.06.007.
118. From online data collection to identification of disease mechanisms: the IL1β, IL6 and TNF-α cytokine triad is associated with post-acute sequelae of COVID-19 in a digital research cohort / C. Schultheiß, E. Willscher, L. Paschold [et al.] // *SSRN*. – 2021. – Vol. 11 (16). – P. 21266391. – DOI 10.2139/ssrn.3963839.
119. From Viral Infection to Skin Affliction: Unveiling Mechanisms of Cutaneous Manifestations in COVID-19 and Post-COVID Conditions / N. Brahimi, D. Croitoru, F. Saidoune [et al.] // *J Invest Dermatol.* – 2025. – Vol. 145 (2). – P. 257-265. – DOI 10.1016/j.jid.2024.03.047.

120. Galestanian A. Immune thrombocytopenic purpura in a patient with SARS-CoV-2 and Epstein–Barr virus / A. Galestanian, K. H. Suthar, B. Karnath // *Cureus*. – 2021. – Vol. 13(2). – P. e13615. – DOI 10.7759/cureus.13615.
121. Garcia-Martinez F. J. SARS-CoV-2 and EBV coinfection / F. J. Garcia-Martinez, E. Moreno-Artero, S. Jahnke // *Med Clin-Barcelona*. – 2020. – Vol. 155 (7). – P. 319-320.
122. Gastrointestinal Manifestations of SARS-CoV-2 Infection and Virus Load in Fecal Samples From a Hong Kong Cohort: Systematic Review and Meta-analysis / K.S. Cheung, I.F.N. Hung, P. – P. Y. Chan [et al.] // *Gastroenterology*. – 2020. – Vol. 159 (1). – P. 81-95. – DOI 10.1053/j.gastro.2020.03.065.
123. Gastrointestinal sequelae 90 days after discharge for COVID-19 / J. Weng, Y. Li, J. Li [et al.] // *Lancet Gastroenterol Hepatol*. – 2021. – Vol. 6 (5). – P. 344-346. – DOI 10.1016/S2468-1253(21)00076-5.
124. Gusev E. Exploring the Pathophysiology of Long COVID: The Central Role of Low-Grade Inflammation and Multisystem Involvement / E. Gusev, A. Sarapultsev // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – Vol. 25 (12). – P. 6389.
125. Hanson M.R. The viral origin of myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome / M.R Hanson // *PLoS Pathog*. – 2023. – Vol. 19 (8). – P. e1011523. – DOI 10.1371/journal.
126. Hellebrekers P. Neutrophil phenotypes in health and disease / P. Hellebrekers, N. Vrisekoop, L. Koenderman // *European journal of clinical investigation*. – 2018. – Vol. 48. – P. e12943. – URL: <https://doi.org/10.1111/eci.12943> (accepted 23 April, 2018).
127. Hematological findings in coronavirus disease 2019: Indications of progression of disease / X. Liu, R. Zhang, G. He [et al.] // *Annals of Hematology*. – 2020. – Vol. 99. – P. 1421–1428. – DOI 10.1007/s00277-020-04103-5.

128. Heparins attenuated histone-mediated cytotoxicity in vitro and improved the survival in a rat model of histone-induced organ dysfunction / T. Iba, N. Hashiguchi, I. Nagaoka [et al.] // *Intensive Care Med. Exp.* – 2015. – Vol. 3, No. 1. – P. 36. – DOI 10.1186/s40635-015-0072-z.
129. Herpes simplex virus and cytomegalovirus reactivations among severe COVID-19 patients / P. Le Balc'h, K. Pinceaux, C. Pronier [et al.] // *Crit Care.* – 2020. – Vol. 24(1). – P. 530.
130. Herpesvirus reactivation during severe COVID-19 and high rate of immune defect / A. Saade, G. Moratelli, E. Azoulay, M. Darmon // *Infect Dis Now.* – 2021. – Vol. 51 (8). – P. 676-679.
131. High incidence of Epstein–Barr virus, cytomegalovirus, and human-herpes virus-6 reactivations in critically ill patients with COVID-19 / A. Simonnet, I. Engelmann, A. S. Moreau [et al.] // *Infect Dis Now.* – 2021. – Vol. 51(3). – P. 296-299.
132. High Levels of Neutrophil Extracellular Traps Persist in the Lower Respiratory Tract of Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019 / W.J.D. Ouwendijk, M.P. Raadsen, J.J.A. van Kampen [et al.] // *The Journal of infectious diseases.* – 2021. – Vol. 223, No.9. – P. 1512-1521. – DOI 10.1093/infdis/jiab050.
133. High levels of pro-inflammatory SARS-CoV-2-specific biomarkers revealed by in vitro whole blood cytokine release assay (CRA) in recovered and long-COVID-19 patients / S.M.R. Gomes, A.C.S. Brito, W.F.P. Manfro [et al.] // *PLoS One.* – 2023. – Vol. 18 (4). – P. e0283983. – DOI 10.1371/journal.pone.0283983.
134. High Prevalence of Pulmonary Sequelae at 3 Months after Hospital Discharge in Mechanically Ventilated Survivors of COVID-19 / R.J.J. van Gassel, J.L.M. Bels, A. Raafs [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2021. – Vol. 203 (3). – P. 371-374. – DOI 10.1164/rccm.202010-3823LE.
135. HOPE-2 Investigators. Post-COVID-19 Symptoms and Heart Disease: Incidence, Prognostic Factors, Outcomes and Vaccination: Results from a Multi-Center

- International Prospective Registry (HOPE 2) / I. J. Núñez-Gil, G. Feltes, M. C. Viana-Llamas [et al.] // *J Clin Med.* – 2023. – Vol. 12 (2). – P. 706. – DOI 10.3390/jcm12020706.
136. Human herpesvirus-6–7 and Epstein–Barr virus reactivation in pityriasis rosea during COVID-19 / F. Drago, G. Ciccarese, A. Rebora, A. Parodi // *J Med Virol.* – 2021. – Vol. 93 (4). – P. 1850-1851.
  137. Hyperglycemia is associated with increased mortality in critically ill patients with COVID-19 / A.Y. Mazori, I.R. Bass, L. Chan [et al.] // *Endocr Pract.* – 2021. – Vol. 27 (2). – P. 95–100. – DOI 10.1016/j.eprac.2020.12.015.
  138. IFNLambda (IFNLambda) Is Expressed in a Tissue-Dependent Fashion and Primarily Acts on Epithelial Cells In Vivo / C. Sommereyns, S. Paul, P. Staeheli, T. Michiels // *PloS Pathog.* – 2008. – Vol. 4 (3). – P. e1000017. – DOI 10.1371/journal.
  139. Immediate and long-term consequences of COVID-19 infections for the development of neurological disease / M.T. Heneka, D. Golenbock, E. Latz [et al.] // *Alzheimers Res Ther.* – 2020. – Vol. 12 (1). – P. 69. – DOI 10.1186/s13195-020-00640-3.
  140. Immune complement and coagulation dysfunction in adverse outcomes of SARS-CoV-2 infection / V. Ramlall, P.M. Thangaraj, C. Meydan [et al.] // *Nat Med.* – 2020. – Vol. 26 (10). – P. 1609-1615. – DOI 10.1038/s41591-020-1021-2.
  141. Immune-based prediction of COVID-19 severity and chronicity decoded using machine learning / B. K. Patterson, J. Guevara-Coto, R. Yogendra [et al.] // *Frontiers in Immunology.* – 2021. – Vol. 12. – P. 700782. – DOI 10.3389/fimmu.2021.700782.
  142. Immunofibrotic drivers of impaired lung function in postacute sequelae of SARS-CoV-2 infection / H.J. Chun, E. Coutavas, A.B. Pine [et al.] // *JCI Insight.* – 2021. – Vol. 6 (14). – P. e148476. – DOI 10.1172/jci.insight.148476.

143. Immunological dysfunction persists for 8 months following initial mild-to-moderate SARS-CoV-2 infection / C. Phetsouphanh, D.R. Darley, D.B. Wilson [et al.] // *Nat Immunol.* – 2022. – Vol. 23 (2). – P. 210-216. – DOI 10.1038/s41590-021-01113-x.
144. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection / J. M. Dan, J. Mateus, Y. Kato [et al.] // *Science.* – 2021. – Vol. 371. – P. eabf4063. – DOI 10.1126/science.abf4063.
145. Immuno-proteomic profiling reveals aberrant immune cell regulation in the airways of individuals with ongoing post-COVID-19 respiratory disease / B. Vijayakumar, K. Boustani, P. Ogger [et al.] // *Immunity.* – 2022. – Vol. 55 (3). – P. 542-556.e5. – DOI 10.1016/j.immuni.2022.01.017.
146. Impact of SARS-CoV-2 infection on the profiles and responses of innate immune cells after recovery / V. Ruenjaiman, P. Sodsai, P. Kueanjinda [et al.] // *J. Microbiol. Immunol. Infect.* – 2022. – Vol. 55, No. 6. – P. 993–1004. – DOI 10.1016/j.jmii.2022.09.001.
147. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients / J. Hadjadj, B. Yatim, A. Corneau [et al.] // *Science.* – 2020. – Vol. 369. – P. 718-724. – DOI 10.1126/science.abc6027.
148. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19 / Q. Zhang, P. Bastard, Z. Liu [et al.] // *Science.* – 2020. – Vol. 370 (6515). – P. eabd4570. – DOI 10.1126/science.abd4570.
149. Incident allergic diseases in post-COVID-19 condition: multinational cohort studies from South Korea, Japan and the UK / J. Oh, M. Lee, M. Kim [et al.] // *Nat Commun.* – 2024. – Vol. 15 (1). – P. 2830. – DOI 10.1038/s41467-024-47176-w.
150. Incident autoimmune diseases in association with SARS-CoV-2 infection: a matched cohort study / F. Tesch, F. Ehm, A. Vivirito [et al.] // *Clin Rheumatol.* – 2023. – Vol. 42. – P. 2905–2914.

151. Increased histone-DNA complexes and endothelial-dependent thrombin generation in severe COVID-19 / B. A. Bouchard, C. Colovos, M. A. Lawson [et al.] // *Vascul. Pharmacol.* – 2022. – Vol. 142. – P. 106950. – DOI 10.1016/j.vph.2021.106950.
152. Increased peripheral blood neutrophil activation phenotypes and neutrophil extracellular trap formation in critically ill coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: A case series and review of the literature / J. A. Masso-Silva, A. Moshensky, M. T. Y. Lam // *Clinical Infectious Diseases.* – 2022. – Vol. 74. – P. 479–489. – DOI 10.1093/cid/ciab437.
153. Infection with SARS-CoV-2 is associated with menstrual irregularities among women of reproductive age / E.M. Cherenack, A.S. Salazar, N.F. Nogueira [et al.] // *PLoS One.* – 2022. – Vol. 17 (10). – P. e0276131. – DOI 10.1371/journal.pone.0276131.
154. Inflammasome activation-induced hypercoagulopathy: Impact on cardiovascular dysfunction triggered in COVID-19 patients / L. Gedefaw, S. Ullah, P. H. M. Leung [et al.] // *Cell.* – 2021. – Vol. 10. – P. 916. – DOI 10.3390/cells10040916.
155. Interferon-Neutralizing Antibodies in a Patient Treated With Human Fibroblast Interferon / A. Vallbracht, J. Treuner, B. Flehmig, K.E. Joester // *Nature.* – 1981. – Vol. 289. – P. 496–497. – DOI 10.1038/289496a0.
156. Intestinal Host Response to SARS-CoV-2 Infection and COVID-19 Outcomes in Patients With Gastrointestinal Symptoms / A.E. Livanos, D. Jha, F. Cossarini [et al.] // *Gastroenterology.* – 2021. – Vol. 160 (7). – P. 2435-2450.e34. – DOI 10.1053/j.gastro.2021.02.056.
157. Intestinal Inflammation Modulates the Expression of ACE2 and TMPRSS2 and Potentially Overlaps With the Pathogenesis of SARS-CoV-2-related Disease / M. Suárez-Fariñas, M. Tokuyama, G. Wei [et al.] // *Gastroenterology.* – 2021. – Vol. 160 (1). – P. 287-301.e20. – DOI 10.1053/j.gastro.2020.09.029.

158. Investigation of long COVID prevalence and its relationship to Epstein–Barr virus reactivation. / J. E. Gold, R. A. Okyay, W. E. Licht, D. J. Hurley // *Pathogens*. – 2021. – Vol. 10 (6). – P. 763.
159. Is the Collapse of the Respiratory Center in the Brain Responsible for Respiratory Breakdown in COVID-19 Patients? / S. Gandhi, A.K. Srivastava, U. Ray, P. – P. Tripathi // *ACS Chem Neurosci*. – 2020. – Vol. 11 (10). – P. 1379-1381. – DOI 10.1021/acscchemneuro.0c00217.
160. Isaacs A. Virus Interference. I. The Interferon / A. Isaacs, J. Lindenmann // *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. – 1957. – Vol. 147 (927). – P. 258–67. – DOI 10.1098/rspb.1957.0048.
161. Kaundal R. K. Neurological implications of COVID-19: Role of redox imbalance and mitochondrial dysfunction / R. K. Kaundal, A. K. Kalvala, A. Kumar // *Molecular Neurobiology*. – 2021. – Vol. 58. – P. 4575–4587. – DOI 10.1007/s12035-021-02412-y.
162. Kocivnik N. A Review Pertaining to SARS-CoV-2 and Autoimmune Diseases: What Is the Connection? / N. Kocivnik, T. Velnar // *Life (Basel)*. – 2022. – Vol. 12 (11). – P. 1918. – DOI 10.3390/life12111918.
163. Lamprecht B. Is there a post-COVID syndrome? / B. Lamprecht // *Pneumologie (Berl)*. – 2020. – Vol. 17(6). – P. 398-405. – DOI 10.1007/s10405-020-00347-0.
164. Large cohort study shows increased risk of developing atopic dermatitis after COVID-19 disease / J. Schmitt, F. Ehm, A. Vivirito [et al.] // *Allergy*. – 2024. – Vol. 79. – P. 232-234. – DOI 10.1111/all.15827.
165. Large-Scale Multi-omic Analysis of COVID-19 Severity / K.A. Overmyer, E. Shishkova, I.J. Miller [et al.] // *Cell Syst*. – 2021. – Vol. 12 (1). – P. 23-40.e7. – DOI 10.1016/j.cels.2020.10.003.
166. Late Complications of COVID-19: A Morphologic, Imaging, and Droplet Digital Polymerase Chain Reaction Study of Lung Tissue / A. C. Roden, J. M. Boland, T.



- F. Johnson [et al.] // Arch Pathol Lab Med. – 2022. – Vol. 146 (7). – P. 791–804. – DOI 10.5858/arpa.2021-0519-SA.
167. Lazear H.M. Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons / H.M. Lazear, J.W. Schoggins, M.S. Diamond // Immunity. – 2019. – Vol. 50 (4). – P. 907-923. – DOI 10.1016/j.immuni.2019.03.025.
168. Lehuen A. Organ-specific and systemic autoimmune diseases / A. Lehuen, A. Marshak-Rothstein // Curr Opin Immunol. – 2013. – Vol. 25 (6). – P. 667-669. – DOI 10.1016/j.coi.2013.10.014.
169. Li Y.C. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients / Y.C. Li, W.Z. Bai, T. Hashikawa // J Med Virol. – 2020. – Vol. 92 (6). – P. 552-555. – DOI 10.1002/jmv.25728.
170. Libby P. COVID-19 is, in the end, an endothelial disease / P. Libby, T. Lüscher // Eur Heart J. – 2020. – Vol. 41 (32). – P. 3038-3044. – DOI 10.1093/eurheartj/ehaa623.
171. Life-Threatening COVID-19: Defective Interferons Unleash Excessive Inflammation / Q. Zhang, P. Bastard, A. Bolze [et al.] // Med. – 2020. – Vol. 1 (1). – P. 14-20. – DOI 10.1016/j.medj.2020.12.001.
172. Lippi G. COVID-19 and its long-term sequelae: what do we know in 2023? / G. Lippi, F. Sanchis-Gomar, B.M. Henry // Pol Arch Intern Med. – 2023. – Vol. 133. – P. 16402. – DOI 10.20452/pamw.16402.
173. Liquid biomarkers of macrophage dysregulation and circulating spike protein illustrate the biological heterogeneity in patients with post-acute sequelae of COVID-19 / C. Schultheiß, E. Willscher, L. Paschold [et al.] // J Med Virol. – 2023. – Vol. 95 (1). – P. e28364. – DOI 10.1002/jmv.28364.
174. Liu Y. COVID-19 and autoimmune diseases / Y. Liu, A.H. Sawalha, Q. Lu // Curr Opin Rheumatol. – 2021. – Vol. 33 (2). – P. 155-162. – DOI 10.1097/BOR.0000000000000776.

175. Liver Function in Patients with Long-Term Coronavirus Disease 2019 of up to 20 Months: A Cross-Sectional Study / I.C. De Lima, D.C. de Menezes, J.H.E. Uesugi [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. – 2023. – Vol. 20. – P. 5281. – DOI 10.3390/ijerph20075281.
176. Long COVID and its associated factors among COVID survivors in the community from a middle-income country-An online cross-sectional study / F.M. Moy, Hairi N.N., Lim E.R.J., Bulgiba A. // *PLoS One*. – 2022. – Vol. 17 (8). – P. e0273364. – DOI 10.1371/journal.pone.0273364.
177. Long COVID classification: Findings from a clustering analysis in the predi-COVID cohort study / A. Fischer, N. Badier, L. Zhang [et al.] // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2022. – Vol. 19 (23). – P. 16018.
178. Long COVID or post COVID-19 syndrome / J. Lechner-Scott, M. Levy, C. Hawkes // *Mult Scler Relat Disord*. – 2021. – Vol. 55. – P. 103268. – DOI 10.1016/j.msard.2021.103268.
179. Long covid outcomes at one year after mild SARS-CoV-2 infection: nationwide cohort study / B. Mizrahi, T. Sudry, N. Flaks-Manov [et al.] // *BMJ*. – 2023. – Vol. 380. – P. e072529. – DOI 10.1136/bmj-2022-072529.
180. Long COVID: Factors influencing persistent symptoms and the impact of gender / A. Rodríguez Onieva, C.A. Soto Castro, V. García Morales [et al.] // *Semergen*. – 2024. – Vol. 50 (5). – P. 102208. – DOI 10.1016/j.semERG.2024.102208.
181. Long COVID: Major findings, mechanisms and recommendations / H.E. Davis, L. Mc Corkell, J.M. Vogel, E.J. Topol // *Nat. Rev. Microbiol*. – 2023. – Vol. 21 (3). – P. 133–146. – DOI 10.1038/s41579-022-00846-2.
182. Long COVID: pathophysiological factors and abnormalities of coagulation / S. Turner, M. A. Khan, D. Putrino [et al.] // *Trends in Endocrinology & Metabolism*. – 2023. – Vol. 34 (6). – P. 321-344.

183. Long COVID-19 Syndrome Severity According to Sex, Time from the Onset of the Disease, and Exercise Capacity-The Results of a Cross-Sectional Study / E. Paradowska-Nowakowska, D. Łoboda, K.S. Gołba, B. Sarecka-Hujar // *Life* (Basel). – 2023. – Vol. 13 (2). – P. 508. – DOI 10.3390/life13020508.
184. Long-COVID and Post-COVID Health Complications: An Up-to-Date Review on Clinical Conditions and Their Possible Molecular Mechanisms / B. Silva Andrade, S. Siqueira, W.R. de Assis Soares [et al.] // *Viruses*. – 2021. – Vol. 13 (4). – P. 700. – DOI 10.3390/v13040700.
185. Long-term neuromuscular consequences of SARS-Cov-2 and their similarities with myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: results of the retrospective CoLGEM study / F. Retornaz, S. Rebaudet, C. Stavris, Y. Jammes // *J Transl Med*. – 2022. – Vol. 20 (1). – P. 429. – DOI 10.1186/s12967-022-03638-7.
186. Low R.N. A review of cytokine-based pathophysiology of Long COVID symptoms / R.N. Low, R.J. Low, A. Akrami // *Front. Med*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1011936. – DOI 10.3389/fmed.2023.1011936.
187. Lung protection by cathepsin C inhibition: a new hope for COVID-19 and ARDS? / B. Korkmaz, A. Lesner, S. Marchand-Adam [et al.] // *J. Med. Chem*. – 2020. – Vol. 63, No. 22. – P. 13258–13265. – DOI 10.1021/acs.jmedchem.0c00776.
188. Maham S. Clinical Spectrum of Long COVID: Effects on Female Reproductive Health / S. Maham, M.S. Yoon // *Viruses*. – 2024. – Vol. 16 (7). – P. 1142. – DOI 10.3390/v16071142.
189. Mallakpour S. Protection, disinfection, and immunization for healthcare during the COVID-19 pandemic: Role of natural and synthetic macromolecules / S. Mallakpour, E. Azadi, C. M. Hussain // *Science of the Total Environment*. – 2021. – Vol. 776. – P. 145989. – DOI 10.1016/j.scitotenv.2021.145989.

190. Management of post-acute COVID-19 in primary care / T. Greenhalgh, M. Knight, C. A'Court [et al.] // *BMJ*. – 2020. – Vol. 370. – P. m3026. – DOI 10.1136/bmj.m3026.3.
191. Manifestations and prognosis of gastrointestinal and liver involvement in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis / R. Mao, Y. Qiu, J.S. He [et al.] // *Lancet Gastroenterol Hepatol*. – 2020. – Vol. 5 (7). – P. 667-678. – DOI 10.1016/S2468-1253(20)30126-6.
192. Martin de Francisco Á. Long COVID-19 renal disease: A present medical need for nephrology / Á. Martin de Francisco, G. Fernández Fresnedo // *Nefrología (English Edition)*. – 2023. – Vol. 43, №. 1. – P. 1-5. – DOI 10.1016/j.nefro.2023.03.011.
193. Matricardi P.M. The first, holistic immunological model of COVID-19: Implications for prevention, diagnosis, and public health measures / P.M. Matricardi, R.W. Dal Negro, R. Nisini // *Pediatr Allergy Immunol*. – 2020. – Vol. 31 (5). – P. 454-470. – DOI 10.1111/pai.13271.
194. Mehandru S. Pathological sequelae of long-haul COVID / S. Mehandru, M. Merad // *Nat Immunol*. – 2022. – Vol. 23 (2). – P. 194-202. – DOI 10.1038/s41590-021-01104-y.
195. Merhy R. Pityriasis rosea as a leading manifestation of COVID-19 infection / R. Merhy, A. S. Sarkis, F. Stephan // *J Eur Acad Dermatol*. – 2021. – Vol. 35 (4). – P. E246-E247.
196. Miner J. J. Mechanisms of restriction of viral invasion at the blood-brain barrier / J. J. Miner, M. S. Diamond // *Curr Opin Immunol*. – 2016. – Vol. 38. – P. 18–23. – DOI 10.1016/j.coi.2015.10.008.
197. Mitochondrial permeability transition pore is involved in oxidative burst and NETosis of human neutrophils / N. Vorobjeva, I. Galkin, O. Pletjushkina [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis*. – 2020. – Vol. 1866, No. 5. – P. 165664. – DOI 10.1016/j.bbadis.2020.165664.

198. Moniz P. SARS-CoV-2 and cytomegalovirus co-infections-A case series of critically ill patients / P. Moniz, S. Brito, P. Pova // J Clin Med. – 2021. – Vol. 10 (13). – P. 2792.
199. More than 50 long-term effects of COVID-19: a systematic review and meta-analysis / S. Lopez-Leon, T. Wegman-Ostrosky, C. Perelman [et al.] // Scientific reports. – 2021. – Vol. 11. – P. 16144 – URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95565-8>.
200. Moss P. The ancient and the new: is there an interaction between cytomegalovirus and SARS-CoV-2 infection? / P. Moss // Immun Ageing. – 2020. – Vol. 27. – P. 14-17. – DOI 10.1186/s12979-020-00185-x.
201. Multiorgan impairment in low-risk individuals with post-COVID-19 syndrome: a prospective, community-based study / A. Dennis, M. Wamil, J. Alberts [et al.] // BMJ Open. – 2021. – Vol. 11 (3). – P. e048391. – DOI 10.1136/bmjopen-2020-048391.
202. Multiple early factors anticipate post-acute COVID-19 sequelae / Y. Su, D. Yuan, D.G. Chen [et al.] // Cell. – 2022. – Vol. 185 (5). – P. 881-895.e20. – DOI 10.1016/j.cell.2022.01.014.
203. Nath A. Long-haul COVID / A. Nath // Neurology. – 2020. – Vol. 95. – P. 559–560. – DOI 10.1212/WNL.00000000000010640.
204. Neurocognitive deficits in severe COVID-19 infection: Case series and proposed model / D. M. Whiteside, V. Oleynick, E. Holker [et al.] // Clin Neuropsychol. – 2021. – Vol. 35(4). – P. 799-818. – DOI 10.1080/13854046.2021.1874056.14.
205. Neurocovid-19: A clinical neuroscience-based approach to reduce SARS-CoV-2 related mental health sequelae / S. Pallanti, E. Grassi, N. Makris [et al.] // Journal of psychiatric research. – 2020. – Vol. 130. – P. 215–217. – DOI 10.1016/j.jpsychires.2020.08.008.

206. Neuroinvasion and inflammation in viral central nervous system infections / T. Dahm, H. Rudolph, C. Schwertk [et al.] // *Mediators Inflamm.* – 2016. – Vol. – 2016. – P. 8562805. – DOI 10.1155/2016/8562805.
207. Neuropathological Features of Covid-19 / I.H. Solomon, E. Normandin, S. Bhattacharyya [et al.] // *N Engl J Med.* – 2020. – Vol. 383 (10). – P. 989-992. – DOI 10.1056/NEJMc2019373.
208. Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* yeast and hyphal forms / C. F. Urban, U. Reichard, V. Brinkmann, A. Zychlinsky // *Cell. Microbiol.* – 2006. – Vol. 8, No. 4. – P. 668–676. – DOI 10.1111/j.1462-5822.2005.00659.x.
209. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome / E.A. Middleton, X.Y. He, F. Denorme [et al.] // *Blood.* – 2020. – Vol. 136 (10). – P. 1169-1179. – DOI 10.1182/blood.2020007008.
210. Neutrophil extracellular traps in COVID-19 / Y. Zuo, S. Yalavarthi, H. Shi [et al.] // *JCI Insight.* – 2020. – Vol. 5 (11). – P. e138999. – DOI 10.1172/jci.insight.138999.
211. Neutrophil extracellular traps kill bacteria / V. Brinkmann, U. Reichard, C. Goosmann [et al.] // *Science.* – 2004. – Vol. 303, No. 5663. – P. 1532–1535. – DOI 10.1126/science.1092385.
212. Neutrophils in COVID-19 / N. Reusch, E. De Domenico, L. Bonaguro [et al.] // *Frontiers in immunology.* – 2021. – Vol. 12. – P. 652470. – DOI 10.3389/fimmu.2021.652470.
213. New-Onset Diabetes in Covid-19 / F. Rubino, S.A. Amiel, P. Zimmet [et al.] // *N Engl J Med.* – 2020. – Vol. 383 (8). – P. 789-790. – DOI 10.1056/NEJMc2018688.
214. Nucleocapsid protein accumulates in renal tubular epithelium of a post-COVID-19 patient / A.E. Grootemaat, N. Wiersma, S. van der Niet [et al.] // *Microbiol Spectr.* – 2023. – Vol. 11. – P. e03029-23.

215. Osawa R. Cytomegalovirus infection in critically ill patients: a systematic review / R. Osawa, N. Singh // *Crit Care*. – 2009. – Vol. 13(3). – P. R68.
216. Pathogenic mechanisms of post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection (PASC) / Z. A. Sherif, C.R. Gomez, T.J. Connors [et al.] // *Elife*. – 2023. – Vol. 12. – P. e86002. – DOI 10.7554/eLife.86002.
217. Patient outcomes after hospitalisation with COVID-19 and implications for follow-up: results from a prospective UK cohort / D.T. Arnold, F.W. Hamilton, A. Milne [et al.] // *Thorax*. – 2021. – Vol. 76 (4). – P. 399-401. – DOI 10.1136/thoraxjnl-2020-216086.
218. Peptides: Prospects for Use in the Treatment of COVID-19 / V. Khavinson, N. Linkova, A. Dyatlova [et al.] // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25. – P. 4389. – DOI 10.3390/molecules25194389.
219. Persistence of neutrophil extracellular traps and anticardiolipin auto-antibodies in post-acute phase COVID-19 patients / E. Pisareva, S. Badiou, L. Mihalovičová [et al.] // *J Med Virol*. – 2023. – Vol. 95 (1). – P. e28209. – DOI 10.1002/jmv.28209.
220. Persistent capillary rarefaction in long COVID syndrome / I. Osiaevi, A. Schulze, G. Evers [et al.] // *Angiogenesis*. – 2023. – Vol. 26 (1). – P. 53-61. – DOI 10.1007/s10456-022-09850-9.
221. Persistent circulating severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 spike is associated with post-acute coronavirus disease 2019 sequelae / Z. Swank, Y. Senussi, Z. Manickas-Hill [et al.] // *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. – 2023. – Vol. 76 (3). – P. e487-e490. – DOI 10.1093/cid/ciac722.
222. Persistent complement dysregulation with signs of thromboinflammation in active Long Covid / C. Cervia-Hasler, S.C. Brüningk, T. Hoch [et al.] // *Science*. – 2024. – Vol. 383 (6680). – P. eadg7942. – DOI 10.1126/science.adg7942.

223. Persistent fatigue following SARS-CoV-2 infection is common and independent of severity of initial infection / L. Townsend, A. H. Dyer, K. Jones [et al.] // PLoS. – 2020. – Vol. 15. – P. e0240784. – URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240784>.
224. Persistent poor health post-COVID-19 is not associated with respiratory complications or initial disease severity / L. Townsend, J. Dowds, K. O'Brien [et al.] // Annals of the American Thoracic Society. – 2021. – Vol. 18 (6). – P. 997-1003. – DOI 10.1513/AnnalsATS.202009-1175OC.
225. Persistent serum protein signatures define an inflammatory subcategory of long COVID / A. Talla, S.V. Vasaikar, G.L. Szeto [et al.] // Nat Commun. – 2023. – Vol. 14 (1). – P. 3417. – DOI 10.1038/s41467-023-38682-4.
226. Pestka S. K.C. Interferons, Interferon-like Cytokines, and their Receptors / S. K.C. Pestka, M.R. Walter // Immunol Rev. – 2004. – Vol. 202. – P. 8–32. – DOI 10.1111/j.0105-2896.2004.00204.x.
227. Platelet activation and platelet-monocyte aggregate formation trigger tissue factor expression in patients with severe COVID-19 / E.D. Hottz, I.G. Azevedo-Quintanilha, L. Palhinha [et al.] // Blood. – 2020. – Vol. 136 (11). – P. 1330-1341. – DOI 10.1182/blood.2020007252.
228. Platelet and Vascular Biomarkers Associate With Thrombosis and Death in Coronavirus Disease / T.J. Barrett, A.H. Lee, Y. Xia [et al.] // Circ Res. – 2020. – Vol. 127 (7). – P. 945-947. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.120.317803.
229. Positive detection of SARS-CoV-2 combined HSV1 and HHV6B virus nucleic acid in tear and conjunctival secretions of a non-conjunctivitis COVID-19 patient with obstruction of common lacrimal duct / Y. Hu, T. Chen, M. Liu [et al.] // Acta Ophthalmol. – 2020. – Vol. 98 (8). – P. 859-863.
230. Positive Epstein–Barr virus detection in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients / T. Chen, J. Song, H. Liu [et al.] // Sci Rep. – 2021. – Vol. 11(1). – P. 10902.



231. Post-acute COVID-19 syndrome / A. Nalbandian, K. Sehgal, A. Gupta [et al.] // Nature medicine. – 2021. – Vol. 27 (4). – P. 601-615. – DOI 10.1038/s41591-021-01283-z.
232. Post-acute COVID-19 syndrome negatively impacts health and wellbeing despite less severe acute infection / L. Tabacof, J. Tosto-Mancuso, J. Wood [et al.] // medRxiv. – 2020. – Vol. 101(1). – P. 48-52. – DOI 10.1101/2020.11.04.20226126.
233. Postacute COVID-19: An overview and approach to classification / E. M. Amenta, A. Spallone, M. C. Rodriguez-Barradas [et al.] // Open Forum Infectious Diseases. – 2020. – Vol. 7. – P. ofaa509. – DOI 10.1093/ofid/ofaa509. 1.
234. Post-COVID syndrome prevalence: a systematic review and meta-analysis / R. Sk Abd Razak, A. Ismail, A.F. Abdul Aziz [et al.] // BMC Public Health. – 2024. – Vol. 24(1). – P. 1785. – DOI 10.1186/s12889-024-19264-5.
235. Post-COVID-19 syndrome, low-grade inflammation and inflammatory markers: a cross-sectional study / M. Maamar, A. Artime, E. Pariente [et al.] // Curr Med Res Opin. – 2022. – Vol. 38 (6). – P. 901-909. – DOI 10.1080/03007995.2022.2042991.
236. Post-discharge persistent symptoms and health-related quality of life after hospitalization for COVID-19 / E. Garrigues, P. Janvier, Y. Kherabi [et al.] // J Infect. – 2020. – Vol. 81 (6). – P. e4-e6. – DOI 10.1016/j.jinf.2020.08.029.
237. Post-exertional malaise among people with long COVID compared to myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome (ME/CFS) / S.D. Vernon, M. Hartle, K. Sullivan [et al.] // Work. – 2023. – Vol. 74 (4). – P. 1179-1186. – DOI 10.3233/WOR-220581.
238. Potential of large «first generation» human to-human transmission of 2019-nCoV / X. Li, J. Zai, X. Wang, Y. Li // J Med Virol. – 2020. – Vol. 92 (4). – P. 448-454. – DOI 10.1002/jmv.25693.
239. Pre-existing Autoantibodies Neutralizing High Concentrations of Type I Interferons in Almost 10% of COVID-19 Patients Admitted to Intensive Care in

- Barcelona / X. Solanich, R. Rigo-Bonnin, V.D. Gumucio [et al.] // J Clin Immunol. – 2021. – Vol. 41 (8). – P. 1733-1744. – DOI 10.1007/s10875-021-01136-x.
240. Preliminary evidence of mitochondrial dysfunction associated with post-infective fatigue after acute infection with Epstein Barr virus / S. D. Vernon, T. Whistler, B. Cameron [et al.] // BMC Infect Dis. – 2006. – Vol. 6. – P. 1-7.
241. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis / J. Yang, Y. Zheng, X. Gou [et al.] // International journal of infectious diseases. – 2020. – Vol. 94. – P. 91–95. – DOI 10.1016/j.ijid.2020.03.017.19.
242. Prevalence of EBV, HHV6, HCMV, HAdV, SARS-CoV-2, and Autoantibodies to Type I Interferon in Sputum from Myalgic Encephalomyelitis Chronic Fatigue Syndrome Patients / U. Hannestad, A. Allard, K. Nilsson, A. Rosén // Viruses. – 2025. – Vol. 17 (3). – P. 422. – DOI 10.3390/v17030422.
243. Prevalence of post-acute COVID-19 syndrome symptoms at different follow-up periods: a systematic review and meta-analysis / M.S. Alkodaymi, O.A. Omrani, N.A. Fawzy [et al.] // Clin Microbiol Infect. – 2022. – Vol. 28 (5). – P. 657-666. – DOI 10.1016/j.cmi.2022.01.014.
244. Prevalence of symptoms, comorbidities, fibrin amyloid microclots and platelet pathology in individuals with Long COVID/post-acute sequelae of COVID-19 (PASC) / E. Pretorius, C. Venter, G. J. Laubscher [et al.] // Cardiovasc. Diabetol. – 2022. – Vol. 21 (1). – P. 148. – DOI 10.1186/s12933-022-01579-5.
245. Proal A. D. Long COVID or post-acute sequelae of COVID-19 (PASC): an overview of biological factors that may contribute to persistent symptoms / A. D. Proal, M. B. VanElzakker // Front. Microbiol. – 2021. – Vol. 12. – P. 698169.
246. Proal A. Myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome in the era of the human microbiome: Persistent pathogens drive chronic symptoms by interfering

- with host metabolism, gene expression, and immunity / A. Proal, T. Marshall // *Front. Pediatr.* – 2018. – Vol. 6. – P. 373. – DOI 10.3389/fped.2018.00373.
247. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples / Y. Wu, C. Guo, L. Tang [et al.] // *Lancet Gastroenterol Hepatol.* – 2020. – Vol. 5 (5). – P. 434-435. – DOI 10.1016/S2468-1253(20)30083-2.
248. Proposed integrative model for post-COVID symptoms / C. Fernández-de-Las-Peñas, L. L. Florencio, V. Gómez-Mayordomo [et al.] // *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews.* – 2021. – Vol. 15(4). – P. 102159.
249. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19 / M. Ackermann, S.E. Verleden, M. Kuehnel [et al.] // *N Engl J Med.* – 2020. – Vol. 383 (2). – P. 120-128. – DOI 10.1056/NEJMoa2015432.
250. Ray A. Cytokines and their Role in Health and Disease: A Brief Overview / A. Ray, S. G. K. Gulati, N. R. J. Joshi // *MOJ Immunol.* – 2016. – Vol. 4. – P. 00121. – DOI 10.15406/moji.2016.04.00121.
251. Reactivation of EBV and CMV in severe COVID-19-epiphenomena or trigger of hyperinflammation in need of treatment? A large case series of critically ill patients / J. H. Naendrup, J. Garcia Borrega, D. A. Eichenauer [et al.] // *J Intensive Care Med.* – 2021. – Vol. 18. – P. 08850666211053990.
252. Residual SARS-CoV-2 viral antigens detected in GI and hepatic tissues from five recovered patients with COVID-19 / C.C.L. Cheung, D. Goh, X. Lim [et al.] // *Gut.* – 2022. – Vol. 71 (1). – P. 226-229. – DOI 10.1136/gutjnl-2021-324280.
253. Richardson-May J. Reactivation of herpes simplex keratitis following vaccination for COVID-19 / J. Richardson-May, A. Rothwell, M. Rashid // *BMJ Case Rep.* – 2021. – Vol. 14 (9). – P. e245792.
254. Risk of autoimmune diseases in patients with COVID-19: A retrospective cohort study / R. Chang, T. Yen-Ting Chen, S.I. Wang [et al.] // *EClinicalMedicine.* – 2023. – Vol. 56. – P. 101783. – DOI 10.1016/j.eclinm.2022.101783.

255. Risk of long COVID associated with delta versus omicron variants of SARS-CoV-2 / M. Antonelli, J. C. Pujol, T. D. Spector [et al.] // *The Lancet*. – 2022. – Vol. 399 (10343). – P. 2263-2264.
256. Risks of cutaneous immune-related adverse events in long COVID: Multinational cohort studies in South Korea, Japan, and the UK / H. Kim, S. Kyung, J. Park [et al.] // *J Med Virol*. – 2024. – Vol. 96 (6). – P. e29740. – DOI 10.1002/jmv.29740.
257. RNA Regulatory Mechanisms That Control Antiviral Innate Immunity / N.S. Gokhale, J.R. Smith, R.D. Van Gelder, R. Savan // *Immunol Rev*. – 2021. – Vol. 304. – P. 77–96. – DOI 10.1111/imr.13019.
258. Roe K. A viral infection explanation for Kawasaki disease in general and for COVID-19 virus-related Kawasaki disease symptoms / K. Roe // *Inflammopharmacology*. – 2020. – Vol. 28 (5). – P. 1219-1222. – DOI 10.1007/s10787-020-00739-x.
259. SARS-CoV-2 and mitochondrial health: implications of lifestyle and ageing / A. V. W. Nunn, G. W. Guy, W. Brysch [et al.] // *Immun Ageing*. – 2020. – Vol. 17 (1). – P. 1-21.
260. SARS-CoV-2 infection induces sustained humoral immune responses in convalescent patients following symptomatic COVID-19 / J. Wu, B. Liang, C. Chen [et al.] // *Nature Communications*. – 2021. – Vol. 12. – P. 1813. – DOI 10.1038/s41467-021-22034-1.
261. SARS-CoV-2 infects human neural progenitor cells and brain organoids / B.Z. Zhang, H. Chu, S. Han [et al.] // *Cell Res*. – 2020. – Vol. 30 (10). – P. 928-931. – DOI 10.1038/s41422-020-0390-x.
262. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes / S. Riesebosch, H.J.H. Kuijpers, et D. Schi-P. [et al.] // *Science*. – 2020. – Vol. 369 (6499). – P. 50-54. – DOI 10.1126/science.abc1669.

263. SARS-CoV-2 respiratory co-infections: incidence of viral and bacterial co-pathogens / V. Singh, P. Upadhyay, J. Reddy, J. Granger // International journal of infectious diseases. – 2021. – Vol. 105. – P. 617-620.
264. SARS-CoV-2-Specific Immune Response and the Pathogenesis of COVID-19 / E. Gusev, A. Sarapultsev, L. Solomatina, V. Chereshevnev // Int J Mol Sci. – 2022. – Vol. 23 (3). – P. 1716. – DOI 10.3390/ijms23031716.
265. Schönrich G. Neutrophil Extracellular Traps Go Viral / G. Schönrich, M.J. Raftery // Frontiers in immunology. – 2016. – Vol. 7. – P. 366. – DOI 10.3389/fimmu.2016.00366.
266. Schulman S. Anticoagulant treatment of COVID-19 as early as possible-sulodexide and perspectives / S. Schulman, J. Harenberg // Thromb. Haemost. – 2021. – Vol. 121, No. 7. – P. 849–853. – DOI 10.1055/a-1477-3569.
267. Self-Reported Long COVID in the General Population: Sociodemographic and Health Correlates in a Cross-National Sample / T. Bonsaksen, J. Leung, D. Price [et al.] // Life. – 2022. – Vol. 12 (6). – P. 901. – DOI 10.3390/life12060901.
268. Semen impairment and occurrence of SARS-CoV-2 virus in semen after recovery from COVID-19 / M. Gacci, M. Coppi, E. Baldi [et al.] // Hum Reprod. – 2021. – Vol. 36 (6). – P. 1520-1529. – DOI 10.1093/humrep/deab026.
269. Seroconversion stages COVID19 into distinct pathophysiological states / M.D. Galbraith, K.T. Kinning, K.D. Sullivan [et al.] // Elife. – 2021. – Vol. 10. – P. e65508. – DOI 10.7554/eLife.65508.
270. Sex and Previous Comorbidities as Risk Factors Not Associated with SARS-CoV-2 Infection for Long COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis / K.I. Notarte, M.H.S. de Oliveira, P.J. Peligro [et al.] // J Clin Med. – 2022. – Vol. 11 (24). – P. 7314. – DOI 10.3390/jcm11247314.
271. Sex-Related Differences in Long-COVID-19 Syndrome / Pelà G., Goldoni M., Solinas E. [et al.] // J Womens Health (Larchmt). – 2022. – Vol. 31 (5). – P. 620-630. – DOI 10.1089/jwh.2021.0411.

272. Shanshal M. COVID-19 and herpes simplex virus infection: a cross-sectional study / M. Shanshal, H. S. Ahmed // *Cureus*. – 2021. – Vol. 13(9). – P. e18022.
273. Sharma C. High risk of autoimmune diseases after COVID-19 / C. Sharma, J. Bayry // *Nat Rev Rheumatol*. – 2023. – Vol. 19 (7). – P. 399-400. – DOI 10.1038/s41584-023-00964-y.
274. Siddiqui S. Recent Chronology of COVID-19 Pandemic / S. Siddiqui, H.W.S. Alhamdi, H.A. Alghamdi // *Front. Public Health*. – 2022. – Vol. 10. – P. 778037. – DOI 10.3389/fpubh.2022.778037.
275. Single dose escalation studies with inhaled POL6014, a potent novel selective reversible inhibitor of human neutrophil elastase, in healthy volunteers and subjects with cystic fibrosis / P. Barth, P. Bruijnzeel, A. Wach [et al.] // *J. Cyst. Fibros*. – 2020. – Vol. 19, No. 2. – P. 299–304. – DOI 10.1016/j.jcf.2019.08.020.
276. Six-month Follow-up Chest CT Findings after Severe COVID-19 Pneumonia / X. Han, Y. Fan, O. Alwalid [et al.] // *Radiology*. – 2021. – Vol. 299 (1). – P. E177-E186. – DOI 10.1148/radiol.2021203153.
277. Soriano J. B. On the new post COVID-19 condition / J. B. Soriano, J. Ancochea // *Arch Bronconeumol*. – 2021. – Vol. 57 (12). – P. 735-736. – DOI 10.1016/j.arbr.2021.10.011.
278. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein / A. C. Walls, Y. J. Park, M. A. Tortorici [et al.] // *Cell*. – 2020. – Vol. 181. – P. 281–292.e6. – DOI 10.1016/j.cell.2020.02.058.
279. Sumantri S. Immunological dysfunction and mast cell activation syndrome in long COVID / S. Sumantri, I. Rengganis // *Asia Pacific Allergy*. – 2023. – Vol. 13 (1). P 50-53. – DOI 10.5415/apallergy.0000000000000022.
280. Tanne J.H. Covid-19: Even mild infections can cause long term heart problems, large study finds / J. H. Tanne // *BMJ*. – 2022. – Vol. 376. – P. o378. – DOI 10.1136/bmj.o378.

281. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps / B.J. Barnes, J.M. Adrover, A. Baxter-Stoltzfus [et al.] // *J Exp Med.* – 2020. – Vol. 217 (6). – P. e20200652. – DOI 10.1084/jem.20200652.
282. The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system / F. Coperchini, L. Chiovato, L. Croce [et al.] // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2020. – Vol. 53. – P. 25-32. – DOI 10.1016/j.cytogfr.2020.05.003.
283. The Impact of COVID-19 on Female Sexual Health / A. Fuchs, A. Matonóg, J. Pilarska [et al.] // *Int J Environ Res Public Health.* – 2020. – Vol. 17 (19). – P. 7152. – DOI 10.3390/ijerph17197152.
284. The prevalence and long-term health effects of Long Covid among hospitalised and non-hospitalised populations: A systematic review and meta-analysis / L.L. O'Mahoney, A. Routen, C. Gillies [et al.] // *Erratum in: EClinicalMedicine.* – 2023. – Vol. 59. – P. 101959. – DOI 10.1016/j.eclinm.2023.101959.
285. The risk of COVID-19 death is much greater and age dependent with type I IFN autoantibodies / J. Manry, P. Bastard, A. Gervais [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2022. – Vol. 119 (21). – P. e2200413119. – DOI 10.1073/pnas.2200413119.
286. The spectrum of COVID-19-associated dermatologic manifestations: An international registry of 716 patients from 31 countries / E.E. Freeman, D.E. McMahon, J.B. Lipoff [et al.] // *J Am Acad Dermatol.* – 2020. – Vol. 83 (4). – P. 1118-1129. – DOI 10.1016/j.jaad.2020.06.1016.
287. Time of onset and duration of post-COVID-19 acute telogen effluvium / T.F. Abrantes, K.A. Artounian, R. Falsey [et al.] // *J Am Acad Dermatol.* – 2021. – Vol. 85 (4). – P. 975-976. – DOI 10.1016/j.jaad.2021.07.021.
288. TMPRSS2 and TMPRSS4 promote SARS-CoV-2 infection of human small intestinal enterocytes / R. Zang, M.F. Gomez Castro, B.T. McCune [et al.] // *Sci*

- Immunol. – 2020. – Vol. 5 (47). – P. eabc3582. – DOI 10.1126/sciimmunol.abc3582.
289. Tocilizumab in patients with severe COVID-19: a retrospective cohort study / G. Guaraldi, M. Meschiari, A. Cozzi-Lepri [et al.] // *Lancet Rheumatol.* – 2020. – Vol. 2 (8). – P. e474-e484.
  290. Treatment for COVID-19: An overview / C. Stasi, S. Fallani, F. Voller, C. Silvestri // *Eur J Pharmacol.* – 2020. – Vol. 889. – P. 173644. – DOI 10.1016/j.ejphar.2020.173644.
  291. Type I interferon autoantibodies are associated with systemic immune alterations in patients with COVID-19 / M.G.P. Van der Wijst, S.E. Vazquez, G.C. Hartoularos [et al.] // *Sci Transl Med.* – 2021. – Vol. 13 (612). – P. eabh2624. – DOI 10.1126/scitranslmed.abh2624.
  292. Type I Interferon Autoantibodies Correlate With Cellular Immune Alterations in Severe COVID-19 / B. Strunz, C. Maucourant, A. Mehta [et al.] // *J Infect Dis.* – 2024. – Vol. 230 (2). – P. e318-e326. – DOI 10.1093/infdis/jiae036.
  293. Unraveling the mystery surrounding post-acute sequelae of COVID-19 / R. K. Ramakrishnan, T. Kashour, Q. Hamid [et al.] // *Frontiers in Immunology.* – 2021. – Vol. 12. – P. 686029. – DOI 10.3389/fimmu. – 2021.686029.
  294. Untuned antiviral immunity in COVID-19 revealed by temporal type I/III interferon patterns and flu comparison / I.E. Galani, N. Rovina, V. Lampropoulou [et al.] // *Nat Immunol.* – 2021. – Vol. 22 (1). – P. 32-40. – DOI 10.1038/s41590-020-00840-x.
  295. Urban C.F. Neutrophil extracellular traps in fungal infection. In *Seminars in cell & developmental biology* / C. F. Urban, J. E. Nett // Academic Press. – 2019. – Vol. 89. – P. 47-57.
  296. Veraldi S. Pityriasis rosea-like eruption revealing COVID-19 / S. Veraldi, M. Romagnuolo, V. Benzecry // *Australas J Dermatol.* – 2021. – Vol. 62 (2). – P. E333-E334.



297. Verma D. Epstein–Barr virus lytic replication induces ACE2 expression and enhances SARS-CoV-2 pseudotyped virus entry in epithelial cells / D Verma., T. M. Church, S. Swaminathan // J Virol. – 2021. – Vol. 95 (13). – P. e0019221.
298. Vink M. Could cognitive behavioural therapy be an effective treatment for long COVID and post COVID-19 fatigue syndrome? Lessons from the Qure study for Q-fever fatigue syndrome / M. Vink, A. Vink-Niese // Healthcare (Basel). – 2020. – Vol. 8 (4). – P. 552. – DOI 10.3390/healthcare8040552.
299. Viral and host factors related to the clinical outcome of COVID-19 / X. Zhang, Y. Tan, Y. Ling [ et al.] // Nature. – 2020. – Vol. 583 (7816). – P. 437-440. – DOI 10.1038/s41586-020-2355-0.
300. Vishvkarma R. Could SARS-CoV-2 affect male fertility? / R. Vishvkarma, S. Rajender // Andrologia. – 2020. – Vol. 52 (9). – P. e13712. – DOI 10.1111/and.13712.
301. Voto C. Overview of the Pathogenesis and Treatment of SARS-CoV-2 for Clinicians: A Comprehensive Literature Review / C. Voto, P. Berkner, C. Brenner // Cureus. – 2020. – Vol. 12 (9). – P. e10357. – DOI 10.7759/cureus.10357.
302. Wang Z. Glycosylated hemoglobin is associated with systemic inflammation, hypercoagulability, and prognosis of COVID-19 patients / Z. Wang, Z. Du, F. Zhu // Diabetes Res Clin Pract. – 2020. – Vol. 164. – P. 108214. – DOI 10.1016/j.diabres.2020.108214.
303. What is the quality of life in patients with long COVID compared to a healthy control group? / D. Líška, E. Liptaková, A. Babičová [et al.] // Front. Public Health. – 2022. – Vol. 10. – P. 975992. – DOI 10.3389/fpubh.2022.975992.
304. Whiteside T. L. Procoagulant activity of extracellular vesicles in plasma of patients with SARS-CoV-2 infection / T. L. Whiteside // eBioMedicine. – 2021. – Vol. 68. – P. 103411. – DOI 10.1016/j.ebiom.2021.103411.

305. WHO Clinical Case Definition Working Group on Post-COVID-19 Condition. A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a Delphi consensus / J.B. Soriano, S. Murthy, J.C. Marshall [et al.] // *Lancet Infect Dis.* – 2022. – Vol. 22 (4). – P. e102-e107. – DOI 10.1016/S1473-3099(21)00703-9.
306. Wong T.L. Long COVID and Myalgic Encephalomyelitis Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS)-A Systemic Review and Comparison of Clinical Presentation and Symptomatology / T.L. Wong, D.J. Weitzer // *Medicina (Kaunas).* – 2021. – Vol. 57 (5). – P. 418. – DOI 10.3390/medicina57050418.
307. World Health Organization. A clinical case definition of post COVID-19 condition by a Delphi consensus. – 2021. [https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Post\\_COVID\\_19\\_condition-Clinical\\_case\\_definition-2021.1](https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Post_COVID_19_condition-Clinical_case_definition-2021.1) (accessed 18.04.2023).
308. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19): post COVID-19 condition. Questions and answers (Online). – Geneva, 2023. – 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) (Accessed 14.04.2023).
309. World Health Organization. Statement on the second meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV), 2020. – URL: [https://www.who.int/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov)) (accessed 20.04.2024).
310. World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard, 2024. – URL: <https://covid19.who.int/> (accessed 18.08.2024).
311. World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19, 2020. – URL: <https://www.who.int/news-room/speeches/item/who-director-general-s-opening->

- remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020 (accessed 20.04.2024).
312. Wostyn P. COVID-19 and chronic fatigue syndrome: Is the worst yet to come? / P. Wostyn // Medical hypotheses. – 2021. – Vol. 146. – P. 110469. – DOI 10.1016/j.mehy.2020.110469.
  313. Yong S. J. Long COVID or post-COVID-19 syndrome: putative pathophysiology, risk factors, and treatments / S. J. Yong // Infectious Diseases. – 2021. – Vol. 53(10). – P. 737–754.
  314. Yong S. J. Persistent Brainstem Dysfunction in Long-COVID: A Hypothesis / S.J. Yong // ACS Chem Neurosci. – 2021. – Vol. 12 (4). – P. 573-580. – DOI 10.1021/acscchemneuro.0c00793.
  315. Yong S. J. Proposed subtypes of post-COVID-19 syndrome (or long-COVID) and their respective potential therapies / S. J. Yong, S. Liu // Reviews in medical virology. – 2022. – Vol. 32 (4). – P. e2315.
  316. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study / C. Huang, L. Huang, Y. Wang [et al.] // Lancet. – 2023. – Vol. 401 (10393). – P. e21-e33. – DOI 10.1016/S0140-6736(23)00810-3.