


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ВАКЦИН И СЫВОРОТОК ИМ. И.И. МЕЧНИКОВА»

*На правах рукописи*



Осипцов Валерий Николаевич

**Мукозальный иммунитет и его коррекция у пациентов с COVID-  
ассоциированным поражением легких**

3.1.29. Пульмонология

3.2.7. Иммунология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, доцент

Гайнитдинова Вилия Вилевна

доктор медицинских наук, профессор,

член-корреспондент РАН

Костинов Михаил Петрович

Москва – 2025

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1 Клинические проявления новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2.....	14
1.2 Особенности системного и мукозального иммунного ответа при SARS-CoV-2.....	16
1.3 Особенности фагоцитоза у пациентов с COVID-19 .....	23
1.4 Место иммуномодуляторов в комплексном лечении COVID-19 .....	30
1.5 Состояние врожденного и адаптивного иммунитета после перенесенного COVID-19 и роль иммунокоррекции .....	43
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	49
2.1 Материалы исследования.....	49
2.2 Пациенты .....	49
2.3 Методы исследования .....	51
2.4 Схемы лечения.....	53
2.5 Статистический анализ .....	54
2.6 Дизайн исследования .....	56
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	57
3.1 Особенности клинического течения COVID-19 у госпитализированных пациентов.....	57
3.2 Исследование уровня sIgA у госпитализированных пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких .....	61
3.3 Исследование фагоцитарной активности лейкоцитов у исследуемых пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких.....	67
3.4 Эффективность включения Иммуновак-ВП-4 в комплексное лечение пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких средней степени тяжести .....	71
3.5 Отдаленное влияние Иммуновак-ПВ-4 на частоту новых случаев ОРВИ и пневмонии после перенесенного COVID-19 .....	78

3.5.1 Анализ частоты развития новых эпизодов ОРВИ и внебольничной пневмонии в течение 2-4 месяцев после COVID-19 .....	78
3.5.2 Анализ частоты развития ОРВИ и пневмонии в течение 2-4 месяцев после COVID-19 в зависимости от лечения и степени тяжести .....	80
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	84
4.1 Клинические проявления COVID-19 у госпитализированных пациентов .....	84
4.2 Содержание sIgA у пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких .....	86
4.3 Фагоцитарная активность лейкоцитов у исследуемых пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких .....	88
4.4 Иммуновак-ВП-4 в комплексном лечении пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких средней степени тяжести .....	90
4.5 Отдаленное влияние иммунокоррекции препаратом Иммуновак-ВП-4 у исследуемых пациентов в постковидный период .....	92
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	95
ВЫВОДЫ .....	100
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	102
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	106

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Глубокое понимание механизмов, с помощью которых активируется иммунный ответ при инфекции SARS-CoV-2, роли и вклада врожденного и адаптивного иммунного ответа в выздоровление или ухудшение течения заболевания, имеет решающее значение для разработки новых терапевтических протоколов или методов лечения COVID-19, которые потенциально могут обеспечить защиту и долгосрочную иммунную память [1, 3].

Инфекция SARS-CoV-2 может инициировать мощный иммунный ответ (врожденный и адаптивный), который включает активацию иммунной системы через Т-клетки-хелперы (Th) и цитотоксические Т-лимфоциты (CTLs), вызывая гибель инфицированных клеток [78]. Носовая полость служит главными входными воротами и местом начальной репликации SARS-CoV-2, а слизистая оболочка дыхательных путей является первой линией защиты от респираторных патогенов, включая SARS-CoV-2 [3].

Мукозальный иммунитет дыхательных путей играет ключевую роль в противодействии инфекции SARS-CoV-2, влияя как на профилактику заболевания, так и на его исходы [1]. Секретируемые антитела на слизистой оболочке дыхательных путей, особенно иммуноглобулины (Ig) класса А, играют центральную роль в нейтрализации SARS-CoV-2 [3, 12, 49]. Ключевой иммуноглобулин слизистого иммунитета – секреторный IgA (s IgA) – обладает более высокой аффинностью и выраженной нейтрализующей активностью, эффективно подавляя адгезию, колонизацию или инвазию патогенов на слизистых поверхностях, а также сохраняя целостность слизистого барьера [64, 65, 66]. Есть данные, что во время острого периода COVID-19 и ранней реконвалесценции у пациентов с более тяжелым течением снижены уровни sIgA в носовой полости и глотке [4]. Несмотря на то, что функция sIgA в иммунном ответе против SARS-CoV-

2 представляется исключительно важной, исследований, посвященных изучению данного вопроса недостаточно.

Известно, что фагоциты координируют воспалительную реакцию и играют ключевую роль в связи между врожденным и адаптивным иммунитетом [4]. Нарушение функции фагоцитов, первую очередь моноцитов, у пациентов с COVID-19 и поражением легких связано с повышенной восприимчивостью к вторичным инфекциям. Обнаружено, что у пациентов с COVID-19 могут развиваться вторичные бактериальные или грибковые инфекции [37]. Это подтолкнуло исследователей к применению иммуномодуляторов, способных усилить гуморальный, локальный иммунитет слизистых дыхательных путей и фагоцитарную активность. В связи с этим необходимы дальнейшие исследования по изучению особенностей фагоцитоза при COVID-19 в зависимости от тяжести его течения.

Согласно данным систематических обзоров и метаанализов, в остром и раннем постинфекционном периоде COVID-19 успешно использовались различные иммуномодулирующие препараты: бактериальные лизаты (БЛ), иммуноглобулины, интерфероны, азоксимера бромид, агонисты Toll-подобных рецепторов, мукозальные вакцины, а также про- и постбиотики. Отечественный БЛ «Иммуновак-ВП-4» (далее – Иммуновак-ВП-4) прошел испытания в России как адъювант к стандартной терапии у госпитализированных пациентов по поводу COVID-19. Результаты показали, что данный БЛ эффективно активизирует слизистый иммунитет в остром периоде COVID-19, ускоряя выздоровление. Иммуновак-ВП-4 официально зарегистрирован в России и до пандемии применялся для лечения хронических инфекций дыхательных путей, поэтому накопленный опыт позволил успешно применить его и при новой коронавирусной инфекции [4].

Таким образом, комплексный подход, направленный на восстановление и усиление локального иммунитета дыхательных путей, может быть перспективным направлением в лечении и профилактике COVID-19.

## **Степень разработанности темы исследования**

В текущей литературе не найдено убедительных данных об особенностях секреции IgA в различных биологических средах (носовой полости, глотке и слюне), фагоцитарной активности лейкоцитов и их динамики на фоне проводимой терапии у пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких. В связи с этим, понимание механизмов, с помощью которых активируется иммунный ответ при инфекции SARS-CoV-2, роли и вклада врожденного и местного адаптивного иммунного ответа в выздоровлении или ухудшении течения заболевания имеет решающее значение для разработки новых терапевтических протоколов или методов лечения COVID-19, которые потенциально могут обеспечить защиту и долгосрочную иммунную память.

## **Цель и задачи исследования**

Целью диссертационного исследования является изучение состояния мукозального иммунитета и показателей фагоцитоза у больных с COVID-ассоциированным поражением легких, разработка подходов к коррекции выявленных нарушений.

Задачи исследования:

1. Изучить клинические особенности, тяжесть COVID-ассоциированного поражения легких у госпитализированных пациентов.
2. Определить уровень, динамику секреторного IgA в слюне, фарингеальном и назальном соскобах и их взаимосвязи с тяжестью COVID-19 у исследуемых пациентов.
3. Оценить фагоцитарную активность лейкоцитов и динамику восстановления у пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких в зависимости от тяжести заболевания.

4. Исследовать влияние терапии бактериальным лизатом Иммуновак-ВП-4 на клинические проявления, динамику sIgA и показатели фагоцитоза у пациентов со средней степенью тяжести COVID-19.

5. Оценить отдаленное влияние Иммуновак-ПВ-4 на частоту новых случаев острых респираторных вирусных инфекций и пневмонии после перенесенного COVID-19.

### **Научная новизна**

В настоящей работе впервые показано, что кластерный анализ на основании комбинации функциональных ( $SpO_2$ ) и лабораторных (СРБ, АСТ) показателей позволил стратифицировать пациентов с COVID-19 по степени тяжести поражения легких.

Установлено, что уровень назального, фарингеального sIgA и sIgA в слюне снижается и имеет обратную взаимосвязь со степенью тяжести заболевания. Отмечена положительная динамика восстановления секреции фарингеального sIgA и sIgA в слюне через 30 дней от начала заболевания на фоне стандартного лечения.

Показана нормализация моноцитарного индекса к 30-му дню лечения у пациентов со среднетяжелой формой COVID-19, что свидетельствует о положительной динамике восстановления иммунологических показателей на фоне стандартной терапии.

Доказано, что интраназальное и пероральное введение Иммуновак-ВП-4 не сопровождалось развитием местных реакций и системных нежелательных явлений; характеризовалось статистически значимым увеличением уровня фарингеального sIgA через 14 и 30 дней; более интенсивным улучшением моноцитарного индекса в крови через 30 дней; снижением продолжительности лихорадки и госпитализации.

Выявлено, что через 2–4 месяца после выписки из стационара риск развития острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) независимо от тяжести COVID-19 был статистически значимо ниже на фоне лечения Иммуновак-ВП-4;

риск развития пневмонии не зависел от проведенного лечения и был выше у пациентов со среднетяжелым течением COVID-19.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные данные о содержании и динамике уровня sIgA в различных биологических средах, корреляционных взаимосвязях уровня sIgA с клиническими проявлениями и тяжестью COVID-19 позволяют предположить возможные осложнения течения заболевания.

Выявление изменения функциональной активности лейкоцитов при среднетяжелом течении COVID-19 позволяет выявить группу риска развития бактериальных осложнений в течение 1 месяца от начала заболевания.

Полученные данные об эффективности и безопасности применения интраназальной и пероральной форм Иммуовак-ВП-4 в острый период COVID-19 позволяют улучшить состояние мукозального иммунитета, усилить фагоцитарную активность лейкоцитов, снизить продолжительность лихорадки и госпитализации.

Определение отдаленных результатов применения интраназальной и пероральной форм Иммуовак-ВП-4 в острый период COVID-19 позволяют снизить риск развития ОРВИ после COVID-19 в течение 2–4 месяцев после выписки из стационара.

### **Методология и методы исследования**

Представленная на защиту научно-исследовательская работа выполнена с соблюдением этических норм и принципов доказательной медицины. Автором данной диссертации у 105 госпитализированных по поводу COVID-19 пациентов изучено состояние мукозального иммунитета, фагоцитарной активности лейкоцитов и пути коррекции выявленных нарушений.

Методология диссертационной работы предусматривала создание дизайна исследования, определение объема выборки для обеспечения ее

репрезентативности, выбор статистических программ для обработки полученных данных. Для выполнения научной работы применялись различные современные диагностические и инструментальные методы обследования пациентов

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

1. Алгоритм кластерного анализа на основе интегральной оценки уровня SpO<sub>2</sub>, концентрации СРБ и АСТ позволяет провести достоверную стратификацию госпитализированных пациентов с COVID-19 в соответствии с тяжестью поражения легких.

2. COVID-ассоциированное поражение легких сопровождается снижением исходного уровня фарингеального, назального sIgA, sIgA в слюне и фагоцитарной активности лейкоцитов.

3. Применение интраназальной и пероральной форм Иммуновак-ВП-4 в острый период COVID-19 в качестве дополнительной терапии позволяет улучшить состояние мукозального иммунитета, усилить фагоцитарную активность лейкоцитов, снизить продолжительность лихорадки и госпитализации.

4. Перенесенный COVID-19 в течение 2–4 месяцев может сопровождаться повышенным риском развития новых эпизодов ОРВИ и пневмонии в зависимости от тяжести заболевания и проведенного лечения.

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

Содержание настоящей диссертационной работы соответствует паспорту научной специальности 3.1.29. Пульмонология: 1. Изучение органов дыхания, газообменной и нереспираторной функции легких в эксперименте и у человека (в эмбрио- и филогенезе, в возрастном аспекте, как в норме, так и при различных патологических состояниях) с использованием морфологических, гистохимических, молекулярно-биологических, инструментальных, культуральных, микробиологических и других методов исследований. 2.

Клинические, биохимические, биофизические, иммунологические исследования системы защиты органов дыхания в норме и при различных патологических состояниях. 4. Диагностика и клиника наследственных и приобретенных болезней респираторной системы, а также патологических состояний, возникающих в экстремальных условиях, с привлечением широкого спектра лабораторных, клинических и инструментальных исследований, с использованием методов статистического анализа и обобщения клинических данных. 7. Статистическое наблюдение и эпидемиология болезней органов дыхания.

Соответствует паспорту научной специальности 3.2.7. Иммунология: 2. Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии. 4. Исследование роли иммунных механизмов в различных физиологических процессах (регенерации, репродукции, старении, нейроэндокринных взаимодействиях, взаимодействии с микробиомом и др.). 5. Изучение патогенеза иммуноопосредованных (аллергии, первичные и вторичные иммунодефициты, аутоиммунные болезни) и других заболеваний. 6. Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов. 7. Разработка способов воздействия на иммунную систему с помощью фармакологических препаратов и методов иммунобиотерапии. Исследование эффективности и безопасности этих воздействий. 9. Разработка и усовершенствование методов оценки качества постинфекционного и поствакцинального иммунитета, эффективности и безопасности новых вакцинных препаратов.

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

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным количеством наблюдений, современными методами исследования, которые соответствуют цели работы и поставленным задачам. Сформулированные в тексте диссертации научные положения, выводы и практические рекомендации

основаны на фактических данных, продемонстрированных в приведенных таблицах и рисунках. Статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Основные положения работы доложены и обсуждены на: XXXI Национальном Конгрессе по болезням органов дыхания (Москва, 2021), VIII Конгрессе Евро – Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, 2022), XXXII Национальном Конгрессе по болезням органов дыхания (Москва, 2022), IX Всероссийской междисциплинарной научно – практической конференции (Сочи, 2022), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медицинская весна - 2022» (Москва, 2022), III Международной научно – практической конференции по вопросам противодействия новой коронавирусной инфекции и другим инфекционным заболеваниям (Санкт-Петербург, 2022), IX Межведомственной научно – практической конференции «Инфекционные болезни – актуальные проблемы, лечение и профилактика (Москва, 2023), X Юбилейной межведомственной научно – практической конференции «Инфекционные болезни – актуальные проблемы, лечение и профилактика (Москва, 2024).

Апробация диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук проведена на совместном заседании Отдела иммунологии и аллергологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт сывороток и вакцин имени И.И. Мечникова» и кафедры пульмонологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им.И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) (протокол №1 от 14.10.2025 г).

Исследование выполнено в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБНУ «Научно-исследовательский институт сывороток и вакцин имени И.И. Мечникова».

## **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты, полученные в ходе работы над диссертацией, внедрены в клиническую работу пульмонологического отделения ФГКУЗ «Главный военный клинический госпиталь войск национальной гвардии Российской Федерации», в практику научной и учебной деятельности ФГБНУ «Научно-исследовательский институт сывороток и вакцин имени И.И. Мечникова».

## **Личный вклад автора**

Автором выполнен основной объем исследований, проведены научное обоснование, разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, представленных карт, результатов обследования, компьютерной базы клинических, функциональных, лабораторных данных и результатов инструментального обследования. Автором лично сформулированы основные положения диссертации, составляющие её новизну и практическую значимость. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии в проведении всех этапов исследования: от постановки и клинической реализации задач до статистической обработки полученных данных, их анализа, формулировки выводов, публикации результатов в научных изданиях и в виде докладов, а также внедрении полученных результатов в клиническую практику.

## **Публикации по теме диссертации**

По результатам исследования автором опубликовано 10 работ, в том числе 7 статей в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer), 3 иные публикации в международных и всероссийских журналах.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов и практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, приложения. Иллюстрирована 19 рисунками и 10 таблицами. Список литературы содержит 191 источников, в том числе 14 русскоязычных и 177 зарубежных.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Клинические проявления новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2

В декабре 2019 года в Центральном Китае впервые была зарегистрирована серия случаев острого респираторного заболевания. В ходе расследования был выявлен новый коронавирус (2019-nCoV), впоследствии названный коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома-2 (SARS-CoV-2), который является возбудителем так называемой коронавирусной болезни 2019 года (COVID-19). С момента своего появления SARS-CoV-2 быстро распространился по всему миру, что привело к продолжающейся по сей день пандемии COVID-19, унесшей жизни миллионов людей по всему миру и продолжающей уносить их [73].

Передача SARS-CoV-2 в основном происходит напрямую от человека к человеку воздушно-капельным путем и через слюну. Передача воздушно-капельным путем происходит только при наличии аэрозоля. Инкубационный период обычно составляет менее 1 недели (около 5–6 дней), но может длиться и до 2 недель. Первые симптомы неспецифичны и схожи с симптомами других вирусных заболеваний, таких как грипп: усталость, миалгия, сухой кашель и субфебрильная температура. В большинстве случаев симптомы ослабевают, а в меньшем количестве случаев развивается одышка [31]. Chen и коллеги проанализировали симптоматику COVID-19: наиболее распространенными признаками/симптомами были лихорадка (90%) и кашель (68%), за которыми следовали одышка (22%), головная боль (12%) и боль в горле (14%). Диарея наблюдалась лишь у 4% пациентов. Средняя продолжительность лихорадки у выздоровевших составляет около 12 дней, а средняя продолжительность кашля – немного больше (19 дней). Хотя лихорадка является очень распространенным симптомом, ее отсутствие не исключает диагноз [37].

Более длительная лихорадка пропорциональна тяжести заболевания (31 день у пациентов, поступивших в отделение интенсивной терапии, по сравнению с 9 днями у пациентов, госпитализированных в других условиях) [37].

Как упоминалось ранее, примерно у пятой части пациентов заболевание прогрессирует и приводит к одышке [133]. Может произойти быстрое прогрессирование дыхательной недостаточности, требующее неинвазивной и инвазивной вентиляции легких. Одной вирусной респираторной инфекции недостаточно, чтобы объяснить эти результаты. Эндотелиальная дисфункция, последующее воспаление и повреждение легких с диффузным альвеолярным повреждением, приводящее в некоторых случаях к острому респираторному дистресс-синдрому, являются основными патофизиологическими механизмами, вызывающими дыхательную недостаточность [133]. У пациентов могут наблюдаться и другие клинические признаки, которые с большой вероятностью указывают на эндотелиальную дисфункцию и микрососудистый тромбоз. Боль, ощущение жара и локальный отек конечности указывают на тромбоз глубоких вен, а внезапная тахикардия, одышка и боль в груди с большой вероятностью свидетельствуют о тромбоэмболии легочной артерии [68].

Кроме того, COVID-19 характеризуется широким спектром клинической тяжести. У бессимптомных пациентов отсутствуют какие-либо симптомы, а на рентгенограмме грудной клетки не выявляется патологических изменений, однако они играют важную роль в передаче заболевания другим людям. При легкой форме заболевания наблюдаются общие симптомы, характерные для других вирусных инфекций; также могут присутствовать желудочно-кишечные симптомы (боль в животе, тошнота, рвота и диарея). При среднетяжелой форме заболевания наблюдаются симптомы пневмонии, при этом показатели газового состава крови остаются в норме, а на компьютерной томографии высокого разрешения видны интерстициальные затемнения. Тяжелое течение болезни характеризуется пневмонией с гипоксемией (сатурация кислорода периферической крови составляет менее 92%). Наконец, критическое состояние характеризуется развитием острого респираторного дистресс-синдрома, нарушениями свертываемости крови, сердечной недостаточностью, острым повреждением почек и шоком [36, 57, 189].

У пациентов с сопутствующими заболеваниями течение болезни и прогноз хуже, чем у здоровых людей, как это наблюдалось при предыдущих коронавирусных инфекциях [144]. Пожилой возраст, мужской пол, диабет, гипертония, ишемическая болезнь сердца, рак, хроническая обструктивная болезнь легких и хроническая почечная недостаточность являются факторами риска развития тяжелой формы COVID-19 [50]. Эти состояния негативно влияют на иммунную систему пациента [46].

## **1.2 Особенности системного и мукозального иммунного ответа при SARS-CoV-2**

Наиболее распространенным клиническим проявлением COVID-19 является двустороннее поражение легких (вирусное диффузное альвеолярное повреждение с микроангиопатией), у 3–4% пациентов развивается острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) [117]. Инфекция SARS-CoV-2 может инициировать мощный иммунный ответ (врожденный и адаптивный), который включает активацию иммунной системы и противовирусные иммунные ответы через Т-клетки-хелперы (Th) и цитотоксические Т-лимфоциты (CTLs), вызывая гибель инфицированных клеток [96]. Носовая полость служит главными входными воротами и местом начальной репликации SARS-CoV-2 [120], а слизистая оболочка дыхательных путей является первой линией защиты от респираторных патогенов, включая SARS-CoV-2. Именно на уровне дыхательного эпителия разворачивается первичный иммунный ответ, что определяет исход инфекции. Для предотвращения заражения SARS-CoV-2 важно скоординированное действие врожденных и адаптивных иммунных механизмов на местном уровне [129].

В случаях тяжелого COVID-19 вирус распространяется на эпителий нижних дыхательных путей, вызывая пневмонию [44]. Вне дыхательной системы репликация SARS-CoV-2 ограничена [115]. Поэтому чрезвычайно важно изучать и оценивать именно локальный иммунный ответ в дыхательных путях при коронавирусной инфекции.

## **Врожденный иммунитет при SARS-CoV-2**

Ранний врожденный иммунный ответ играет решающую роль в контроле инфекции SARS-CoV-2, и его недостаточность связана с тяжелым течением COVID-19. Генетические дефекты в системе интерферонов (например, врожденные мутации в сигнальных путях TLR3–IRF7) делают пациентов склонными к тяжелой коронавирусной пневмонии [88]. Аналогично, наличие аутоантител к интерферонам I типа (ИНФ) ассоциируется с высоким риском тяжелого COVID-19 [27]. В целом для инфекции SARS-CoV-2 характерно подавление выработки интерферонов, особенно по сравнению с гриппом: вирус плохо индуцирует ответ ИНФ- $\alpha/\beta$ , что отмечается в большинстве случаев COVID-19 [20, 64, 80, 176]. У пациентов с тяжелым течением наблюдается крайне слабый или отсутствующий ответ ИНФ-I (в острой фазе не выявляется ИНФ- $\alpha/\beta$ ) [176]. Одной из причин этого является способность SARS-CoV-2 блокировать противовирусные пути: вирусные белки (некоторые неструктурные белки (NSP), структурные M и N, а также аксессуарные ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF9b белки и др.) на разных уровнях подавляют выработку и сигнализацию интерферонов [155, 156, 157, 158, 159, 176]. Как следствие, у ряда взрослых пациентов (которые в целом тяжелее переносят COVID-19, чем дети) выявлено снижение базальных рецепторов опознавания паттерна (PRR-сенсоров) – например, рецепторов RIG-I (ген 1, индуцируемый ретиноевой кислотой) (DDX58) и MDA5 (белок, ассоциированный с дифференцировкой меланомы) (IFIH1) – в эпителиальных и иммунных клетках верхних дыхательных путей по сравнению с детьми [138]. Кроме того, в носоглотке тяжелобольных отмечается функциональная потеря плазмоцитоидных дендритных клеток (pDC) – основных продуцентов ИНФ-I на слизистой [15, 171]. Все это приводит к тому, что вирус беспрепятственно распространяется в начале инфекции, а уже позже неконтролируемая репликация вируса провоцирует избыточное воспаление (так называемый цитокиновый шторм).

Слизистая дыхательных путей, реагируя на инфекцию SARS-CoV-2, способствует изменению выработки местных врожденных факторов иммунной системы. У пациентов с COVID-19 обнаруживается гиперсекреция слизи и

муцинов: повышены уровни мембранного белка-протеогликана MUC1 и MUC5AC в дыхательных путях по сравнению со здоровыми, а также отмечается обильное накопление муцина MUC5B в мелких бронхах (при аутопсии легких) [62, 139, 153]. Избыток вязкой слизи может нарушать мукоцилиарный клиренс, способствуя обструкции бронхиол, что указывает на возможность применения муколитической терапии при COVID-19. С другой стороны, недавние данные *in vitro* свидетельствуют о защитной функции муцинов: гликозилированные внеклеточные домены трансмембранных муцинов могут связывать SARS-CoV-2 и предотвращать его проникновение в клетки-мишени [70]. В экспериментах с полногеномным CRISPR-скринингом (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) показано, что сверхэкспрессия муцинов MUC1, MUC4 или MUC21 снижает степень инфицирования SARS-CoV-2 [69]. К еще одному врожденному защитному механизму относятся антимикробные пептиды: у инфицированных SARS-CoV-2 пациентов обнаружено повышенное содержание мРНК  $\beta$ -дефензинов в мазках из носоглотки [22], а *in vitro* было показано, что человеческие дефензины способны подавлять проникновение коронавируса в клетку [74]. В дополнение, особую роль в противовирусном ответе слизистой могут играть МАИТ-клетки (мукозальные инвариантные Т-клетки). МАИТ-клетки – это популяция Т-лимфоцитов врожденного иммунитета, обитающая преимущественно в слизистых оболочках. При острой фазе COVID-19 отмечено снижение числа МАИТ-клеток в периферической крови на фоне их активации [135], тогда как в дыхательных путях, напротив, происходит обогащение МАИТ-клеток с активированным фенотипом [135]. Это указывает на их миграцию к месту инфекции и участие в локальной противовирусной защите.

### **Адаптивный иммунитет при SARS-CoV-2**

При инфекции SARS-CoV-2 развивается как Т-клеточный, так и В-клеточный адаптивный ответ в слизистой дыхательных путей. Т-лимфоциты памяти локализуются в бронхах и легких после перенесенного заболевания: специфические к SARS-CoV-2 Т-клетки памяти обнаруживаются в легких, миндалинах, лимфоузлах и других тканях в течение по крайней мере 6 месяцев

после выздоровления [152]. Эти клетки, включая резидентные Т-клетки памяти (TRM), способны быстро реагировать при повторном контакте с вирусом. Показано, что у некоторых людей, не экспонированных SARS-CoV-2, в слизистых уже присутствуют TRM-клетки, распознающие SARS-CoV-2, вероятно, вследствие перенесенных ранее сезонных коронавирусных инфекций [23, 77]. Их защитная роль еще уточняется, но они могут обеспечивать частичный перекрестный иммунитет. Встает вопрос, формируются ли TRM-клетки в дыхательных путях после вакцинации против COVID-19. Данные об этом пока противоречивы: в мазках из носоглотки вакцинированных лиц обнаруживали S-специфичные Т-клетки [65], а у некоторых пациентов после вакцинации выделяли S-специфичные CD4+ Т-клетки из легочной ткани [105]. Однако в бронхоальвеолярном лаваже вакцинированных без инфекции частота TRM была крайне мала [149, 151], и в целом вакцинация без инфицирования не приводила к достоверному появлению S-специфичных TRM в легких [148]. Таким образом, внутримышечные вакцины индуцируют в основном системный (кровяной) Т-клеточный иммунитет, тогда как формирование резидентной памяти в слизистой выражено слабо. В то же время убедительные результаты на животных моделях показывают, что интраназальное введение вакцин вызывает мощное образование TRM-клеток в дыхательных путях [90, 147, 183]. Это обеспечивает улучшенную защиту именно на входных воротах инфекции.

### **Механизмы мукозального иммунитета (барьерные, врожденные и адаптивные)**

Мукозальный иммунитет дыхательных путей обеспечивается сочетанием барьерных, врожденных и адаптивных механизмов, которые действуют совместно для предотвращения и устранения инфекции.

Слизистая оболочка дыхательных путей выступает физическим барьером на пути патогенов. Межэпителиальные клеточные контакты (плотные и адгезионные соединения) формируют непроницаемый слой, а мукоцилиарный клиренс механически удаляет ингалированные частицы. В составе барьера важную роль играют также местные секреты: слизь с содержащимися в ней муцинами,

секреторные иммуноглобулины и антимикробные молекулы [136]. Эти компоненты захватывают и элиминируют патогены, одновременно участвуя в «очистке» и модуляции местного иммунного ответа. Комменсальная микробиота верхних дыхательных путей дополняет барьерную защиту, усиливая выработку противовирусных интерферонов I и III типов в ответ на инфекции [114, 121, 122].

Поверхностный секрет дыхательных путей (слизь) содержит множество антимикробных факторов врожденного иммунитета – от муцинов MUC5AC, MUC5B, MUC1 и др., которые служат ловушкой для вирусов, до антимикробных пептидов (дефенсины: HBD-1, -2, -3, -4; кателицидин LL-37) и ферментов (лизозим, лактоферрин) [35, 140]. Эти факторы действуют непосредственно, уничтожая микроорганизмы, а также опосредованно, привлекая иммунные клетки и регулируя воспаление [140]. Запуск врожденного ответа происходит при распознавании вируса клеточными рецепторами врожденного иммунитета (PRR). Эти рецепторы связывают консервативные структурные мотивы патогенов (PAMP, например вирусную РНК) или эндогенные сигналы повреждения (DAMP). Активация PRR (таких как Toll-подобные рецепторы – TLR, RIG-I/MDA5 – рецепторы RLR, NOD-подобные рецепторы – NLR, а также cGAS/STING) ведет к быстрой продукции противовирусных интерферонов I и III типов и провоспалительных цитокинов, что подавляет репликацию вируса и инициирует развитие адаптивного иммунитета [49, 55, 111, 128].

К адаптивным механизмам слизистого иммунитета относятся местные гуморальные и клеточные ответы. Главным гуморальным фактором является секреторный иммуноглобулин А (sIgA), который нейтрализует вирус на поверхности слизистой и тем самым предотвращает его прикрепление и проникновение в клетки (стерилизующий иммунитет). Клеточный адаптивный ответ представлен лимфоцитами памяти – они способны быстро реагировать на повторное появление антигена. Если титр нейтрализующих антител недостаточен либо вирус ускользает от них, тканевые резидентные Т-лимфоциты памяти (TRM) мгновенно распознают инфицированные клетки в слизистой и уничтожают их до распространения инфекции вглубь [186]. Аналогично резидентные В-клетки

памяти (BRM) при повторном заражении быстро дифференцируются в плазматические клетки и локально повышают уровень антител, что способствует эффективной элиминации вируса и предотвращает распространение инфекции [181]. Накопленные данные указывают, что высокая концентрация нейтрализующих антител на слизистой вместе с наличием достаточного пула TRM- и BRM-клеток обеспечивает надежную защиту (вплоть до бессимптомного течения), тогда как недостаточная иммунная память в дыхательных путях сопряжена с риском более тяжелого заболевания.

### **Гуморальный ответ при SARS-CoV-2**

Секретируемые антитела на слизистой оболочке дыхательных путей, особенно иммуноглобулины класса А, играют центральную роль в нейтрализации SARS-CoV-2. У переболевших COVID-19 формируются локальные В-клетки памяти в различных органах, в том числе в легких, лимфатических узлах, костном мозге, селезенке [152]. При повторном заражении такие резидентные В-клетки памяти (BRM) быстро активируются и превращаются в плазматические, обеспечивая всплеск выработки антител на месте инфекции, что приводит к эффективному очищению от вируса и предотвращению его распространения [112]. Ключевой иммуноглобулин (Ig) слизистого иммунитета – секреторный IgA (s IgA). Антитела класса IgA против SARS-CoV-2 продуцируются плазматическими клетками в ассоциированных со слизистой лимфоидных структурах (например, в небных миндалинах) и выделяются в просвет дыхательных путей, где выполняют сразу несколько важных функций защиты: препятствуют прикреплению вируса к эпителию и снижают передачу вирусных частиц [79]. По сравнению с мономерным IgA и IgG, sIgA обладает более высокой аффинностью и выраженной нейтрализующей активностью, эффективно подавляя адгезию, колонизацию или инвазию патогенов на слизистых поверхностях, а также сохраняя целостность слизистого барьера [40, 146, 150]. Это может быть связано с наличием множественных антигенсвязывающих участков у sIgA.

У пациентов с COVID-19 SARS-CoV-2-специфический IgA выявляется в слюне и бронхоальвеолярном лаваже, причем в первые недели болезни

нейтрализующая активность наиболее тесно коррелирует именно с уровнем IgA, а не IgM или IgG [79]. Кроме того, показано, что наличие назальных IgA-антител против спайкового белка исходного штамма SARS-CoV-2 ассоциировано с защитой от инфицирования новыми вариантами, включая варианты Omicron BA.1, BA.2 и BA.5 [60, 170]. В то же время концентрация специфических IgA в носу снижается через 9 месяцев после перенесенной инфекции [160], и стандартная внутримышечная вакцинация не способна индуцировать выраженный синтез IgA на слизистой [118]. Эти наблюдения подчеркивают необходимость разработки новых вакцинных стратегий, нацеленных на формирование более стойкого мукозального иммунитета [118, 160].

Недавние исследования продемонстрировали защитную роль секреторного иммуноглобулина А слизистых оболочек, а также связь между его повышенным уровнем и тяжелыми случаями COVID-19 [86]. Нейтрализующий sIgA может обнаруживаться у серонегативных лиц, что указывает на активный местный иммунный ответ слизистых оболочек [79]. Согласно исследованию Bielza и соавторов. у пациентов с тяжелым течением COVID-19 уровни sIgA-S1 выше, чем у пациентов с легким течением [184]. Пациенты с первичным иммунодефицитом, характеризующимся отсутствием IgA (селективный дефицит IgA, sIgAD), демонстрировали более низкие уровни ответа на вакцинацию против SARS-CoV-2, а также более длительный период течения инфекции COVID-19 и выделения вируса [26, 42, 78].

Интересно, что взрослые и дети демонстрируют разные мукозальные IgA-антительные ответы на SARS-CoV-2. Некоторые исследования, особенно среди детей, показали, что слабая или низкая экспозиция антигена может стимулировать мукозальные SARS-CoV-2-специфические IgA-ответы, что указывает на более ранний IgA-иммунный ответ на вирус [117, 177]. Уровни S-белок-специфичных IgA в назальной жидкости обратно коррелируют с возрастом [177]. Кроме того, исследование Chan и соавторов выявило, что ранние и высокие уровни назальных s1-специфичных IgA связаны с быстрым снижением вирусной нагрузки. Это подтверждается анализом уровней SARS-CoV-2 s1-специфичных IgA и титров

вируса в жидкости эпителиальной выстилки носа [117]. В этом исследовании пациенты детского возраста, особенно бессимптомные, демонстрировали быструю индукцию IgA в первые четыре дня после постановки диагноза, тогда как у взрослых пациентов значительное увеличение IgA наблюдалось только между 12 и 16 днями после диагностики инфекции SARS-CoV-2 [6, 117]. Эти данные могут объяснять, почему дети реже заражаются SARS-CoV-2 и переносят заболевание в более легкой форме.

Слизистая оболочка дыхательных путей является первой линией защиты от респираторных патогенов, включая SARS-CoV-2. Именно на уровне дыхательного эпителия разворачивается первичный иммунный ответ, что определяет исход инфекции. Для предотвращения заражения важно скоординированное действие врожденных и адаптивных иммунных механизмов на местном уровне [129].

Несмотря на ведущую роль слизистого иммунитета, большинство исследований COVID-19 фокусировалось на иммунных клетках крови, тогда как периферическая кровь не является основным местом инфекции [168, 169]. Пандемия стимулировала усиленное внимание к иммунитету на уровне дыхательной слизистой, что необходимо для разработки новых профилактических и терапевтических подходов.

Несмотря на то, что функция SIgA представляется исключительно важной в иммунном ответе против SARS-CoV-2, существует мало исследований, специально посвященных изучению данного вопроса.

### **1.3 Особенности фагоцитоза у пациентов с COVID-19**

Глубокий анализ механизмов иммунной системы важен для выявления ключевых факторов, влияющих на тяжесть COVID-19. Существуют фенотипические и экспрессивные различия между клеточными механизмами, участвующими в периферическом иммунном ответе в отношении инфекции COVID-19 [17, 172].

Воспалительный ответ является важным защитным механизмом, который развивается для защиты организма-хозяина от вторгающихся патогенов и способствует восстановлению функции тканей за счет репарации и регенерации поврежденных тканей. Эта тонко настроенная реакция нарушается при некоторых заболеваниях, часто приводя к системному воспалению. Одним из таких примеров является системное воспаление при COVID-19 [54].

Существует мнение, что основные усилия всех исследователей COVID-19 в будущем должны быть направлены на врожденную иммунную систему, особенно на фагоциты. В исследовании продемонстрирована решающая роль сотрудничества антиген-специфических антител и фагоцитирующих клеток (моноцитарных инфильтрирующих макрофагов и частично альвеолярных макрофагов) в элиминации COVID-19 на моделях инфекции у мышей и человека [67, 75].

Первоначальные попытки детализировать воспалительные механизмы, возникающие при SARS-CoV-2, выявили заметное усиление регуляции циркулирующих провоспалительных цитокинов, а также повышенный воспалительный фенотип клеток врожденного иммунитета, в первую очередь моноцитов, у пациентов с COVID-19 с тяжелым течением заболевания [16, 32, 83, 89, 108, 113]. Повышенный воспалительный фенотип клеток врожденного иммунитета напоминает о нарушении регуляции процессов разрешения инфекционного процесса [100]. Эти данные свидетельствуют о том, что в дополнение к увеличению продукции провоспалительных медиаторов могут быть также нарушения в процессах разрешения инфекции у пациентов с COVID-19. Одноклеточный транскриптомный анализ показал, что при тяжелом COVID-ассоциированном поражении легких основными клетками врожденного иммунитета являются макрофаги и нейтрофилы [108].

Врожденный иммунитет играет важную роль в борьбе с вирусной инфекцией на ранних стадиях для предотвращения виремии. Кроме того, активация врожденных иммунных клеток, таких как макрофаги, моноциты, дендритные клетки и нейтрофилы, имеет решающее значение для запуска адаптивного

иммунитета. Эти клетки обнаруживают вирусную инфекцию, используя паттерн-распознающие рецепторы (PRRs) для распознавания патоген-ассоциированного молекулярного паттерна (PAMPs) и ассоциированных с опасностью молекулярных паттернов (DAMPs). Фагоциты координируют воспалительную реакцию и играют ключевую роль в связи между врожденным и адаптивным иммунитетом [54].

Гиперактивация врожденного иммунного ответа часто ассоциируется с иммунопатологией при коронавирусной инфекции и при COVID-19, а клетки врожденного иммунитета необходимы для активации специфического и эффективного иммунного ответа на инфекцию SARS-CoV-2 [8].

Фагоциты могут проявлять гетерогенные фенотипы в зависимости от окружающей среды, что приводит к провоспалительному или противовоспалительному состоянию. Устойчивая провоспалительная среда в конечном итоге становится патологической, приводя к постоянному набору лейкоцитов и приводя к прогрессированию заболевания, повреждению тканей и безуспешному разрешению. Нарушение функции фагоцитов может привести к неконтролируемой инфекции, накоплению неправильно свернутых белков и мертвых клеток и неспособности установить защитный иммунитет. В этом контексте клеточные механизмы, включая фагоцитоз, апоптоз и перепрограммирование, могут иметь решающее значение для контроля воспаления и возвращения к гомеостазу. Таким образом, понимание действий фагоцитов во время воспалительной реакции может способствовать пониманию патогенеза инфекционных, хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний, что приведет к разработке новых терапевтических стратегий [54].

### **Роль моноцитов/макрофагов и нейтрофилов при COVID-19**

Моноциты и тканевые макрофаги – это фагоциты, которые встречаются в большинстве тканей и отвечают на инфекцию как первая линия защиты. При COVID-19 активация резидентных альвеолярных макрофагов, CD68+CD169+ макрофагов лимфатических узлов и CCR2+ моноцитов через PRRs запускает выработку интерферона (ИНФ)- $\gamma$  типа I и других провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин (ИЛ)-6, ИЛ-1 $\beta$  и фактор некроза опухоли (ФНО)- $\alpha$ , которые

обладают эффективной противовирусной активностью, но также способствуют повреждению легочной ткани и воспалению [130, 137, 188]. Более того, макрофаги и моноциты вырабатывают высокие уровни хемокинов, включая CCL2, CXCL8, CXCL10, MCP1 и MIP1A, которые, в свою очередь, могут привлекать другие клетки врожденного и адаптивного иммунитета к месту инфекции. Последовательные наблюдения, полученные в различных исследованиях, показали, что цитокины, вырабатываемые и секретируемые макрофагами, особенно ИЛ-6 и ИЛ-1 $\beta$ , связаны с острым респираторным дистресс-синдромом при COVID-19, а усиленная инфильтрация макрофагами и моноцитами является отличительной чертой повреждения тканей при тяжелом COVID-19 [188]. Анализ на уровне отдельных клеток в легких пациентов с COVID-19 показал, что различия между легкими и тяжелыми случаями COVID-19 могут быть связаны с чрезмерной экспрессией цитокинов, включая CCL2, CCL3, CCL20, ИЛ-8, ИЛ-1  $\beta$  и ФНО- $\alpha$  в нерезидентных макрофагах. Этот повышенный ответ со стороны воспалительных макрофагов и взаимодействие эпителиальных клеток является ключевым компонентом, который приводит к повреждению тканей и дыхательной недостаточности. В одном продольном исследовании у пациентов с COVID-19 были выявлены изменения фенотипов и функций в CD14<sup>+</sup> моноцитах [19]. В подмножестве моноцитов, включая слабую индукцию COX2 и усиление маркера цикла Ki67, были отмечены изменения фенотипа и функций. Этот результат убедительно свидетельствовал о том, что изменения в моноцитах/макрофагах являются характерными у пациентов с COVID-19 [161].

Нейтрофилы являются ведущим компонентом врожденного иммунитета, поскольку они одними из первых рекрутируются во время инфекций [126]. Основной функцией нейтрофилов является очистка от патогенных микроорганизмов посредством фагоцитоза [76]. Они также выполняют целый ряд других иммунных функций, таких как высвобождение внеклеточных ловушек нейтрофилов (NET) для инактивации вирусной инфекции [97] и выработка цитокинов для ограничения репликации вируса [87].

При вирусной инфекции нейтрофилы привлекаются к месту и способствуют уничтожению вирусов с помощью активных форм кислорода (ROS) и фагоцитоза. Инфицированные эпителиальные клетки увеличивают выработку хемоаттрактантов нейтрофилов, что приводит к инфильтрации и накоплению нейтрофилов в инфицированной ткани [109]. Инфильтрация легких нейтрофилами и увеличение соотношения нейтрофилов и лимфоцитов в крови ассоциируются с тяжестью заболевания и неблагоприятным исходом COVID-19 [127]. По сравнению с пневмониями, вызванными другими причинами, у пациентов с COVID-19-ассоциированным поражением легких в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) наблюдается более высокий процент нейтрофилов и тучных клеток [130]. Более высокая продукция провоспалительных цитокинов и хемокинов при тяжелом течении COVID-19 повышает связанную с иммунопатологией активность нейтрофилов. Одним из возможных механизмов патологии иммунной системы, вызванной нейтрофилами, является образование NET. NET – это внеклеточная паутинообразная структура из хроматина и гранулированного белка, которая высвобождается для уничтожения внеклеточных патогенов. Массивное образование NET может вызвать воспаление и повреждение тканей при некоторых заболеваниях [41]. Недавние исследования показали высокий уровень маркеров NET, включая бесклеточную ДНК, миелопероксидазу-ДНК (МПО-ДНК) и цитруллинированный гистон H3 (Cit-H3), в сыворотке крови пациентов с COVID-19, что может способствовать развитию воспаления, микротромбоза и острого респираторного дистресс-синдрома при COVID-19 [101]. В настоящее время неизвестно, вызвана ли повышенная активация нейтрофилов вирусом как таковым или является следствием гиперактивации других компонентов иммунной системы.

В дополнение к транспортировке к местам заражения для фагоцитирования вирусов нейтрофилы могут инициировать, увеличивать и/или подавлять адаптивные иммунные эффекторные процессы, способствуя двустороннему взаимодействию с Т-клетками [137, 188]. После острого воспаления, возникающего в результате иммунологических процессов, таких как вирусные инфекции, нейтрофилы со сниженной экспрессией CD62L ослабляют миграцию Т-клеток

через градиент хемокина CXCL11, высвобождая пероксид водорода ( $H_2O_2$ ) в иммунологический синапс [19]. Таким образом, нейтрофилы, обнаружившие вирусные антигены, могут находиться в дренирующих лимфатических узлах, действуя как антигенпрезентирующие клетки (APC) [161]. Нейтрофилы задействуют молекулярный механизм Т-клеток во время заражения вирусом гриппа и связываются с оставшимися резервуарами CXCL12. CD8 + Т-клетки следуют по следу хемоаттрактанта, оставляемому нейтрофильными уроподами, к месту заражения вирусом гриппа [101]. Снижение количества клеток или нарушение функции лейкоцитов может играть определенную роль в развитии клинических состояний от легкой до тяжелой степени [76].

Механизмы высвобождения NETs при вирусном ответе, по-видимому, включают выработку нейтрофильной эластазы (NE) нейтрофилами, что объясняется изменением роли макрофагов в результате расщепления Toll-подобных рецепторов (TLR) [124].

Несмотря на функциональную роль нейтрофилов в подавлении чужеродных патогенов, повышенная активность нейтрофилов может привести к сопутствующим повреждениям и, следовательно, усугублению повреждения легких. Авторы обнаружили, что нейтрофилы пациентов с COVID-19 имеют более высокие показатели фагоцитоза, чем у здоровых людей. Эти данные позволяют предположить, что нейтрофилы, циркулирующие у пациентов с COVID-19, имеют повышенное состояние активации и могут способствовать увеличению тяжести заболевания. Однако усиление фагоцитоза может также свидетельствовать о том, что нейтрофилы у тяжелобольных пациентов с COVID способны активно поглощать и уничтожать патогены, которые вызывают вторичные инфекции в этой кластере риска [13, 54].

Koenis D.S. и соавторы исследовали связь между концентрацией циркулирующих способствующих разрешению липидных медиаторов (SPM) и состоянием активации, а также функцией фагоцитов у пациентов с COVID-19 (n=39) по сравнению со здоровыми (n=12) и перенесшими COVID-19 (n=8) добровольцами. Профилирование липидных медиаторов показало, что концентрация SPM в плазме

повышалась у пациентов с легкой формой COVID-19 и снижалась у пациентов с тяжелым течением заболевания. Концентрации SPM коррелировали как со статусом активации циркулирующих фагоцитов, так и с их функцией. Изменения концентрации SPM в плазме и активации фагоцитов сохранялись и после исчезновения клинических симптомов COVID-19. Лечение пациентов дексаметазоном повышало как экспрессию ферментов биосинтеза SPM в циркулирующих фагоцитах, так и концентрацию этих медиаторов в плазме. Примечательно, что инкубация фагоцитов пациентов с COVID-19 с SPM нормализовала их фенотип и функцию. Это включало снижение экспрессии маркеров активации, тканевого фактора и экспрессии воспалительных цитокинов, а также усиление бактериального фагоцитоза. Авторами сделан вывод, что снижение системных концентраций SPM связано как с увеличением тяжести заболевания, так и с нарушением регуляции функции фагоцитов. В совокупности результаты проведенного исследования в некоторой степени прояснили роль измененных механизмов разрешения инфекционного процесса в нарушении реакции фагоцитов и распространении системного воспаления при COVID-19 [54].

В другом исследовании изучались изменения показателей клеточного, гуморального и врожденного иммунитета у детей. Определялись абсолютное значение фагоцитоза, фагоцитарное число и фагоцитарный индекс и отклонение показателей проточного цитофотометрического анализа, включающих пять параметров: лейкоциты, лимфоциты, NK-клетки (CD16+CD56+), Т-хелперы (CD3+CD4+) и индекс иммунорегуляции (CD4+ /CD8+). Результаты исследования показали, что при отсутствии отклонений секреции иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG наблюдалось снижение показателей фагоцитоза с увеличением отклонения в сторону старших возрастных групп. У детей средней и младшей возрастных групп, находящихся в активной стадии заболевания, наблюдалось снижение показателей фагоцитоза и повышенный уровень иммуноглобулинов. У детей в старшей кластере на пассивной стадии заболевания наблюдалось снижение показателей фагоцитоза и индекса иммунорегуляции (CD4+/CD8+) со сниженным уровнем иммуноглобулинов. Наибольшие превышения референтного интервала были

отмечены для средней возрастной группы по количеству фагоцитов со сниженным уровнем иммуноглобулинов и для старшей возрастной группы по лейкоцитам и Т-хелперам. На стадии выздоровления было отмечено снижение абсолютного значения фагоцитоза в младшей возрастной кластере со сниженным уровнем иммуноглобулинов и фагоцитарного индекса в старшей возрастной кластере с повышенным уровнем иммуноглобулинов [13, 84].

Таким образом, в опубликованной литературе данных, описывающих механизм изменений фагоцитоза при COVID-19, представлено недостаточно. В связи с этим необходимы дальнейшие исследования по изучению особенностей фагоцитоза при COVID-19 в зависимости от тяжести его течения.

#### **1.4 Место иммуномодуляторов в комплексном лечении COVID-19**

Мукозальный иммунитет дыхательных путей играет ключевую роль в противодействии инфекции SARS-CoV-2, влияя как на профилактику заболевания, так и на его исходы [164]. Особенно важна выработка секреторного иммуноглобулина А (sIgA) на поверхности слизистых оболочек, который представляет первую линию защиты против респираторных вирусов. Установлено, что уровень sIgA в носоглотке обратно коррелирует с риском инфицирования, например вариантами Omicron инфекции SARS-CoV-2 [25].

Во время острого периода COVID-19 и ранней реконвалесценции отмечают изменения местного иммунитета: у пациентов с более тяжелым течением снижены уровни sIgA в носу и глотке [28]. Все больше данных свидетельствует о том, что нарушение функции фагоцитов у пациентов с COVID-19 и поражением легких связано с повышенной восприимчивостью к вторичным инфекциям. Обнаружено, что у пациентов с COVID-19 могут развиваться вторичные бактериальные или грибковые инфекции [54]. Это подтолкнуло исследователей к применению иммуномодуляторов, способных усилить гуморальный и локальный иммунитет слизистых дыхательных путей и фагоцитарную активность. Ниже представлен обзор клинических исследований, систематических обзоров и метаанализов об

использовании таких иммунологических средств (помимо бактериального лизата Иммуновак-ВП-4) в остром и раннем постинфекционном периоде COVID-19. Основное внимание уделяется препаратам, влияющим на местный иммунитет: бактериальным лизатам, иммуноглобулинам, интерферонам, агонистам Toll-подобных рецепторов, мукозальным вакцинам, а также про- и постбиотикам.

**Бактериальные лизаты** включают антигены и фрагменты инактивированных бактерий, традиционно применяемые для профилактики респираторных инфекций за счет стимуляции врожденного и местного иммунитета. В контексте COVID-19 такие средства привлекли особое внимание. Например, OM-85 – оральный бактериальный лизат, состоящий из компонентов 21 штамма респираторных патогенов. Экспериментальные работы показали, что OM-85 обладает выраженным противовирусным эффектом: в клеточных культурах из слизистой носоглотки пациентов он снижал экспрессию вирусного генома SARS-CoV-2 (ген N1) и индуцировал противовирусный ответ через активацию рецептора RIG-I [30]. Кроме того, введение OM-85 животным подавляло экспрессию рецепторов ангиотензинпревращающего фермента ACE2 и мембрано-связанной сериновой протеазы TMPRSS2 в дыхательных путях, что потенциально затрудняет проникновение коронавируса SARS-CoV-2 в клетки [30]. Совокупность данных позволила исследователям сделать вывод, что OM-85 может оказывать защитное действие против COVID-19 за счет широкого активационного воздействия на иммунную систему хозяина [30]. Клинически бактериальные лизаты также продемонстрировали положительное влияние у пациентов с COVID-19.

**Иммуновак-ВП-4** – отечественный бактериальный лизат из класса так называемых терапевтических вакцин. В отличие от вышеперечисленных препаратов широкого спектра, Иммуновак содержит антигены *лишь 4 видов бактерий: Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris и Escherichia coli*, полученных щадящим лизисом микробных клеток [28]. Несмотря на узкий состав, данный набор антигенов был разработан таким образом, чтобы обеспечить широкий перекрестный иммунитет против других возбудителей дыхательных инфекций. Например, включение иммуногенных антигенов *S.*

*aureus* и *K. pneumoniae* обеспечивает выработку антител, способных распознавать также *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и др. [28, 164]. Механизм действия Иммуновак-ВП-4 сходен с другими лизатами: препарат активирует фагоциты, нормализует субпопуляции Т- и В-лимфоцитов, сдвигает иммунный ответ в сторону Th1-типа, усиливает продукцию интерферонов (ИНФ- $\gamma$ , ИНФ- $\alpha$ ) и повышает синтез иммуноглобулинов классов G и A на слизистых оболочках [28]. Показано, что Иммуновак стимулирует пролиферацию CD4<sup>+</sup> Т-клеток, активность натуральных киллерных клеток (НК-клеток), а также индуцирует образование специфических антител к четырем включенным в вакцину микробам [28]. Благодаря наличию паттернов (липополисахарид, тейхоевые кислоты, бактериальная ДНК) данный лизат активирует TLR2/4/9, что запускает секрецию цитокинов и формирование тренированного иммунитета против вирусных и бактериальных патогенов [28].

В период пандемии COVID-19 Иммуновак-ВП-4 прошел испытания в России как адъювант к стандартной терапии у госпитализированных пациентов по поводу COVID-19. Результаты оказались многообещающими: при добавлении курса Иммуновак-ВП-4 у больных средней тяжести наблюдалось увеличение концентрации sIgA в носовых и глоточных смывах уже к 14-му дню лечения, тогда как у пациентов без него такого роста не было [28]. К 30-му дню уровень местного IgA в кластере с курсом Иммуновака оставался высоким, тогда как в кластере стандартной терапии снизился [28]. Очень важно, что у пациентов, получавших бактериальный лизат, отмечалось более быстрое снижение воспалительных маркеров (СРБ) и существенно сокращалась продолжительность лихорадки и пребывания в стационаре по сравнению с контролем [164]. Также на фоне Иммуновака улучшалась оксигенация: прирост SpO<sub>2</sub> к 14-му дню был выше, чем без него ( $p < 0,01$ ) [28]. Никаких серьезных нежелательных явлений при использовании Иммуновак-ВП-4 у COVID-пациентов не зафиксировано [164]. Эти данные свидетельствуют, что данный бактериальный лизат эффективно активирует слизистый иммунитет в остром периоде COVID-19, ускоряя выздоровление. Вероятно, иммуностимуляция sIgA и врожденных механизмов защиты

способствует более быстрому очищению дыхательных путей от вируса и предотвращению присоединения бактериальных осложнений. Иммуновак ВП-4 официально зарегистрирован в РФ и до пандемии применялся для лечения хронических инфекций дыхательных путей, поэтому накопленный опыт позволил успешно применить его и при новой коронавирусной инфекции [28].

**Лантиген В** – бактериальный лизат для сублингвального применения в виде капель, разработанный в Италии и применяемый в Европе для профилактики рецидивирующих инфекций дыхательных путей. Препарат содержит антигены наиболее распространенных возбудителей инфекций верхних дыхательных путей (ИВДП) (включая *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* и др.). Основное его действие – стимуляция местного иммунитета ротоглотки и дыхательных путей за счет контакта антигенов с лимфоидной тканью полости рта. Лантиген В, как и другие лизаты, повышает уровень секреторного IgA, индуцирует продукцию противовирусных цитокинов и повышает устойчивость слизистой к внедрению патогенов.

Специальных клинических исследований Лантигена В при COVID-19 не проводилось, однако экспериментальные данные *in vitro* указывают на потенциальную пользу. Исследование итальянских ученых продемонстрировало, что при добавлении Лантигена В к образцам клеток слизистой глотки, полученным от здоровых доноров, происходит снижение экспрессии рецептора ACE2 на клеточной поверхности [182]. В 62% проб отмечалось уменьшение числа ACE2-позитивных клеток, а в 72% – снижение интенсивности экспрессии ACE2 после обработки лизатом [182]. Это крайне важно, поскольку ACE2 является главным «входом» для SARS-CoV-2. Более того, в той же работе показано, что обработка Лантигеном В приводит к уменьшению вирусной нагрузки при инфицировании клеток диким штаммом SARS-CoV-2: через 24 часа уровень вирусной РНК был статистически значимо ниже в образцах, обработанных лизатом по сравнению с необработанными [182]. Таким образом, Лантиген В уменьшает число

потенциально инфицируемых вирусом клеток и препятствует размножению SARS-CoV-2 в эпителии глотки [182].

Практическое применение Лантигена В в остром периоде COVID-19 пока ограничено рамками индивидуальных назначений, однако полученные результаты позволяют рассматривать его как перспективное средство для профилактики и ранней терапии коронавирусной инфекции.

Эти данные свидетельствуют, что добавление бактериального лизата способствует восстановлению местного иммунитета и может улучшать течение болезни. По данным обзоров, бактериальные лизаты рассматриваются как перспективные средства для профилактики и лечения не только бактериальных, но и вирусных респираторных инфекций [28]. Так, бактериальный лизат OM-85 в недавних работах упоминается в качестве терапевтического средства при COVID-19, аллергическом рините и других заболеваниях, демонстрируя универсальный тренирующий эффект на иммунитет [132]. Таким образом, бактериальные лизаты – важное направление коррекции мукозального иммунитета при COVID-19.

#### **Иммуноглобулин-терапия (пассивная иммунопрофилактика)**

Применение экзогенных антител рассматривалось как способ обеспечить пассивную защиту слизистых и скорректировать дисфункцию гуморального иммунитета при COVID-19. Одним из подходов стало введение высокодозного внутривенного иммуноглобулина (ВВИГ). ВВИГ представляет собой пул антител IgG от доноров; к 2021–2022 гг. коммерческие препараты иммуноглобулина начали содержать и специфические антитела против SARS-CoV-2 (благодаря иммунизации доноров), что позволяло при инфузии передавать пациенту готовые нейтрализующие антитела против COVID-19 [39]. Предполагалось, что такая терапия может нейтрализовать вирус, снизить вирусную нагрузку на дыхательных путях и модулировать чрезмерное воспаление.

Данные о клинической эффективности ВВИГ при COVID-19 противоречивы. Ряд неконтролируемых исследований на тяжелых госпитализированных больных показали, что добавление ВВИГ ассоциировано со снижением летальности и противовоспалительным эффектом (уменьшение уровня провоспалительных

цитокинов) [29]. Однако последующие более масштабные анализы дали неоднозначные результаты. Метаанализ рандомизированных и контролируемых исследований не выявил достоверного улучшения исходов (включая смертность) при назначении иммуноглобулина госпитализированным пациентам с COVID-19 [180]. Тем не менее ВВИГ может быть полезен в отдельных ситуациях – например, у иммунокомпрометированных пациентов с COVID-19 наблюдалось клиническое улучшение и элиминация вируса при применении ВВИГ, что позволяет рассматривать его как альтернативу реконвалесцентной плазме [92].

Другим источником антител была гипериммунная плазма выздоравливающих, однако контролируемые исследования показали ограниченную эффективность данного подхода, особенно при позднем введении. В целом пассивная иммунотерапия антителами лучше проявляет себя на ранних стадиях инфекции, до развития бурного воспалительного ответа. Хотя системное введение иммуноглобулинов не воздействует непосредственно на слизистую, переданные антитела способны диффундировать в секреты дыхательных путей и нейтрализовать вирус там. В будущем развитие ингаляционных форм иммуноглобулинов или секреторного IgA может улучшить локальную защиту слизистых, но такие методы пока находятся в стадии исследований.

### **Интерфероны и их индукторы**

Дефицит раннего интерферонового ответа был отмечен как один из факторов, способствующих неконтролируемому распространению SARS-CoV-2 в организме. Поэтому экзогенные интерфероны I и III типа привлекли внимание как потенциальные препараты в ранней фазе COVID-19. Интерфероны способны усиливать противовирусную резистентность клеток слизистой оболочки и стимулировать врожденный иммунитет на месте входных ворот инфекции.

**Интерферон- $\alpha/\beta$  (I тип).** В Китае и ряде стран с самого начала пандемии практиковалось включение рекомбинантного интерферона- $\alpha 2b$  в базовую терапию COVID-19, часто в виде ингаляций или интраназальных капель, для повышения местного противовирусного иммунитета. В небольших исследованиях такая тактика ассоциировалась с ускорением клиренса вируса. Кроме того,

небулайзерный интерферон- $\beta$ 1a (препарат SNG001) был исследован в ходе контрольных испытаний. В фазе II (Великобритания) ингаляционный ИНФ- $\beta$  продемонстрировал хорошую переносимость и тенденцию к улучшению клинических исходов: пациенты, получавшие ИНФ- $\beta$ , были более чем вдвое чаще восстановлены к определенному сроку по сравнению с плацебо [38]. Отмечено также, что добавление ИНФ- $\beta$  к стандартной терапии сокращает длительность госпитализации и уменьшает тяжесть респираторных симптомов [61]. Однако польза интерферонов зависит от времени начала терапии. Раннее введение интерферона (в первые дни заболевания) может снизить риск прогрессирования до тяжелой формы [61]. Напротив, позднее применение (в разгаре цитокинового шторма) может быть контрпродуктивным: ретроспективный анализ показал, что у пациентов, получавших ИНФ- $\alpha/\beta$  на поздних стадиях госпитализации, вероятность летального исхода была выше [63], вероятно, из-за усиления воспалительной реакции или сопутствующей тяжести состояния тех, кому назначали интерферон. Таким образом, интерферонотерапия при COVID-19 проявляет себя эффективно преимущественно как ранняя противовирусная мера.

**Интерферон- $\lambda$  (III тип).** Этот интерферон привлек внимание благодаря своей способности стимулировать противовирусный иммунитет именно на эпителиальных поверхностях (в том числе дыхательных путей), вызывая менее выраженные системные побочные эффекты. В крупном многоцентровом исследовании (TOGETHER trial) оценивали однократное подкожное введение пегилированного интерферона- $\lambda$  у амбулаторных пациентов с ранним COVID-19. Результаты показали статистически значимое снижение комбинированного риска ухудшения: частота госпитализаций или длительных визитов в неотложную помощь снизилась до 2,7% в кластере интерферона против 5,6% в кластере плацебо [58]. Эффект наблюдался независимо от статуса вакцинации и для разных штаммов вируса, причем у пациентов с высокой вирусной нагрузкой интерферон- $\lambda$  способствовал более быстрому снижению уровня вируса [58]. Терапия интерфероном- $\lambda$  также показала профиль безопасности, сопоставимый с плацебо

[58]. Эти данные свидетельствуют о перспективности интерферона-λ как средства ранней терапии COVID-19 для предотвращения тяжелого течения.

В целом интерфероны, применяемые интраназально, ингаляционно или подкожно в ранние сроки, могут активировать локальный противовирусный иммунитет слизистых оболочек и тем самым улучшить элиминацию вируса. Их использование должно быть своевременным и осторожным, с учетом стадии заболевания, чтобы максимизировать пользу и избежать побочных эффектов.

Синтетический иммуномодулятор азоксимера бромид (АБ) применяется как адъювант вакцин и средство для лечения острых и хронических инфекционно-воспалительных заболеваний, включая вирусные инфекции [71]. В контексте пандемии COVID-19 (особенно при среднетяжелом и тяжелом течении) возник интерес к его использованию для усиления иммунного ответа и снижения риска осложнений.

Первые данные о лечении COVID-19 АБ были получены в открытом интервенционном исследовании 32 госпитализированных пациентов [179]. Больные (все с симптомами; 22 – тяжелое течение) получали АБ дополнительно к стандартной терапии: 12 мг внутривенно 1 раз в сутки в течение 3 дней, затем 12 мг внутримышечно через день (в сумме ~10 инъекций) до выписки [179]. К 15-му дню оценивали клинический статус по 7-балльной шкале. Средняя длительность госпитализации составила ~20 дней [179]. Результаты показали положительную динамику: к выписке все 32 пациента выжили, сатурация крови кислородом нормализовалась, не зарегистрировано случаев вторичной инфекции или поздней летальности (наблюдение до 28–72 дня) [179]. У пациентов улучшился клинический статус: снижались баллы по шкале клинического состояния и NEWS уже к 9–10 дню терапии, особенно выраженное улучшение отмечено у тяжелых пациентов к 11–12 дню, у всех нормализовалась температура тела, у большинства пациентов с исходной пневмонией (27 из 32) к 10–12 дню наблюдалось разрешение воспалительных изменений в легких. Также снижался уровень С-реактивного белка, что отражает уменьшение воспаления. Препарат показал себя безопасным: серьезных побочных эффектов не выявлено, АБ хорошо переносился на фоне

стандартной терапии. Авторы отмечают необходимость дальнейших плацебо-контролируемых исследований для подтверждения эффективности [179].

Вслед за пилотным исследованием был проведен более крупный открытый многоцентровый проект с участием 81 пациента с COVID-19 (9 клинических баз в России и Беларуси) [131]. Схема терапии была сходной: 12 мг АБ внутривенно 3 дня, затем внутримышечно через день до 17-го дня [131]. Для предварительной оценки эффективности данные сравнили с исторической контрольной группой (100 пациентов из ранее проведенного в Китае открытого рандомизированного исследования) [131]. Группа АБ имела более тяжелое состояние на старте (больше пациентов требовало ИВЛ/НИВЛ) [131], однако динамика оказалась улучшенной: отмечено значимое снижение баллов по семибалльной порядковой шкале (OS) и шкале NEWS у пациентов, получавших АБ, тогда как в контрольной кластере изменения были минимальны. Средняя продолжительность госпитализации составила ~19 дней (против ~16 дней в контроле) [131]. Летальность к 28-му дню в кластере АБ была нулевой (0/81), тогда как в контрольной достигала 25% (25/100 случаев). Лишь один пациент из группы АБ, остававшийся на респираторной поддержке, умер позже (на 34-й день), что произошло уже за пределами основного периода наблюдения. Также в основной кластере наблюдалось более быстрое восстановление показателей функции легких и разрешение пневмонии по сравнению с контрольной. Препарат вновь продемонстрировал благоприятный профиль безопасности и переносимости, не вызвав серьезных нежелательных реакций [131]. Авторы подчеркивают, что хотя клиническое улучшение на фоне АБ очевидно, отсутствие одновременной рандомизированной контрольной группы требует подтверждения эффективности в специальных плацебо-контролируемых исследованиях [131].

### **Применение азоксимера бромида при тяжелом COVID-19**

Отдельного внимания заслуживают исследования у критически больных пациентов. В журнале «Терапия» (Россия) опубликовано одноцентровое наблюдательное проспективное исследование по применению АБ у 12 пациентов с тяжелым COVID-19, находившихся в отделении реанимации и интенсивной

терапии с двусторонней полисегментарной пневмонией [4]. АБ вводили внутримышечно по 6 мг три раза в сутки, 4 дня подряд в составе комплексной терапии [4]. Результаты сравнили с ретроспективной контрольной группой из 20 аналогичных пациентов, получавших только стандартное лечение [4]. Добавление АБ ассоциировалось с повышением выживаемости: доля выживших в основной кластере составила 50% против 35% в контроле [4]. Кроме того, значительно реже возникала потребность в ИВЛ – только 58,3% пациентов группы АБ были переведены на искусственную вентиляцию, тогда как в контроле этот показатель достиг 90% [4]. Частота развития сепсиса на фоне терапии АБ была существенно ниже (25% против 65% в контроле), и ни у одного пациента основной группы не развился септический шок, тогда как в контроле шок зафиксирован в 25% случаев [4]. Таким образом, применение АБ у тяжелых COVID-19 больных в реанимации позволило снизить инфекционные осложнения и потребность в респираторной поддержке, что отразилось на улучшении исходов [4]. Авторы делают вывод, что включение азоксимера бромида в интенсивную терапию тяжелого COVID-19 увеличивает выживаемость и снижает частоту критических осложнений без дополнительных рисков [4].

### **Агонисты Toll-подобных рецепторов (TRL)**

Агонисты Toll-подобных рецепторов представляют собой класс иммуномодуляторов, способных неспецифически активировать врожденный иммунитет на слизистых оболочках, повышая сопротивляемость к широкому кругу патогенов.

Особый интерес вызвали интраназальные TLR-агонисты как средства локального действия. Примером является препарат INNA-051 – синтетический агонист TLR2/6, разработанный для интраназального применения с целью профилактировать респираторные вирусные инфекции. Доклинические исследования показали, что назальное введение INNA-051 у животных эффективно предотвращает заражение множеством респираторных вирусов, включая SARS-CoV-2, грипп и риновирус [53]. Механизм действия связан с быстрым запуском локального врожденного иммунного ответа: INNA-051 стимулирует инфильтрацию

иммунных клеток в эпителий носа и активацию генов противовирусной защиты на местном уровне [53]. Это приводит к созданию «готовности» слизистой отразить атаку вируса еще до формирования специфических антител.

Результаты исследований подтверждают принципиальную возможность усилить мукозальный иммунитет посредством TLR-стимуляции. Кроме INNA-051, рассматриваются и другие TLR-агонисты: например, агонисты TLR7/8 (имидазохинилины) и TLR3 (двухцепочечные РНК) как назальные адьюванты или спреи. Хотя широкого клинического применения таких средств при COVID-19 пока нет, они находятся в стадии исследований. Подход с активацией Toll-рецепторов интересен тем, что обеспечивает широкоспектровую защиту от различных вирусных угроз и может быть полезен для уязвимых групп (медработники, контактные лица) в период циркуляции SARS-CoV-2 и других респираторных вирусов [53].

Важно отметить, что TLR-агонисты фактически «тренируют» врожденный иммунитет аналогично тому, как это делает, например, вакцина БЦЖ или оральная полиовакцина, усиливая неспецифическую противовирусную готовность. Разработка назальных препаратов такого типа – перспективное направление, которое может дополнить специфическую профилактику (вакцинацию) и терапию на ранних этапах инфекции COVID-19.

### **Мукозальные вакцины против SARS-CoV-2**

Классические вакцины против COVID-19 (инактивированные, мРНК, аденовирусные, рекомбинантные белковые), вводимые внутримышечно, эффективно вызывали системный иммунный ответ (прежде всего, циркулирующие IgG и Т-клетки). Однако они слабо стимулировали местный слизистый иммунитет в носоглотке: например, после двух доз мРНК-вакцины BNT162b2 практически не наблюдалось появления вирус-специфического IgA в слюне [118]. Это означает, что вакцинированный человек все еще может инфицироваться вирусом на слизистой и даже передавать его, несмотря на защиту от тяжелого течения. В связи с этим возникла идея о разработке мукозальных вакцин, вводимых через слизистые (чаще интраназально, реже перорально), для индукции локального иммунитета (sIgA,

тканевые резидентные Т- и В-клетки памяти) непосредственно в зоне входных ворот инфекции [52, 91].

**Интраназальные вакцины** показали способность вызывать выработку секреторного IgA. В одном из исследований в Китае медработникам, ранее привитым инактивированными вакцинами, ввели две дозы назальной вакцины Ad5-S-Omicron. Результат – многократное увеличение уровня sIgA в носу (среднее повышение в 51,5 раза после полного курса) и умеренный рост нейтрализующих антител в сыворотке [25]. В ходе наблюдения за привитыми было замечено, что после курса интраназальной вакцины ни у одного участника не возникло симптоматического COVID-19, несмотря на вспышку Omicron-штамма [25]. Авторы сделали вывод, что такая схема создает эффективный иммунный барьер на слизистой и предотвращает инфицирование [25].

Другие исследования подтвердили, что комбинация внутримышечной и последующей интраназальной вакцинации может оптимизировать иммунитет: «гибридная» схема с интраназальным бустером приводит к значительному повышению титров специфического IgA [166], чего не удастся достичь одними только инъекционными дозами.

На данный момент мукозальные вакцины представляют собой перспективный инструмент улучшения локального иммунитета дыхательных путей, и в последующие годы мы, вероятно, увидим расширение их использования в рамках стратегии против COVID-19.

### **Про- и постбиотики, влияние микробиоты на респираторный иммунитет**

Растет количество данных о том, что состояние кишечной и респираторной микробиоты влияет на исход COVID-19, а модуляция микробиоты может быть полезна для поддержки иммунной системы. Концепция «кишечник–легкие» подразумевает, что кишечные микроорганизмы и их метаболиты способны изменять системный и местный иммунный статус дыхательных путей [143]. У пациентов с COVID-19 часто наблюдается дисбактериоз кишечника с уменьшением количества полезных бактерий и их противовоспалительных метаболитов, что потенциально ослабляет иммунный ответ на слизистых. В связи с этим были

предприняты попытки использовать пробиотики, пребиотики и постбиотики для коррекции иммунитета при COVID-19.

**Пробиотики** – живые полезные микробные штаммы – исследовались как дополнение к терапии COVID-19. Предполагалось, что они могут улучшить как кишечные, так и респираторные симптомы за счет иммуномодуляции. Действительно, ряд рандомизированных плацебо-контролируемых исследований показал обнадеживающие результаты. В одном исследовании с участием 300 пациентов с COVID-19 назначение многокомпонентного пробиотика (содержащего три штамма *Lactiplantibacillus plantarum* и один *Pediococcus acidilactici*) на 30 дней привело к значимому улучшению: в кластере пробиотика полное исчезновение симптомов и очищение от вируса к концу наблюдения достигнуто у 53,1% пациентов, тогда как в кластере плацебо – лишь у 28,1% [141]. Кроме того, пробиотик снизил вирусную нагрузку в носоглотке и увеличил титры антител (IgM и IgG) против SARS-CoV-2 по сравнению с контролем [141]. Это указывает на активацию как местного, так и системного иммунитета. В других исследованиях отмечалось сокращение продолжительности диареи, кашля и одышки у инфицированных, получавших пробиотики [143]. Некоторые метаанализы также указывают, что применение пробиотиков у пациентов с COVID-19 связано с сокращением времени до выздоровления и длительности госпитализации, хотя результаты между работами варьируют [142].

**Постбиотики** – это продукты метаболизма пробиотических бактерий или компоненты инактивированных микробов, которые сами обладают биологической активностью. К ним можно отнести короткоцепочечные жирные кислоты (бутират и др.), бактериальные полисахариды, клеточные стенки пробиотиков, иммунные метаболиты. В контексте поддержки мукозального иммунитета интерес представляет, например, лактоферрин – железосвязывающий гликопротеин из секрета слизистых и молозива. Лактоферрин обладает широким противовирусным и иммуномодулирующим действием и рассматривается как естественный фактор защиты слизистых дыхательных путей и кишечника [191]. Было показано, что лактоферрин препятствует прикреплению коронавируса к клеткам, а также может

смягчать воспаление; проводились пилотные испытания добавок лактоферрина у пациентов с COVID-19, в которых отмечена тенденция к более быстрому клиренсу вируса и облегчению симптомов [103].

В настоящее время применение про- и постбиотиков при COVID-19 можно считать вспомогательным направлением с многообещающими результатами первых исследований. Механизмы их действия включают модуляцию системного воспаления, укрепление барьерной функции слизистых и конкуренцию с патогенами на уровне микробиоты. Хотя пока данных недостаточно для однозначных рекомендаций, добавление пробиотиков к стандартному лечению COVID-19 уже включалось в некоторые клинические протоколы, особенно у пациентов с желудочно-кишечными симптомами. Продолжаются исследования, которые должны определить оптимальные штаммы, дозы и комбинации про- и пребиотиков для поддержки иммунитета.

Таким образом, комплексный подход, направленный на восстановление и усиление локального иммунитета дыхательных путей, – перспективное направление в лечении и профилактике COVID-19.

### **1.5 Состояние врожденного и адаптивного иммунитета после перенесенного COVID-19 и роль иммунокоррекции**

Тяжесть острого COVID-19 существенно определяет характер и продолжительность изменений мукозального иммунитета. При легком течении инфекция обычно ограничивается верхними дыхательными путями, и иммунный ответ локальный, хотя и недолго сохраняющийся. Переболевшие легкой формой демонстрируют умеренный подъем sIgA в острой фазе, который быстро снижается (к 3–6 месяцу), возвращаясь к норме [119, 107].

Несмотря на первоначальный подъем sIgA сразу после инфекции, ряд исследований указывает, что мукозальный IgA относительно недолго сохраняется на повышенном уровне. В частности, у пациентов с легким течением COVID-19 специфический IgA к SARS-CoV-2 в слюне достигал максимума вскоре после

болезни, но уже через 6 месяцев снижался до фонового уровня [107]. В то же время системный IgA в сыворотке этих же переболевших обнаруживали до 16 месяцев [107]. Подобные данные получены и для назального секрета: у госпитализированных пациентов с тяжелым течением заболевания назальный IgA к спайковому белку вируса через 9 месяцев после болезни значительно снижался, в то время как местный IgG оставался повышенным до года [145].

В то же время, данные о длительности существования мукозального IgA противоречивы и могут зависеть от тяжести перенесенной инфекции и популяционных особенностей. Например, крупное популяционное исследование в Китае (3421 человек) показало, что у значительной части людей sIgA в носу остается повышенным более 6 месяцев после инфекции. Причем лица с более тяжелыми острыми симптомами COVID-19 имели тенденцию к более высоким уровням IgA в назальном секрете при выздоровлении [93]. Это согласуется с тем, что тяжелое течение обычно сопровождается более мощным иммунным ответом. Однако высокая концентрация sIgA не всегда означает эффективную защиту: показательно, что у тяжелобольных COVID-19 наблюдались очень высокие уровни IgA, но при этом инфекцию контролировать они не могли. В исследовании с участием 169 пациентов (от бессимптомных до критических) обнаружено, что хотя при тяжелом течении вырабатывается мощный системный IgA с нейтрализующей активностью, его секреторная форма на слизистых не предотвращала прогрессирование инфекции [85].

Секреторный IgA играет роль не только в профилактике заражения, но, возможно, и в исходах болезни. Ряд работ показал, что быстрый и мощный подъем sIgA на ранних стадиях COVID-19 ассоциирован с более благоприятным течением [59]. С другой стороны, снижение sIgA после болезни может оставлять дыхательные пути менее защищенными от новых инфекций. Отмечено, что у многих выздоровевших сохраняется пониженный уровень sIgA на слизистых спустя месяцы, что совпадает с повышенной заболеваемостью другими респираторными инфекциями у этих лиц [56]. Так, в кластере пациентов без иммунокорректирующей терапии наблюдалось стойкое угнетение sIgA в слюне и

назальных смывах до 9 месяцев после COVID-19 и у четверти из них развивались повторные респираторные заболевания. Это подчеркивает важность восстановления местного иммунитета. Применение рекомбинантного интерферона (ИНФ)- $\alpha 2b$  местно (в виде интраназального геля в течение 1 месяца) позволило нормализовать уровень sIgA у переболевших COVID-19 [56]. У пациентов 1–3 месяцев после инфекции на фоне терапии ИНФ- $\alpha 2b$  концентрация sIgA в слюне повысилась в 3 раза, в назальных смывах в 1,5 [56]. Одновременно в этой кластере не зарегистрировано ни одного случая повторной инфекции верхних дыхательных путей, тогда как без терапии ИНФ такие случаи составляли до 28%. Таким образом, коррекция мукозального иммунитета (например, интерферонами) показала эффективность в восстановлении секреции IgA и снижении заболеваемости. Эти данные согласуются с представлением, что высокий уровень секреторного IgA на слизистых связан с более благоприятным течением и исходом COVID-19 [149].

Исследования показывают, что COVID-19 вызывает глубокую дисфункцию этих клеток врожденного иммунитета (нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты), причем негативные изменения могут сохраняться недели и месяцы после острой фазы. В норме нейтрофилы, мигрирующие в слизистую дыхательных путей, осуществляют фагоцитоз патогенов и запускают воспалительные реакции. У выздоровевших после COVID-19 обнаружены признаки истощения и обезвреживания этих клеток на уровне слизистого иммунитета. При цитологическом исследовании мазков-отпечатков с поверхности носовой полости у переболевших выявлено резкое увеличение поврежденных и апоптотических нейтрофилов по сравнению со здоровыми [21]. Функциональные тесты показали, что фагоцитарная активность нейтрофилов существенно угнетена: нейтрофилы из назального секрета плохо захватывали и убивали даже собственную условно-патогенную микрофлору [21]. Отмечена неполноценность кислород-зависимого бактерицидного ответа – т.е. снижение «взрыва» (выработки активных форм кислорода) при фагоцитозе. В целом, из слизистой оболочки носа у переболевших выделяются функционально дефектные нейтрофилы, которые имеют сниженные резервы, не завершают фагоцитоз и плохо справляются с захватом микробов 1.

Такой дисбаланс создает предпосылки для роста вторичных бактериальных и вирусных патогенов на фоне реконвалесценции [21].

Причины нейтрофильной дисфункции после COVID-19 связаны с изменениями локальной цитокиновой среды и прямым действием вируса. У переболевших в назальном секрете обнаружено повышенное содержание растворимого маркера апоптоза sCD95 (FAS-рецептора), что указывает на активацию гибели иммунных клеток. Также выявлен одновременный дисбаланс ключевых цитокинов: уровень провоспалительного ИФН- $\gamma$  в носу был резко снижен, тогда как провоспалительный ФНО- $\alpha$  и противовоспалительный ИЛ-10 – повышены (ИЛ-10 почти в 3.9 раза выше нормы). Высокий ИЛ-10 на местном уровне, вероятно индуцированный вирусными белками, подавляет продукцию ИФН- $\gamma$ , что напрямую ведет к снижению внутриклеточной биоцидности нейтрофилов [21]. Одновременно избыток ФНО- $\alpha$  локально усиливает апоптоз и разрушение нейтрофилов. Таким образом, SARS-CoV-2 формирует в очаге инфекции стойкую иммуносупрессивную среду: компенсаторно повышенный ИЛ-10 вместе с высокой концентрацией ФНО- $\alpha$  приводит к функциональному истощению нейтрофилов слизистой. Этот феномен описывается как вирус-индуцированное иммуноподавление на уровне мукозального иммунитета и рассматривается как обоснование для применения иммуномодуляторов у переболевших [21].

COVID-19 известен своим цитокиновым штормом, но важно, что персистирующие цитокиновые сдвиги отмечены и на местном уровне слизистых. У пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением было обнаружено, что некоторые провоспалительные цитокины (ИЛ-2, ИЛ-7, G-CSF, MCP-1, TNF- $\alpha$ ) и иммуносупрессивный ИЛ-10 могут оставаться повышенными в крови и тканях дыхательных путей в течение длительного времени после выздоровления [21, 94, 110, 45]. Такие высокие фоны цитокинов местного воспаления способны поддерживать длительную дисфункцию иммунитета даже после элиминации вируса [21]. Считается, что продолжительная экспрессия вирусных антигенов (или аутоиммунные механизмы) могут поддерживать эту аномальную цитокиновую

среду на слизистых, что лежит в основе некоторых симптомов постковидного периода. Например, высокий местный уровень тех же ИЛ-10 и ФНО- $\alpha$ , как обсуждалось выше, ведет к дефектам в работе нейтрофилов. Дисбаланс между Th1-типом ответа (ИФН- $\gamma$ ) и Th2-типом (ИЛ-10) в пользу последнего на слизистых после COVID-19 рассматривается как нежелательное последствие перенесенной инфекции [21].

При тяжелых формах (особенно требующих госпитализации в ОРИТ) наблюдается с одной стороны гиперергический иммунный ответ, а с другой – его дисрегуляция. Как описано, тяжелый COVID-19 сопровождается очень высокой продукцией ИгА, и цитокинов, однако парадоксальным образом этот мощный ответ не защищает слизистый барьер, а иногда усугубляет повреждение (например, через гипервоспаление, «цитокиновый шторм» и микротромбозы). После выхода из тяжелого состояния последствия для мукозального иммунитета наиболее выражены: продолжительное сохранение повышенных уровней как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-10 и др.) на слизистых, снижение функциональных резервов фагоцитов [21]. Такие пациенты более склонны к развитию постковидного синдрома.

Таким образом, результаты проведенных исследований показывают, что иммунотерапия, направленная на коррекцию мукозального иммунитета при COVID-ассоциированном поражении легких, может улучшать как иммунные показатели, так и клинические исходы. Применение бактериальных лизатов в остром периоде COVID-19 способствует повышению уровня sIgA на слизистых оболочках дыхательных путей и усилению активности фагоцитов уже через 1 месяц [120]. Это сопровождается снижением частоты последующих острых респираторных инфекций и осложнений, а также более быстрым восстановлением пациентов [149].

В целом, коррекция мукозального иммунитета рассматривается как перспективное направление в ведении пациентов с COVID-19. Поддержание высоких уровней sIgA и эффективной работы фагоцитов на слизистых потенциально обеспечивает лучшую защиту от присоединения вторичных

инфекций и способствует благоприятному исходу заболевания. Комплексное применение таких средств в сочетании со стандартной противовирусной и противовоспалительной терапией может уменьшить риск острых респираторных инфекций в восстановительном периоде и повысить резистентность дыхательных путей к патогенам.

## **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1 Материалы исследования**

В период с ноября 2020 по июнь 2022 гг. проведено одноцентровое клиническое наблюдательное исследование на базе федерального государственного казенного учреждения здравоохранения «Главный военный клинический госпиталь войск национальной гвардии Российской Федерации» (ФГКУЗ «ГВКГ ВНГ России») и федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» (ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»). Исследование одобрено Этическим комитетом федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» (г. Москва), протокол заседания Этического комитета № 62/05 от 26.02.2023 г.

### **2.2 Пациенты**

В исследование включены 105 пациентов с COVID-19, госпитализированных для лечения в инфекционное отделение ФГКУЗ «Главный военный клинический госпиталь войск национальной гвардии Российской Федерации».

На госпитальном этапе COVID-19 подтвержден лабораторными исследованиями (мазок на РНК вируса SARS-CoV-2 из верхних дыхательных путей исследован методом полимеразной цепной реакции) и/или клинико-рентгенологически (наличие характерных для COVID-19 клинической картины и признаков вирусного поражения легких). При установлении диагноза, определении тяжести заболевания и назначении лечения руководствовались Временными рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению COVID-19 Министерства здравоохранения Российской Федерации (версия 9 от 26.10.20).

Пациенты, включенные в исследование, соответствовали всем критериям включения и невключения.

Критерии включения: взрослые пациенты (18–60 лет), госпитализированные с COVID- ассоциированным поражением легких.

Критерии невключения: признаки цитокинового шторма (температура тела  $>37,5$  С, частота дыхания  $>22$  в минуту,  $SpO_2 < 92\%$ , С-реактивный белок  $>75$  мг/л, нестабильная гемодинамика,  $КТ > 75\%$ ); отказ пациента от участия в исследовании; тяжелые хронические заболевания органов дыхания и сердечно-сосудистой системы; сахарный диабет; наличие в анамнезе онкологических заболеваний; положительная реакция на вирус иммунодефицита человека, гепатит В и С; прием препаратов иммуноглобулина или переливание крови в течение последних 3 мес. до начала исследования; длительное ( $>14$  дней) применение иммунодепрессантов, глюкокортикостероидов (ГКС); любые оперативные вмешательства в течение 1 мес. до включения в исследование; аутоиммунные заболевания; одновременное участие в другом клиническом исследовании; неспособность к соблюдению условий протокола.

Отдельно было проводился забор материала для определения sIgA у здоровых непривитых и ранее не подвергавшихся инфицированию SARS-CoV-2 лиц ( $n=10$ ) из различных локусов верхних дыхательных путей и измерение исследуемых показателей, медиана измеренных значений была принята за медиану нормы.

Мониторинг отдаленных результатов проведенного лечения осуществлялся путем сбора информации с помощью телефонного опроса выписанных пациентов.

Клинико-инструментальная характеристика больных по группам приводится в соответствующих исследованию главах [9, 10].

### 2.3 Методы исследования

У всех пациентов оценивались демографические показатели, индекс массы тела, симптомы заболевания, сопутствующие заболевания, длительность заболевания до госпитализации, проведенное до госпитализации лечение, данные объективного обследования, результаты проведенных при поступлении лабораторных исследований (общий анализ крови, биохимический анализ крови, С-реактивный белок (СРБ), коагулограмма, уровень D-димера, sIgA в слюне, назальном и фарингеальном соскобах, фагоцитарная активность лейкоцитов) и компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК).

**Дыхательная недостаточность (ДН)** определялась в соответствии с классификацией по степени тяжести, основанной на показателях пульсоксиметрии (SpO<sub>2</sub>).

**Индекс курения (ИК)** рассчитывался по формуле:  $ИК = (\text{количество сигарет в день} \times \text{на количество лет курения}) / 20$  (пачка/лет).

**Индекс массы тела (ИМТ)** рассчитывался для оценки питательного статуса пациентов по общепринятой формуле:  $ИМТ = \text{масса тела (кг)} / \text{рост (м}^2\text{)}$ .

**Пульсоксиметрия (SpO<sub>2</sub>)** проводилась с помощью напалечного пульсоксиметра MD300C.

**Общий анализ крови** (эритроциты, лейкоциты, относительное и абсолютное количество нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и базофилов) проводился на автоматизированном гематологическом анализаторе ХЕ 2100 (Sysmex Corporation, Япония). Использовались образцы цельной крови, взятой у пациентов при поступлении.

**Секреторный иммуноглобулин А (sIgA)** Уровень sIgA в слюне, назальном и фарингеальном соскобах определялся в 3 временных точках: при поступлении; через 14 и 30 дней с момента госпитализации. При заборе слюны исключался прием пищи в течение 4-х часов и непосредственно перед забором биоматериала производилось трехкратное полоскание полости рта физиологическим раствором. Слюну собирали в одноразовые стерильные пробирки типа «Эппендорф» 1,5 мл в

количестве 0,5-1,0 мл. Соскобы со слизистой ротоглотки и носоглотки проводили щитощетками «Юнона» ТУ ВУ 300046934.013-2008 (ЗАО «Медицинское предприятие Симург», Республика Беларусь), вращательными движениями с поверхности небных дужек, миндалин и задней стенки ротоглотки, избегая поверхности языка и слизистой щек и по наружной стенке полости носа на глубину 2-3см до нижней носовой раковины. Рабочую часть зонда помещали в стерильные пробирки типа «Эппендорф» 1,5 мл, которые предварительно заполняли физиологическим раствором хлорида натрия (Натрия хлорид-СОЛОфарм Полифлак р-р д/инф 0.9% флаконы пластик 2 порта, ООО «Гротекс», Россия).

Исследование проводилось с помощью метода твердофазного иммуноферментного анализа (Вектор Бест, РФ). Регистрацию результатов проводили на иммуноферментном фотометре микропланшетного типа «Мультискан Ascent» (Thermo Electron Corporation, Финляндия). Метод определения основан на двухстадийном сэндвич-методе твердофазного иммуноферментного анализа с применением моноклональных к секреторному компоненту  $\alpha$ -цепи IgA. Калибровочные пробы с известной концентрацией sIgA и анализируемые образцы инкубировались в лунках планшета с иммобилизованными моноклональными антителами к sIgA. Степень окраски была пропорциональна концентрации sIgA в анализируемом образце. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывалась концентрация sIgA в анализируемых образцах.

**Фагоцитарная активность (ФА)** моноцитов и гранулоцитов (нейтрофилов) периферической крови определялась в 3 временных точках: при поступлении; через 14 и 30 дней с момента госпитализации. Исследование проводилось на проточном цитофлуориметре FC-500 Beckman Coulter путем определения ФА лейкоцитов периферической крови по отношению к *Staphylococcus aureus*. Доля флуоресцирующих (фагоцитировавших) нейтрофилов и моноцитов периферической крови (нейтрофильный (НИ) и моноцитарный (МИ) индексы) высчитывалась автоматически и выводилась в соответствующих гистограммам таблицах статистики.

Обработка биоматериала проводилась в лаборатории вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний с использованием сертифицированного оборудования центра коллективного пользования ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»

**Компьютерная томография органов грудной клетки (КТ ОГК)** проводилась на спиральном компьютерном томографе Aquillion TSX-101A (Toshiba Medical Medical Systems, Япония), толщина среза – 1 мм, pitch – 1,5) при поступлении. Для оценки выраженности (объем, площадь, протяженность) изменений в легких у пациентов с предполагаемой/известной COVID-ассоциированной пневмонией использовалась адаптированная эмпирическая визуальная шкала, основанная на визуальной оценке примерного объема уплотненной легочной ткани с наибольшим поражением: отсутствие характерных проявлений (КТ-0); минимальный объем/распространенность (<25% объема легких) (КТ-1); средний объем/распространенность (25–50% объема легких) (КТ-2); значительный объем/распространенность (50–75% объема легких) (КТ-3); субтотальный объем/распространенность (>75% объема легких) (КТ-4).

## 2.4 Схемы лечения

Все пациенты получали стандартную терапию согласно степени тяжести COVID-19, указанной в клинических рекомендациях Министерства здравоохранения Российской Федерации (фавипиравир 200 мг по схеме, эноксапарин 0,4 мг в сутки подкожно, дексаметазон 8–12 мг в сутки. Тоцилизумаб и другие генно-биологические препараты исследуемые пациенты не получали, так как показанием к их назначению уровень С-реактивного белка (СРБ)  $\geq 60$  мг/л [3].

Далее пациенты со среднетяжелым COVID-ассоциированным поражением легких с целью рандомизации случайным образом были распределены на две группы: 1-я группа (контроль), в которую вошло 39 человек в возрасте 42 (33–54) лет; 26 мужчин и 13 женщин. Данная когорта пациентов получала только стандартную терапию COVID-19 в соответствии с клиническими рекомендациями

[2]. Во 2-ю группу (основную) включены 32 человека в возрасте 42 (37–45) лет; 25 мужчины и 7 женщин. Эта группа пациентов дополнительно к стандартной терапии COVID-19 получала бактериальный лизат Иммуновак-ВП-4 с учетом показаний и противопоказаний согласно инструкции, прилагаемой к препарату.

Препарат бактериальных лизатов Иммуновак-ВП-4 состоит из антигенов условно-патогенных микроорганизмов и является поликомпонентной смесью водорастворимых антигенов микробных клеток *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*). Препарат разрешен к применению для подкожного введения (регистрационное удостоверение МЗ РФ номер ЛСР-001294/10 от 24.02.2010) и назально-перорального введения (ЛСР-001293/10 от 24.02.2010). Производство вакцины освоено ФГУП «НПО «Микроген» (г. Уфа, Россия).

Препарат вводился по комбинированной схеме: интраназально, затем внутрь (per os). Препарат во флаконе непосредственно перед применением с помощью шприца разводился 2 мл раствора натрия хлорида 0,9% для инъекций комнатной температуры и перемешивался. Интраназально препарат вводился медицинской пипеткой, перорально необходимый объем препарата шприцем переносился в ложку.

#### *Схема, доза и сроки введения вакцины*

Иммуновак-ВП-4 после приготовления раствора к употреблению назначали пациентам по 2 капли (1 мг) интраназально в каждую половину носа ежедневно и перорально через день по схеме 0,05 (0,5) - 0,1 (1,0) – 0,2 (2,0) – 0,2 (2,0) – 0,3 (3,0) – 0,3 (3,0) мл (мг) в течение 11-ти дней нахождения в стационаре, что соответствовало кратности приема интраназальной и пероральной форм препарата.

## **2.5 Статистический анализ**

Статистическая обработка данных производилась с использованием пакета прикладных программ GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) и

в свободно распространяемой статистической среде R (v.3.6, лицензия GNU GPL2) [9, 10].

Проверка данных на соответствие нормальному закону распределения (применялся критерий Шапиро-Уилкса) показала, что распределение большинства рассматриваемых показателей отлично от нормального. Описательная статистика исходных количественных признаков представлена медианой, интерквартильным размахом и 95% доверительным интервалом (Me(SD)/Med(Q1;Q3). Сравнение по количественному признаку между тремя группами исследования проводилось с помощью критерия Краскела-Уоллиса; апостериорные сравнения между группами проводились при помощи критерия Данна. Сравнение двух выборок по количественному признаку проводилось с помощью критерия Манна-Уитни [9].

Для качественных признаков определяли абсолютные и относительные (в %) частоты; для относительных показателей рассчитывался 95% доверительный интервал (по методу Вилсона). Сравнение трех групп по качественным номинальным показателям проводили в ходе анализа таблиц сопряженности критерием хи-квадрат ( $\chi^2$ ), апостериорные сравнения приводились точным критерием Фишера с поправкой Холма-Бонферрони. Сравнение двух групп приводилось с помощью критерия  $\chi^2$  либо критерия Фишера при наличии ячеек с ожидаемыми частотами менее 5% [10].

Оценку различий сроков госпитализации пациентов в зависимости от проведенного лечения выполняли с помощью метода Каплана-Майера и логрангового теста (log-rank). Рассчитывались коэффициент заболеваемости его 95% доверительный интервала (intensive rate (IR)) и показатель относительного риска заболеваемости с указанием 95% доверительного интервала (intensive rate ratio (IRR)) с применением модели Пуассона с избыточным числом нулей (Zero Inflated Poisson regression). Для поиска связей между количественными показателями использовали ранговый корреляционный анализ по Спирмену (rs); линейная аппроксимация на диаграммах рассеяния выполнялась методом робастной регрессии на основе адаптированного алгоритма Левенберга-Марквардта. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## 2.6 Дизайн исследования

I. Одномоментное поперечное исследование мукозального иммунитета (sIgA) и показателей фагоцитарной активности лейкоцитов у пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких.

II. Проспективное открытое контролируемое исследование по применению препарата бактериальных лигандов Иммуновак-ВП-4 у больных с COVID-ассоциированным поражением легких средней степени тяжести.

III. Проспективное открытое контролируемое исследования частоты новых случаев ОРВИ и пневмонии через 1 месяц после COVID-19 в зависимости от проведенного лечения (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Дизайн исследования и количество пациентов на каждом этапе исследования

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1 Особенности клинического течения COVID-19 у госпитализированных пациентов

В исследование включены 105 пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19: 69 мужчин, 36 женщин; средний возраст – 43,5 (37,0; 51,0) года; индекс массы тела – 27,4 (25,0; 30,1) кг/м<sup>2</sup>; средняя длительность заболевания до госпитализации – 6 (4; 8) дней).

Наиболее часто встречающимися жалобами у исследуемых пациентов являлись повышение температуры тела (70,5%), кашель (80%) и слабость (60,9%) (Таблица 1).

Таблица 1 – Распространенность клинических симптомов COVID-19 у исследуемых пациентов

Жалобы	Распространенность, чел/%, n=105
Повышение t тела	74 (70,5%)
Кашель (сухой или с небольшим количеством мокроты)	84 (80%)
Одышка	32 (30,5%)
Слабость	64 (60,9%)
Утомляемость	64 (60,9%)
Ощущение заложенности в грудной клетке	30 (28,6%)
Потеря обоняния и вкуса	22 (21%)

Из них с тяжелым поражением легких (КТ III) было 2 (1,9%) пациента, со среднетяжелым поражением легких (КТ II) – 69 (65,7%) пациентов, с легким поражением легких (КТ I) – 34 (32,4%) пациента.

Учитывая, что тяжесть COVID-19 определяется совокупностью факторов, был проведен кластерный анализ, разделяющий всех пациентов (n=105) на основе ряда показателей на два кластера. В качестве факторов для кластерного анализа были отобраны следующие показатели: уровень сатурации крови кислородом (SpO<sub>2</sub>) как показатель поражения легких; СРБ, характеризующий интенсивность

воспалительных процессов в организме, аспаратаминотрансфераза (АСТ), повышенный уровень которой также характеризует выраженность системного воспаления при COVID-19. Результаты кластерного анализа приведены на рисунке 2, в Таблице 3. Силуэтная мера, характеризующая качество кластеризации, равна 0,65, что можно интерпретировать как обоснованное разделение [98].

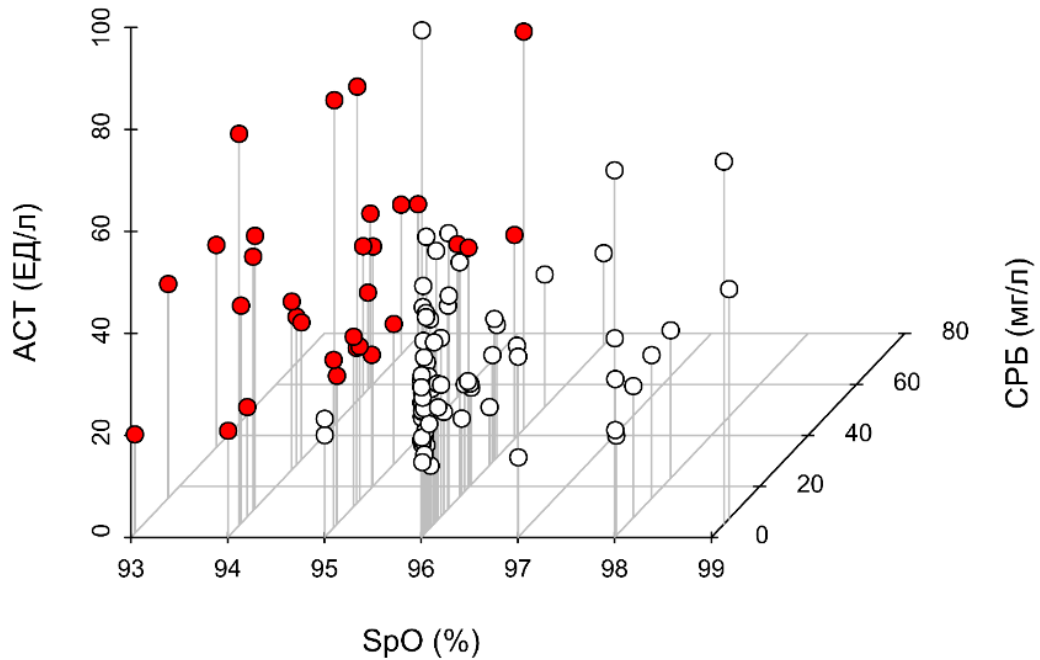


Рисунок 2 – Результаты кластерного анализа пациентов с COVID-19 при поступлении в стационар

Первый выделенный кластер, по сравнению со вторым, характеризуется более высоким уровнем СРБ (20,1 (10,9; 43,2) мг/мл против 2,2 (0,3; 10,7) мг/мл,  $p < 0,001$ ), более высоким АСТ (32,9 (28,2; 44,9) ЕД/л и 26,2 (20; 34,9) ЕД/л,  $p = 0,003$ ) и более низким уровнем сатурации (92 (92; 94) % против 95 (95; 95) %,  $p < 0,001$ ). Показатель поражения легких по данным КТ ОГК не был включен непосредственно в кластерный анализ из-за сильной связи со  $SpO_2$  (показатель которой в данном случае показал чуть более высокую дифференцирующую способность), но, стоит отметить, статистически значимую разницу и существенное различие медианы данного показателя в выделенных кластерах (35 (30; 43,5) % против 12 (7; 18) %,  $p < 0,001$ ).

Таблица 2 – Клиническая и лабораторно-инструментальная характеристика исследуемых пациентов с COVID-19

Показатели	Вся выборка, n=105	Среднетяжелое течение, n=71	Легкое течение, n=34	p
	Me(SD)/ Med(Q1; Q3)	Me(SD)/ Med(Q1; Q3)	Me(SD)/ Med(Q1; Q3)	
Возраст, лет	43,5 (10,7)	44,8 (11,3)	42,9 (10,5)	0,44
Длительность заболевания до госпитализации, дни	6 (4; 8)	6 (3,5; 7,5)	5 (4; 8)	0,83
Койко-дней, дни	18 (14; 24)	22 (17,5; 26,5)	17(14; 21,8)	0,011
Длительность лихорадки, дни	1 (0; 4)	1 (1; 5)	1(0; 4)	0,22
ЧДД, в мин	19 (19; 20)	23 (20; 23)	19 (19; 18)	<0,001
ЧСС, в мин	74 (67; 87)	92 (83,5; 94)	69,5(65,2; 76,8)	<0,001
SpO <sub>2</sub> , %	94 (94; 95)	92 (92; 94)	95 (95; 95)	<0,001
КТ ОГК (%)	15 (10; 30)	35 (30; 43,5)	12(7; 18)	<0,001
Лейкоциты ×10 <sup>9</sup> л	5 (3,7; 6,9)	5,3 (3,6; 7,1)	5(3,8; 6,3)	0,84
Эритроциты ×10 <sup>12</sup> л	5 (0,6)	4,8 (0,7)	5(0,5)	0,07
Гемоглобин, г/л	146 (135; 156)	145 (136; 154)	147 (134; 156)	0,93
Тромбоциты ×10 <sup>9</sup> л	221,8 (64,5)	205 (53,6)	228,6 (67,5)	0,06
С/я нейтрофилы, %	66 (57,3; 75)	69 (63; 77,5)	64 (53,6; 72,2)	0,02
П/я нейтрофилы, %	6,7 (3,8)	6 (3,7)	7,1 (3,9)	0,33
Нейтрофилы ×10 <sup>9</sup> л	3,1 (2,2; 4,9)	3,4 (2,5; 5,4)	2,9 (2,1; 4,4)	0,30
Лимфоциты, %	23,5 (12,1)	18,1 (8,6)	25,7 (12,7)	<0,001
Лимфоциты ×10 <sup>9</sup> л	1,2 (0,7)	0,99 (0,57)	1,3 (0,7)	0,011
СОЭ, мм/ч	25 (16; 34)	28 (20; 38)	21 (16; 30)	0,05
Нейтрофилы/ лимфоциты	0,72 (0,31; 2,34)	1,11 (0,19; 3,6)	0,72 (0,37; 1,8)	0,94
АЛТ, ед/л	30,9 (19,6; 48)	35 (26; 50,5)	29,1 (18,7; 44,7)	0,15
АСТ, ед/л	29 (21; 39)	32,9 (28,2; 44,9)	26,2 (20; 34,9)	0,003
Мочевина, ммоль/л	5,2 (1,6)	5,2 (1,4)	5,2 (1,7)	0,93
Креатинин, мкмоль/л	88,5 (76,6; 106)	88,5 (77,8; 107)	88,2 (75,9; 105,3)	0,82
Глюкоза, ммоль/л	6,9 (5,7; 7,8)	7,4 (6,3; 7,9)	6,8 (5,5; 7,8)	0,22
СРБ, мг/л	5,5 (0,7; 20,1)	20,1 (10,9; 43,2)	2,15 (0,34; 10,67)	<0,001
D-димер, нг/мл	276 (104,5; 456)	191 (100; 446,8)	285 (166; 461)	0,46
Фибриноген, г/л	3 (2,5; 3,8)	3 (2,7; 4,2)	2,9 (2,5; 3,7)	0,40

Примечание: SpO<sub>2</sub> – сатурация крови кислородом; ЧДД – частоты дыхательных движений в минуту; ЧСС – частота сердечных сокращений в минуту; КТ ОГК– компьютерная томография органов грудной клетки; С/я – сегментоядерные нейтрофилы; п/я – палочкоядерные нейтрофилы; АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза; СРБ – С-реактивный белок; СОЭ-скорость оседания эритроцитов

Таким образом, согласно клиническим рекомендациям [3], пациенты первого кластера (n=71) подходили под критерии среднетяжелого течения COVID-19 и в 97 % (69 человек) имели среднетяжелое (КТ 25-50%) поражение легких, а пациенты

второго кластера (n=34) – под критерии легкого течения COVID-19 и имели легкое (КТ 0-25%) поражение легких (Таблица 2, Рисунок 3).

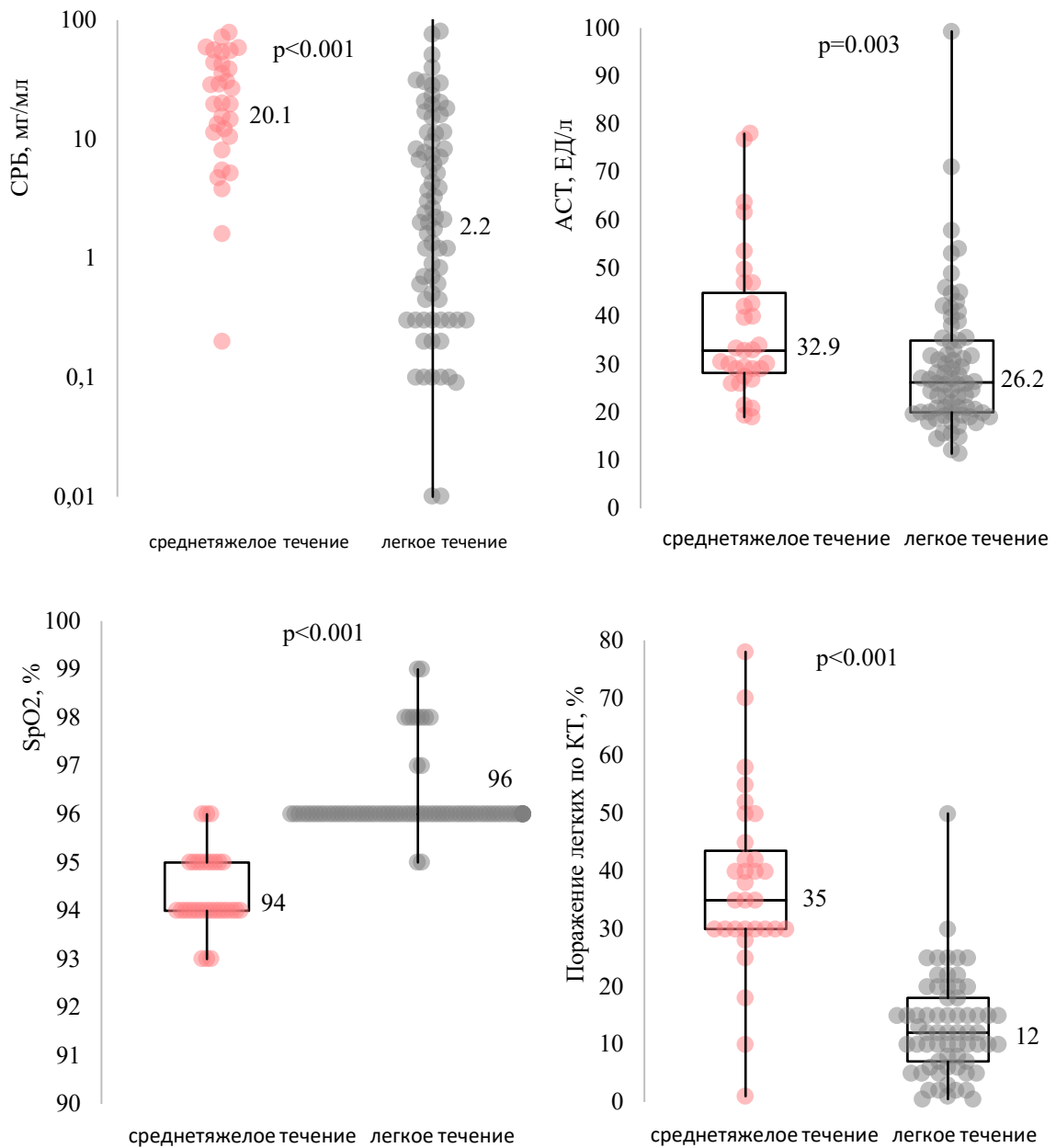


Рисунок 3 – Результаты кластерного анализа пациентов с COVID-19 при поступлении в стационар (отдельно каждый фактор)

Выделенные кластеры не зависели от длительности заболевания на момент госпитализации (6 (3,5; 7,5) дней в кластере со среднетяжелым течением и 5 (4; 8) дней в кластере с легким течением,  $p=0,83$ ) и возраста пациентов (45 (38; 51) лет и 43 (37,2; 47) года соответственно,  $p=0,47$ ). В кластере со среднетяжелым течением была несколько выше доля мужчин по сравнению с кластером более легких

пациентов (80% 25/31 против 60% 45/74,  $p=0,08$ ). Длительность лихорадки не различалась в выделенных кластерах тяжести (1 (1; 5) день в кластере со среднетяжелым течением и 1 (0; 4) день в кластере с более легким течением пациентов,  $p=0,22$ ), но длительность госпитализации (дней в стационаре) была статистически значимо выше в кластере среднетяжелых пациентов по сравнению с более легкими (22 (17,5; 26,5) дня против 17 (14; 21,8) дней,  $p=0,01$ ).

### 3.2 Исследование уровня sIgA у госпитализированных пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких

У исследуемых пациентов уровень sIgA определялся в трех средах: в слюне, в фарингеальном и назальном соскобах. Определение исходного уровня sIgA в слюне, назальном и фарингеальном соскобах у исследуемых пациентов показало статистически значимые различия по сравнению с их значениями в норме (Рисунок 4, Таблица 3).

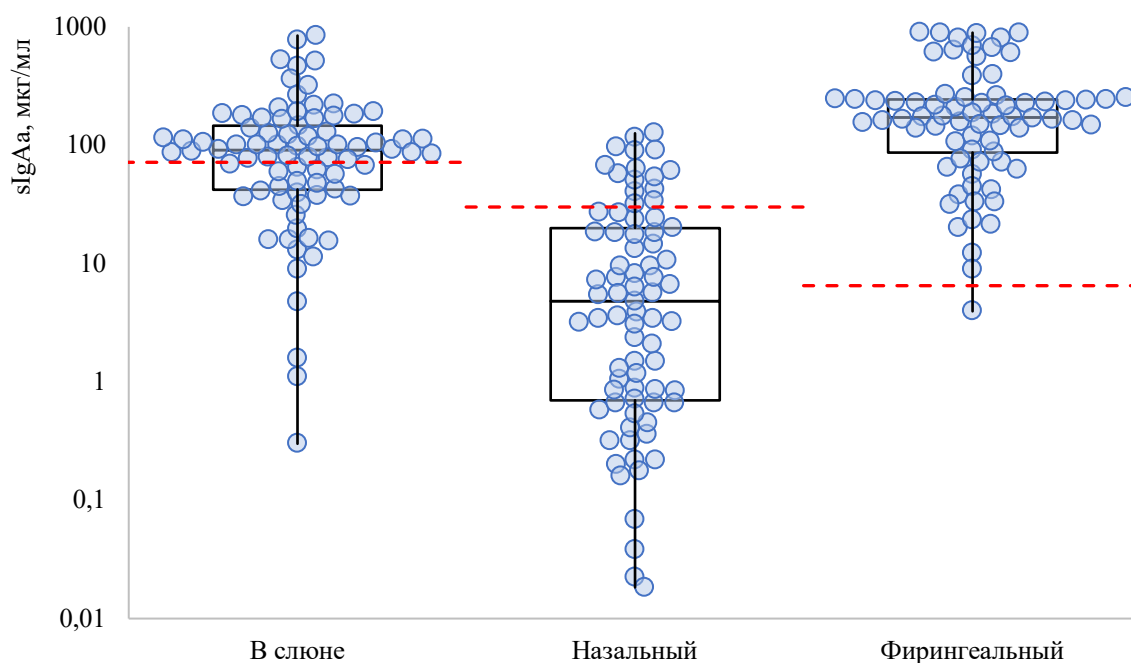


Рисунок 4 – Исходный уровень sIgA в разных точках забора материала исследования. Красной линией выделены нормативы (в слюне – 71,7 мкг/мл, назальный соскоб – 29,9 мкг/мл, фарингеальный соскоб – 6,5 мкг/мл)

Таблица 3 – Уровень sIgA в разных точках забора материала исследования исходно

Точка забора материала исследования	sIgA – Med(Q1-Q3)	Норма	p
В слюне	172,1 (86,9; 244,0)	71,7	<0,001
Назальный соскоб	91,4 (42,3; 145,9)	29,9	<0,001
Фарингеальный соскоб	4,8 (0,7; 20,0)	6,5	<0,001

Примечание: p – тест Вилкоксона для связанных выборок.

Анализ исходных показателей выявил статистически значимую обратную корреляцию между уровнем назального sIgA и уровнем СРБ ( $\rho = -0,29$  [95%ДИ: от -0,48 до -0,07],  $p=0,01$ ), АСТ ( $\rho = -0,30$  [95%ДИ: от -0,49 до -0,09],  $p=0,007$ ) и КТ ( $\rho = -0,23$  [95%ДИ: от -0,44 до -0,005],  $p=0,045$ ) (Рисунок 5) [174].

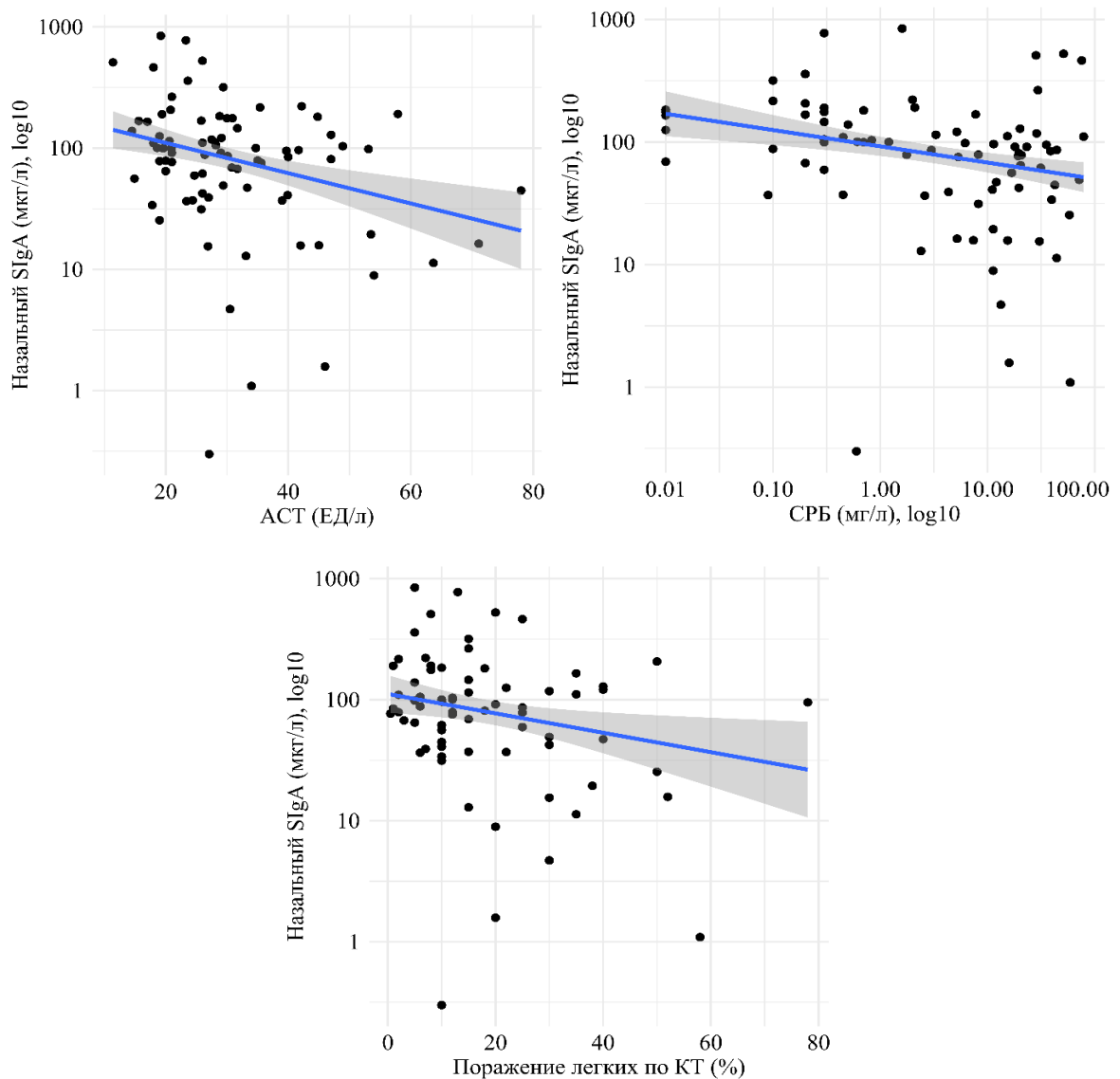


Рисунок 5 – Взаимосвязь исходного уровня назального sIgA с уровнем АСТ, СРБ и площадью поражения легких по КТ ОГК

Также была выявлена обратная взаимосвязь уровня фарингеального sIgA и концентрации СРБ ( $\rho=-0,34$  [95%ДИ: от -0,52 до -0,12],  $p=0,003$ ), и прямая корреляция уровня sIgA в слюне и  $SpO_2$  ( $\rho=0,25$  [95%ДИ: от 0,02 до 0,45],  $p=0,03$ ) (Рисунок 6).

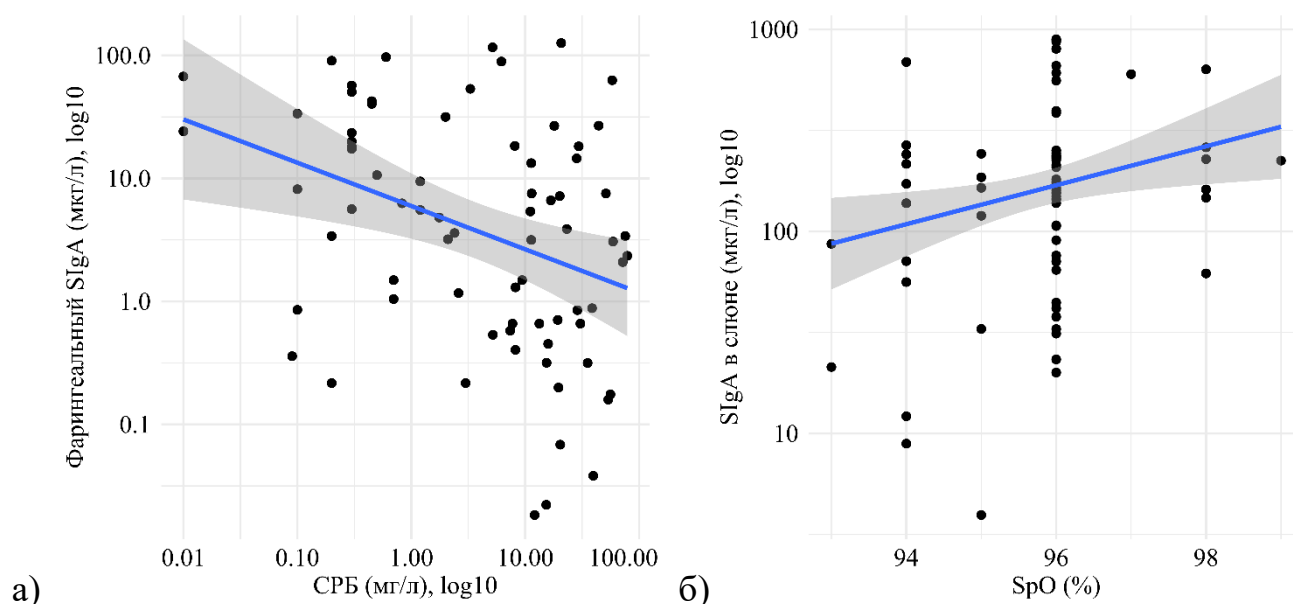


Рисунок 6 –Взаимосвязь (а) исходного уровня фарингеального sIgA и концентрации СРБ; (б) исходного уровня sIgA в слюне и  $SpO_2$

Таким образом, более высоким значениям sIgA соответствуют более низкие значения СРБ, АСТ и объема поражения легких по КТ и более высокий уровень  $SpO_2$ .

Далее представлен анализ уровня секреторного IgA в зависимости от выделенного кластера тяжести на момент госпитализации (от начала заболевания 6 (4; 8) дней). Было выявлено, что уровень назального, фарингеального IgA и sIgA в слюне был статистически значимо ниже в кластере пациентов со среднетяжелым течением по сравнению с группой пациентов с легким течением: 47,1 (17,6; 102,9) мкг/л против 97,2 (60; 168) мкг/л ( $p=0,02$ ), 0,8 (0,3; 3,1) мкг/л против 6,5 (1,2; 24) мкг/л ( $p=0,007$ ), 90,5 (32,9; 185,4) мкг/л против 210,6 (144; 354,8) мкг/л ( $p=0,007$ ) соответственно (Рисунок 7).

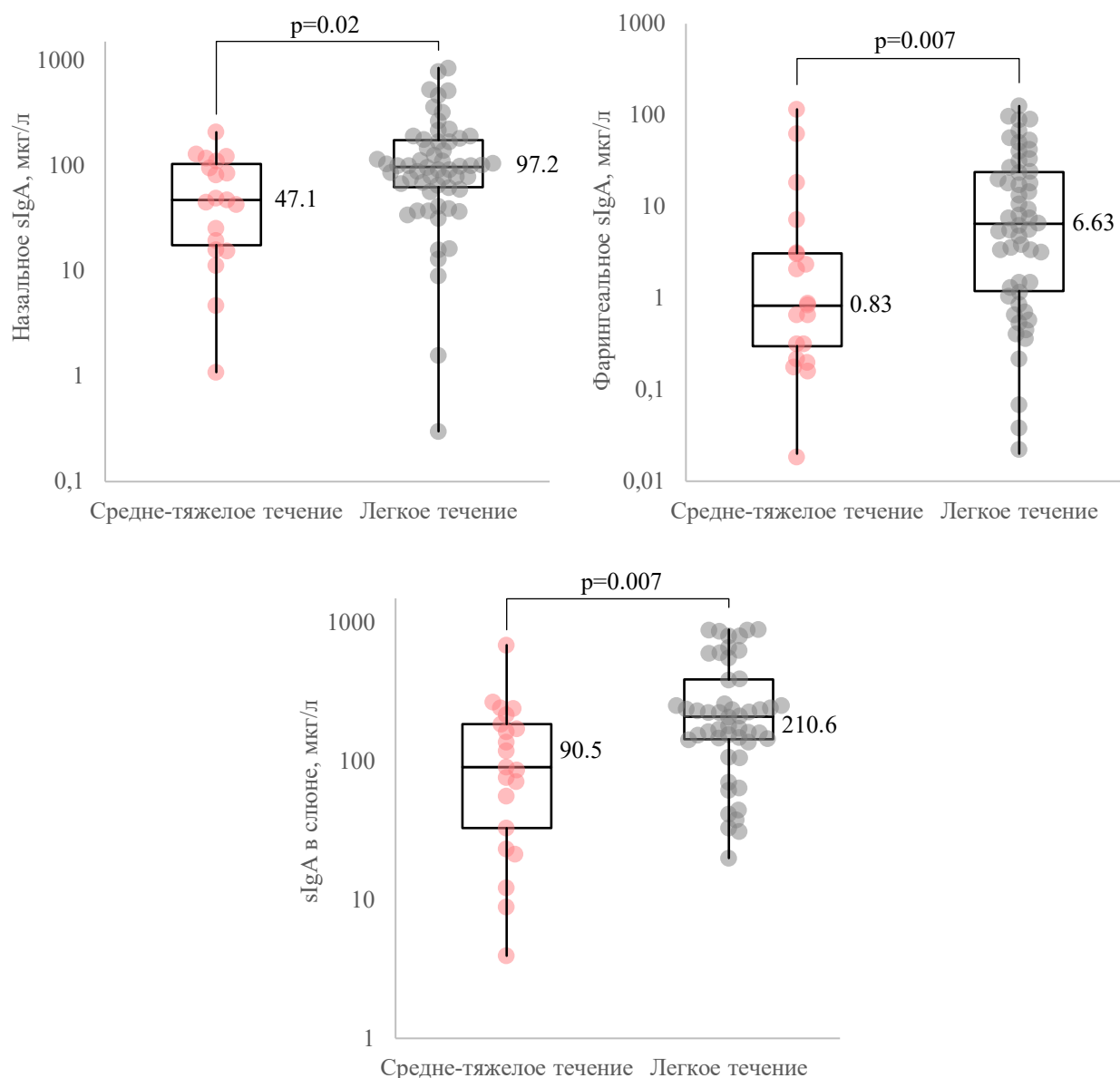


Рисунок 7 – Исходный уровень секреторного IgA в зависимости от тяжести пациентов

На следующем этапе проводился анализ динамики показателей в зависимости от выделенных кластеров тяжести. Дальнейший анализ проводился только у пациентов, получавшей стандартное лечение по поводу COVID-19 (со среднетяжелым течением  $n=39$ , с легким течением  $n=34$ ). Степень тяжести каждого пациента устанавливалась на основе предыдущего кластерного анализа, проведенного на всей выборке, повторная кластеризация не приводилась. Практически все различия между кластерами, которые были выявлены на всей выборке, также сохранились и при анализе только пациентов, получавших стандартное лечение по поводу COVID-19: пациенты со среднетяжелым течением

характеризовалась более высоким уровнем АСТ (33 (29,5; 45,9) ЕД/л против 27,1 (22,7; 35) ЕД/л,  $p=0,03$ ), СРБ (23,3 (12,7; 51,9) мг/л против 1,2 (0,3; 6) мг/л,  $p<0,001$ ) и более низкой  $SpO_2$  (95 (94; 95)% против 96 (96; 96) %,  $p<0,001$ ), секреторный IgA в кластере пациентов со среднетяжелым течением, чем в кластере пациентов с легким течением: 73,6 (30,5; 177,3) мкг/л против 236,4 (143,7; 493,2) мкг/л в слюне ( $p=0,03$ ), 1,5 (0,3; 5,9) мкг/л против 7,5 (3,2; 33,6) мкг/л в фарингеальном соскобе ( $p=0,07$ ), 49,2 (45,9; 99,4) мкг/л против 99,9 (61,4; 168) мкг/л в назальном соскобе ( $p=0,09$ )

Уровень назального sIgA не показал статистически значимого изменения относительно исходного уровня ни в целом, ни в зависимости от степени тяжести: динамика через 14 дней –  $p=0,75$ , динамика через 30 дней –  $p=0,52$ , степень тяжести при госпитализации (исходная) –  $p=0,15$ , динамика через 14 дней в зависимости от исходной степени тяжести ( $p=0,3$ ), динамика через 30 дней в зависимости от исходной степени тяжести ( $p = 0,9$ ).

В то же время для фарингеального sIgA были выявлены статистически значимые изменения через 14 дней относительно исходного уровня, которые зависели от степени тяжести: динамика через 14 дней ( $p<0,001$ ), динамика через 30 дней ( $p=0,64$ ); динамика через 14 дней в зависимости от исходной степени тяжести ( $p<0,001$ ), динамика через 30 дней в зависимости от исходной степени тяжести ( $p=0,57$ ) (Рисунок 8).

В кластере среднетяжелых пациентов отмечалось статистически значимое увеличение уровня фарингеального sIgA через 14 дней после госпитализации (с 1,5 (0,3; 5,9) мкг/л до 63,4 (17,8; 101,2) мкг/л,  $p<0,001$ ) с последующим снижением через 30 дней (с 63,4 (17,8; 101,2) мкг/л до 11,3 (9,1; 14) мкг/л,  $p<0,001$ ). В результате данного роста через 14 дней уровень фарингеального sIgA в кластере пациентов со среднетяжелым течением стал статистически значимо выше, чем в кластере пациентов с легким течением (63,4 (17,8; 101,2) мкг/л против 7,5 (3,2; 33,6) мкг/л,  $p<0,001$ ), через 30 дней уровень фарингеального sIgA статистически значимо у исследуемых пациентов не различался.

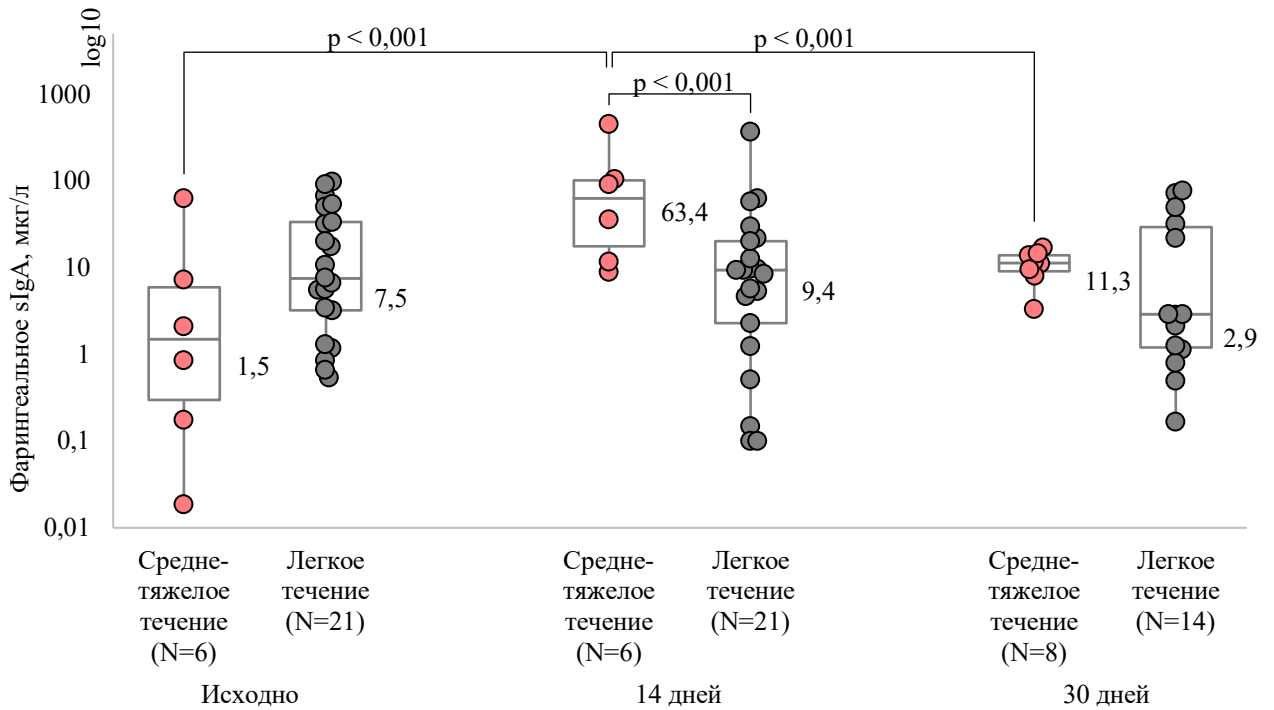


Рисунок 8 – Динамика фарингеального sIgA в зависимости от степени тяжести на момент госпитализации (у пациентов группы контроля)

Динамика sIgA в слюне зависела от исходной степени тяжести, статистически значимые изменения наблюдались как через 14 дней, так и через 30 дней: динамика через 14 дней ( $p=0,16$ ), динамика через 30 дней ( $p=0,004$ ); динамика через 14 дней в зависимости от исходной степени тяжести ( $p=0,05$ ), динамика через 30 дней в зависимости от исходной степени тяжести ( $p=0,002$ ) (Рисунок 9). Исходный уровень sIgA в слюне был выше в кластере пациентов с легким течением по сравнению со среднетяжелыми пациентами, но через 14 дней уровень sIgA в кластере легких пациентов статистически значимо снизился (с 236,4 (143,7; 493,2) мкг/л до 154,2 (105; 200) мкг/л,  $p=0,04$ ), через 30 дней показатель оставался ниже исходного - 158,3 (117; 198,8) мкг/л против 236,4 (143,7; 493,2) мкг/л ( $p=0,05$ ). Уровень sIgA в слюне в кластере среднетяжелых пациентов (исходно более низкий), напротив, через 30 дней после госпитализации вырос относительно исходного уровня с 73,6 (30,5; 177,3) мкг/л до 199,3 (165; 226,6) мкг/л ( $p=0,05$ ).

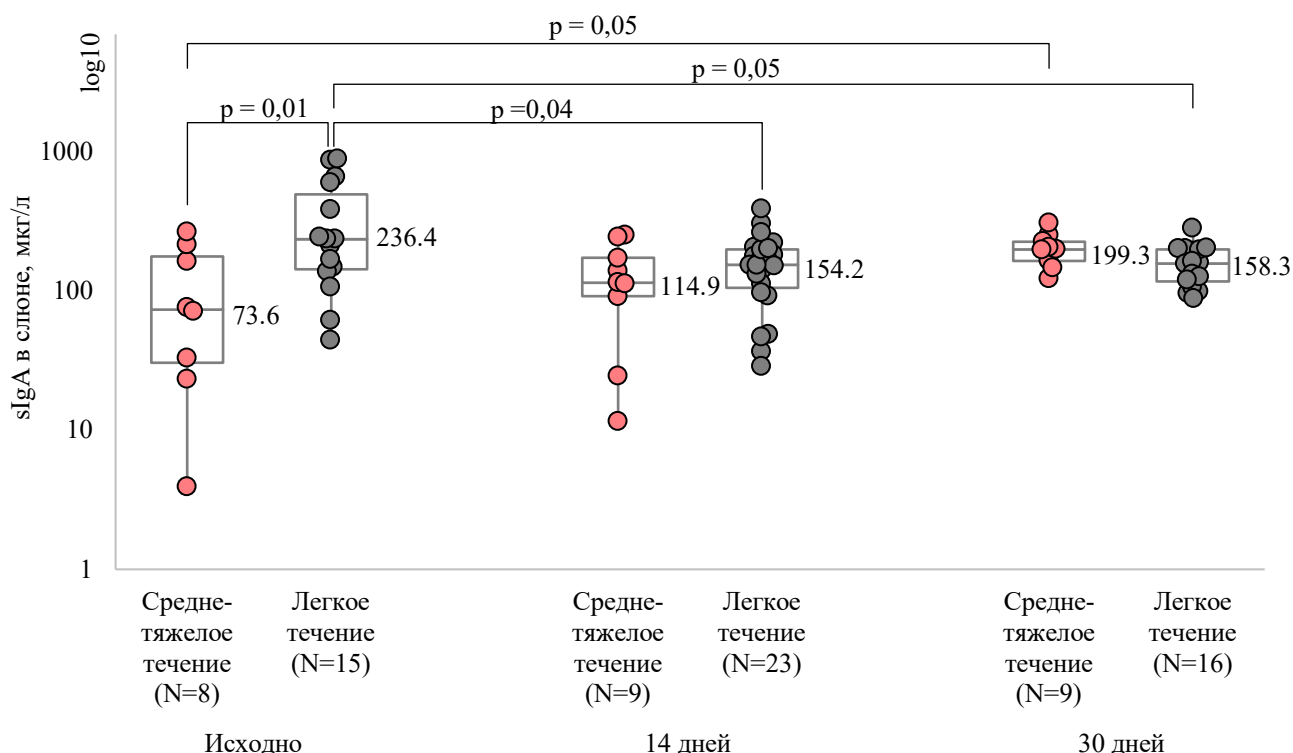


Рисунок 9 – Динамика sIgA в слюне в зависимости от степени тяжести на момент госпитализации

### 3.3 Исследование фагоцитарной активности лейкоцитов у исследуемых пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких

Для определения фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов в периферической крови использовался нейтрофильный и моноцитарный индекс. Исходный нейтрофильный индекс (НИ) составил 97,9 (96,3; 99) %, моноцитарный индекс (МИ) – 91,2 (84,6; 95) %. В целом, полученные результаты находились в интервале нормальных референсных значений (Таблица 4).

Таблица 4 – Показатели исходного уровня фагоцитарной активности лейкоцитов у исследуемых пациентов

Показатели	Все пациенты n=105	Среднетяжелое течение, n=71	Легкое течение n=34	p
	Me(SD)/ Med(Q1; Q3)	Me(SD)/ Med(Q1; Q3)	Me(SD)/ Med(Q1; Q3)	
Моноцитарный индекс крови, %	91,2(84,6; 95)	86,7(81,4; 91,7)	92,6(86,5; 95,4)	0,012

## Продолжение Таблицы 4

Нейтрофильный индекс крови, %	97,9(96,3; 99)	98(95,2; 98,8)	97,8(96,5; 99)	0,73
-------------------------------	----------------	----------------	----------------	------

Корреляционный анализ выявил статистически значимую прямую корреляцию моноцитарного индекса в крови и показателя  $SpO_2$  ( $\rho=0,21$ [95%ДИ: от 0,005 до 0,39],  $p=0,04$ ); обратную корреляцию моноцитарного индекса в крови с уровнем СРБ ( $\rho=-0,31$ [95%ДИ: от -0,11 до -0,48],  $p=0,003$ ) и степенью поражения легких по КТ ( $\rho=-0,2$ [95%ДИ: от -0,11 до -0,48],  $p=0,05$ ) (Рисунок 10).

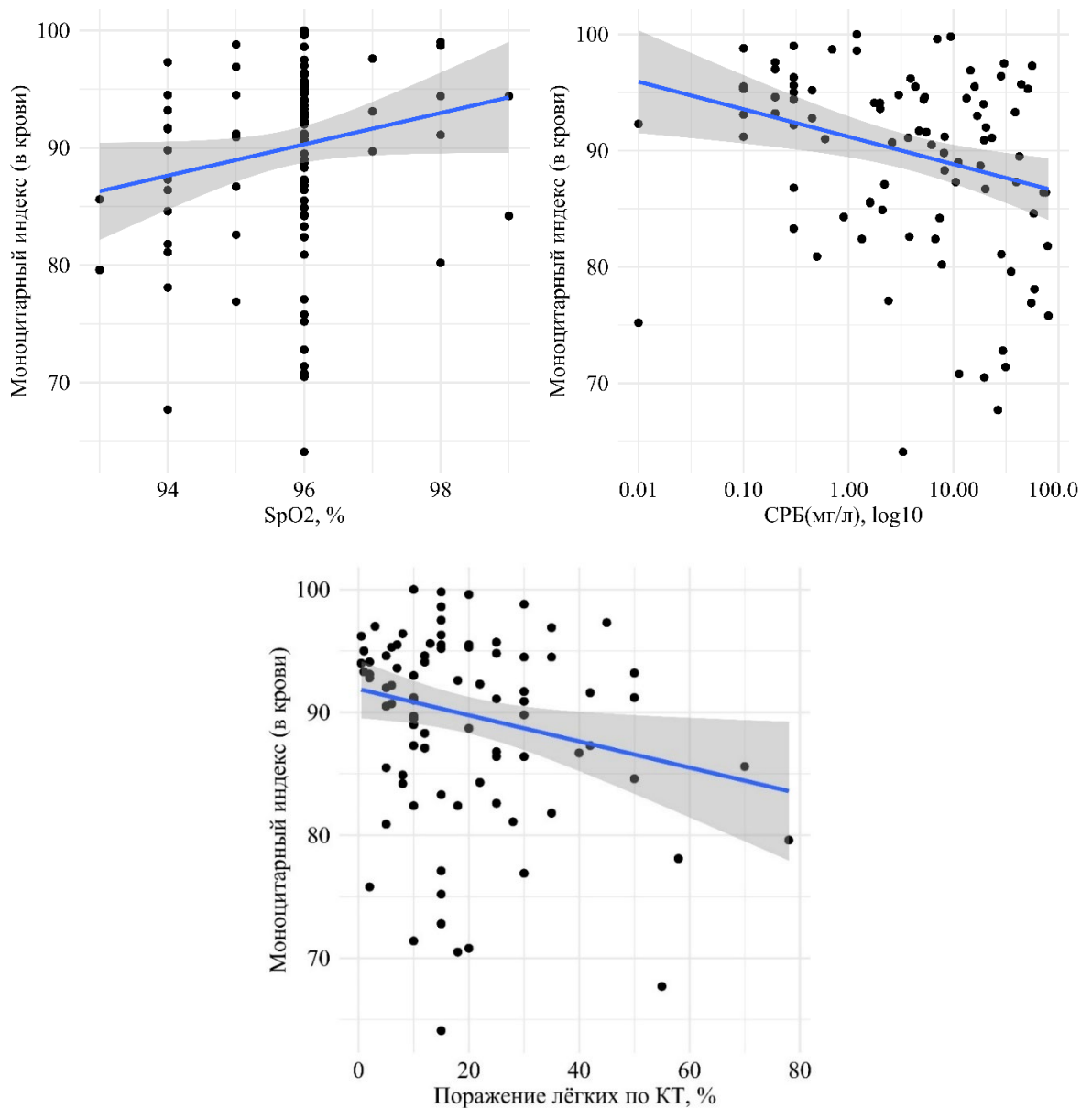


Рисунок 10 – Взаимосвязь моноцитарного индекса в крови с показателем  $SpO_2$ , СРБ и площадью поражения легких по КТ

Таким образом, более высокий моноцитарный индекс в крови (на момент госпитализации) ассоциирован с более низким уровнем СРБ, меньшей степенью поражения легких по КТ и более высоким уровнем сатурации.

Далее проводился анализ в зависимости от исходной степени тяжести пациентов. Моноцитарный индекс в крови в зависимости от степени тяжести на момент госпитализации, а именно в кластере со среднетяжелым течением был статистически значимо ниже, чем в кластере пациентов с легким течением COVID-19: 86,7 (81,4; 91,7) против 92,6 (86,5; 95,4) ( $p=0,01$ ) (Рисунок 11).

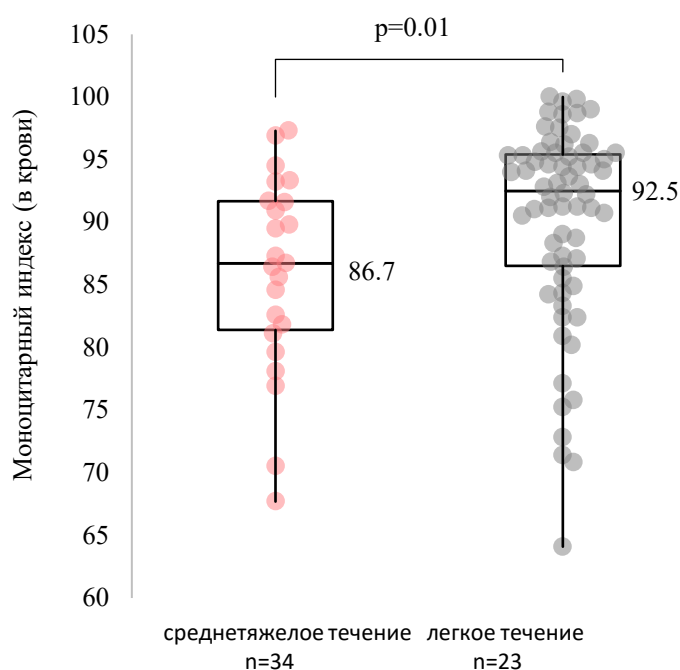


Рисунок 11 – Моноцитарный индекс в крови в зависимости от тяжести пациентов

На следующем этапе проведен анализ данных в динамике в зависимости от исходной степени тяжести на выборке пациентов в 45 человек (группа контроля, получавшие стандартное лечение). Было выявлено, что динамика моноцитарного индекса в крови через 30 дней после начала лечения взаимосвязана с исходной степенью тяжести пациента: без учета степени тяжести динамика через 14 дней ( $p=0,57$ ), динамика через 30 дней ( $p=0,43$ ); в зависимости от исходной степени тяжести динамика через 14 дней ( $p=0,65$ ), динамика через 30 дней ( $p=0,03$ ). В кластере среднетяжелых пациентов исходный моноцитарный индекс был несколько

ниже, чем в кластере легких пациентов (86,6 (81,2; 91,6) против 93 (84,9; 95,5),  $p=0,08$ ) (Рисунок 12). Через 30 дней у пациентов со среднетяжелым течением МИ статистически значимо вырос ( $p=0,05$ ) и стал сопоставим с показателем МИ у пациентов с легким течением - 92,2 (87,8; 96,7) и 89,2 (81,8;95,2), соответственно.

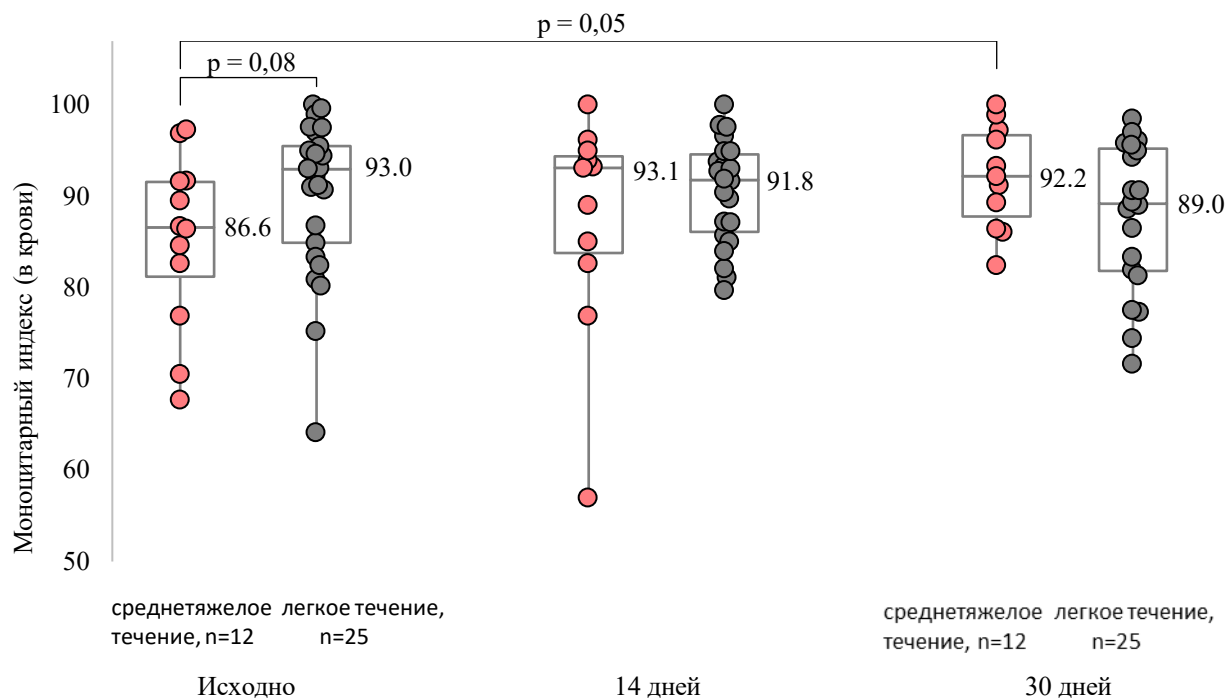


Рисунок 12 – Динамика моноцитарного индекса в крови в зависимости от степени тяжести на момент госпитализации (у пациентов группы контроля)

Нейтрофильный индекс в крови не зависел от исходной степени тяжести и не менялся в динамике: динамика через 14 дней –  $p=0,60$ , динамика через 30 дней –  $p=0,52$ , исходная степень тяжести ( $p=0,73$ ); динамика через 14 дней в зависимости от исходной степени тяжести ( $p=0,90$ ), динамика через 30 дней в зависимости от исходной степени тяжести ( $p=0,89$ ). Значения нейтрофильного индекса составили соответственно в кластерах среднетяжелого и легкого течения (исходно / через 14 дней / через 30 дней): 97,2 (95,1; 98,9), 97,5 (96,7; 98,8), 97,5 (96,7; 98,8) и 97,7 (95,6; 99), 98,6 (96,4; 99,5), 98,6 (96,4; 99,5), соответственно.

### **3.4 Эффективность включения Иммуновак-ВП-4 в комплексное лечение пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких средней степени тяжести**

Все пациенты со среднетяжелым течением COVID-19 были случайным образом разделены на группу контроля (стандартное лечение, n=39) и основную группу (стандартное лечение + Иммуновак-ВП-4, n=32).

Характеристика пациентов группы контроля и группы лечения (на момент госпитализации) представлена в Приложении А.

В исследуемых группах пациенты были сопоставимы по возрасту (42 (33–54) года в группе контроля и 42 (37–45) лет в группе Иммуновак-ВП-4,  $p=0,79$ ), гендерному составу (26/13 мужчин и женщин соответственно в группе контроля и 25/7 в группе Иммуновак-ВП-4,  $p=0,33$ ) и длительности заболевания от момента появления первых симптомов (5 (4–8) дней в группе контроля и 5 (3–7) дней в группе Иммуновак-ВП-4,  $p=0,63$ ). Сформированные группы также были сопоставимы по индексу массы тела, площади поражения легких, лабораторным показателям.

Оценка переносимости вакцины Иммуновак-ВП-4 показала, что интраназальное и пероральное введение вакцины Иммуновак-ВП-4 не сопровождалось развитием местных реакций со стороны слизистых верхних дыхательных путей и системных нежелательных явлений.

На фоне проведенного лечения отмечена положительная динамика в обеих группах. В группе Иммуновак-ВП-4 на фоне проведенного лечения статистически значимо меньше встречались жалобы на слабость, утомляемость, одышку и заложенность в груди (Таблица 5).

Таблица 5 – Динамика клинических проявлений COVID-19 у исследуемых пациентов на фоне проведенной терапии

Жалобы	Вся выборка чел (%) n=69	Контроль, чел n=39		p	Иммуновак -ВП-4, чел n=32		p
		Исходно	После лечения		Исходно	После лечения	
Кашель (сухой или с небольшим количеством мокроты)	57 (80,2%)	28	12	0,01*	29	8	0,01*
Субферильная лихорадка, С	50 (70,4%)	23	5	0,01*	27	3	0,01*
Слабость	43 (60,6%)	21	12	0,07	22	12	0,05*
Утомляемость	43 (42,3%)	21	12	0,07	22	12	0,05*
Одышка	21 (29,5%)	9	4	0,13	12	5	0,05*
Ощущение заложенности в грудной клетке	16 (22,5%)	7	2	0,08	9	3	0,05*
Потеря обоняния и вкуса	15 (21,1%)	7	3	0,18	8	3	0,1

Примечание: \* статистически значимое различие (p<0,05)

Динамика (исходно и через 14 дней) отдельных биохимических показателей в кластере среднетяжелых пациентов представлена в Таблице 6. Площадь поражения легких по данным КТ ОГК, уровень СРБ и СОЭ статистически значимо снизились независимо от группы лечения (p=0,05, p<0,001 и p=0,004 соответственно).

Таблица 6 – Динамика отдельных биохимических показателей у пациентов с более тяжелым течением пневмонии в зависимости от группы лечения

Показ.	Группа	Динамика				Модель <sup>1</sup>			Rm, Rс
		Исходно		14 дней		Период	Группа	Период × группа	
		Med(Q1; Q3)	N	Med(Q1; Q3)	N				
Площадь поражения легких по КТ ОГК, %	Контроль	32,5(30; 41,5)	14	22(20; 30)	13	p=0,05	p=0,32	p=0,63	0,12 0,12
	Основная	38(30; 50)	17	33,8(24,3; 45)	12				
SpO <sub>2</sub> , %	Контроль	95(94; 95)	14	97(97; 97,5)	14	p<0,001	p=0,14	p=0,02	0,65 0,65
	Основная	94(94; 94)	17	98(97; 99)	17				

## Продолжение Таблицы 6

СРБ, мг/л	Контроль	23,3(12,7; 51,9)	14	0,5(0,2; 2,2)	12	p<0,001	p=0,54	p=0,80	0,42 0,42
	Основная	19,6(10,5; 38,6)	17	0,2(0; 1,2)	13				
СОЭ, мм/час	Контроль	36(21,3; 43,8)	14	14(6,5; 17)	11	p=0,004	p=0,31	p=0,19	0,17 0,18
	Основная	26(20; 34)	17	14(10; 24)	15				
Примечание: КТ ОГК – компьютерная томография органов грудной клетки; SpO <sub>2</sub> – сатурация крови кислородом; СРБ – С-реактивный белок; СОЭ – скорость оседания эритроцитов									

Для оценки динамики уровня sIgA в зависимости от лечения применялись робастные смешанные линейные модели (RLMEM), оценка проводилась в трех временных точках: исходно, через 14 дней, через 30 дней (Таблица 7).

Таблица 7 – Модели динамики sIgA в разных средах в зависимости от группы лечения (применялась RLMEM)

Факторы	Назальный соскоб	Фарингальный соскоб	В слюне
Период 14 дней	p=0,77	p= <b>0,01</b>	p=0,81
Период 30 дней	p=0,21	p=0,97	p= <b>0,02</b>
Группа лечения	p=0,75	p=0,89	p=0,99
Период 14 дней × группа	p=0,91	p=0,89	p=0,49
Период 30 дней × группа	p=0,13	p= <b>0,05</b>	p=0,50
Качество модели	Rm = 0,04, Rc = 0,12	Rm = 0,19, Rc = 0,32	Rm = 0,16 Rc = 0,16

Уровень назального sIgA не было показало каких-либо тенденций и различий между группами. Уровень назального sIgA в исходно, на 14 и 30 дни в контроле составил 49 (46; 99) мкг/л, 52 (16; 89) мкг/л, 17 (11; 30) мкг/л и в группе Иммуновак-ВП-4 - 31 (14; 99) мкг/л, 47(22; 119) мкг/л, 68 (19; 135) мкг/л.

Динамика уровня фарингального sIgA характеризовалась согласованными между группами изменениями через 14 дней (p=0,01) и различающимися изменениями через 30 дней в зависимости от лечения sIgA (p=0,05) (Рисунок 13).

Исходно сниженный уровень фарингеального sIgA через 14 дней статистически значимо вырос в обеих группах независимо от лечения: с 1,5 (0,3;5,9)

мкг/л до 63,4 (17,8; 101,2 мкг/л в контроля ( $p < 0,001$ ) и с 0,7 (0,3; 3,1) мкг/л до 61,1 (24,1; 111,6) мкг/л в группе Иммуновак-ВП-4 ( $p = 0,005$ ).

Через 30 дней от начала лечения фарингальный sIgA снизился в группе контроля (стандартного лечения) с 63,4 (17,8; 101,2) мкг/л до 11,3 (9,1; 14) мкг/л ( $p < 0,001$ ), а в группе Иммуновак-ВП-4 осталась тенденция к росту, где уровень фарингеального sIgA превысил свой исходный уровень и уровень контроля через 30 дней: 87,6 (7,5; 118,6) мкг/л против 0,7 (0,3; 3,1) мкг/л, ( $p = 0,001$ ) и против 11,3 (9,1; 14) мкг/л ( $p = 0,007$ ), соответственно.

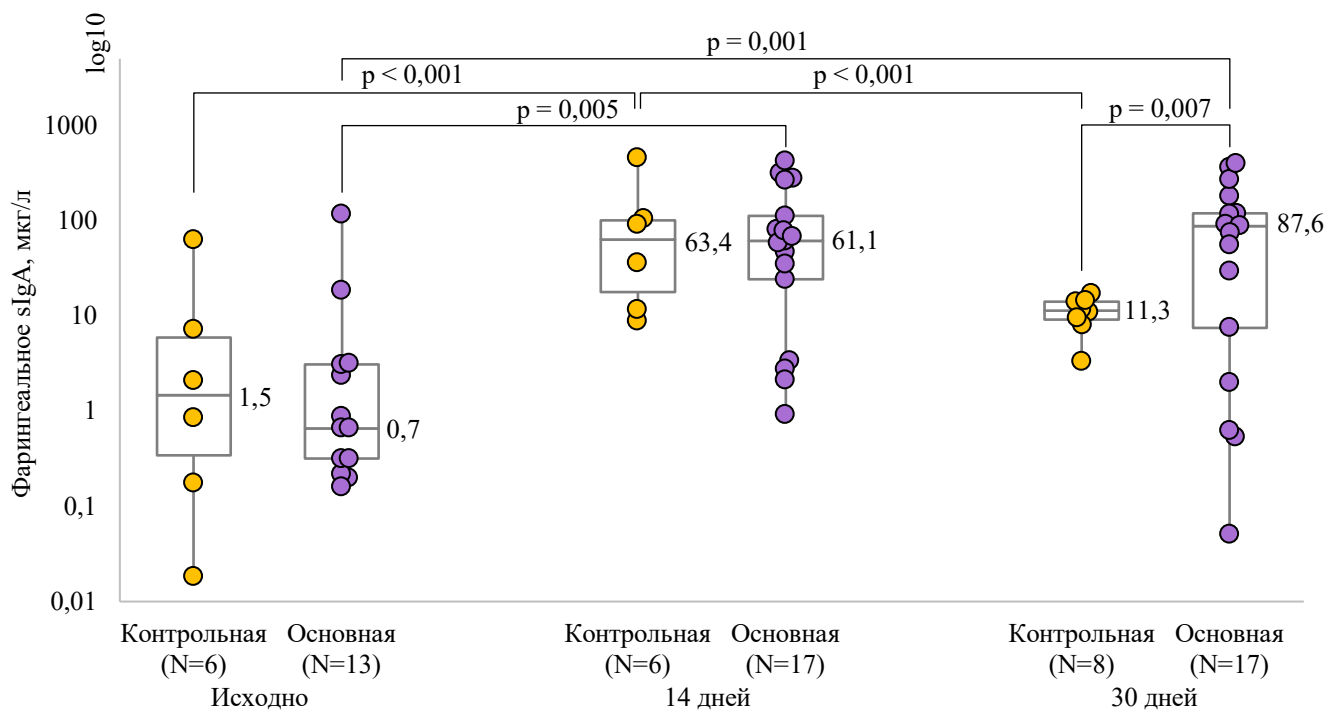


Рисунок 13 – Динамика фарингеального SIgA у исследуемых пациентов в зависимости от получаемого лечения

Анализ уровня sIgA в слюне у исследуемых пациентов не выявил статистически значимых различий динамики показателя в зависимости от группы лечения, в обеих группах наблюдается рост показателя через 30 дней после начала лечения относительно исходных значений: с 73,6 (30,5; 177,3) мкг/л до 199,3 (165; 226,6) мкг/л в кластере контроля ( $p = 0,05$ ) и с 119,6 (56,2; 185,4) мкг/л до 237,2 (186,3; 303,2) мкг/л в кластере ВП-4 ( $p = 0,001$ ) (Рисунок 14).

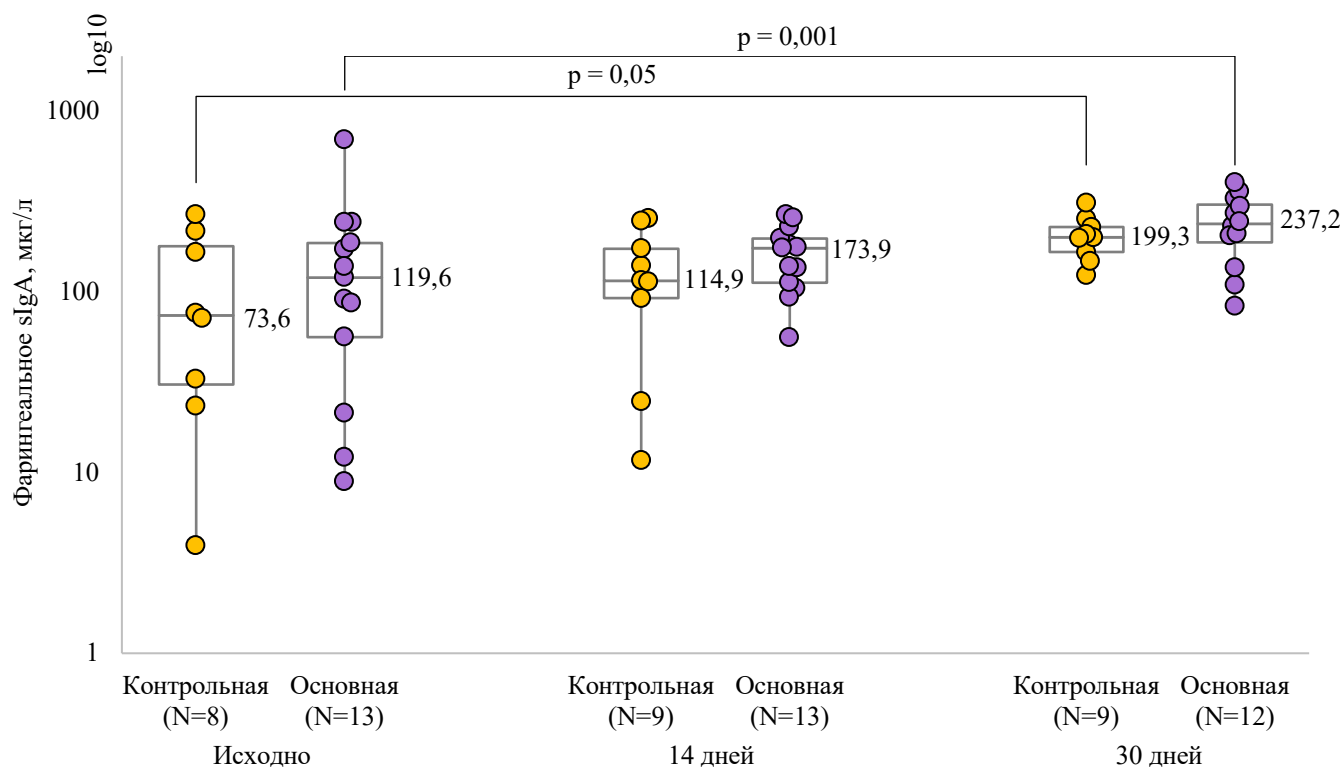


Рисунок 14 – Динамика SIgA в слюне у исследуемых пациентов зависимости от получаемого лечения

Были проанализированы показатели фагоцитоза в зависимости от полученного лечения исходно, через 14 и 30 дней. Модели динамики моноцитарного и нейтрофильного индекса в крови (применялись робастные смешанные линейные модели) приведены в Таблице 8.

Таблица 8 – Модели динамики моноцитарного и нейтрофильного индекса в крови у исследуемых пациентов в зависимости от лечения (применялись RLMEM)

Факторы	Моноцитарный индекс, %	Нейтрофильный индекс, %
Период 14 дней	p=0,45	0,54
Период 30 дней	<b>p=0,02</b>	0,18
Группа лечения	p=0,58	0,72
Период 14 дней × группа	p=0,78	0,63
Период 30 дней × группа	<b>p=0,05</b>	0,21
Качество модели	Rm = 0,28, Rc = 0,28	Rm = 0,08, Rc = 0,10

Для нейтрофильного индекса (НИ) в крови не было выявлено каких-либо тенденций и различий между группами. Значения НИ составили: 97,2 (95,075 – 98,9), 97,5 (96,65 – 98,75), 98,9 (97,8 – 99,65) – в контроле и 98,3 (95,7 – 98,7), 99,2 (98,5 – 99,7), 96,1 (92,9 – 97,4) – в кластере Иммуновак-ВП-4.

Моноцитарный индекс в крови у исследуемых пациентов через 30 дней после госпитализации статистически значимо вырос относительно исходного уровня в обеих группах ( $p=0,02$ ), но интенсивность этих изменений зависела от полученного лечения ( $p=0,05$ ) (Рисунок 15). Через 30 дней после госпитализации моноцитарный индекс в крови вырос в кластере контроля с 86,6 (81,2–91,6) до 92,2 (87,85–96,7) ( $p=0,03$ ), а в кластере Иммуновак-ВП-4 с 87,3 (81,45–92,05) до 98,3 (97,3–99,6) ( $p=0,05$ ), различия между группами были статистически значимы ( $p=0,05$ ).

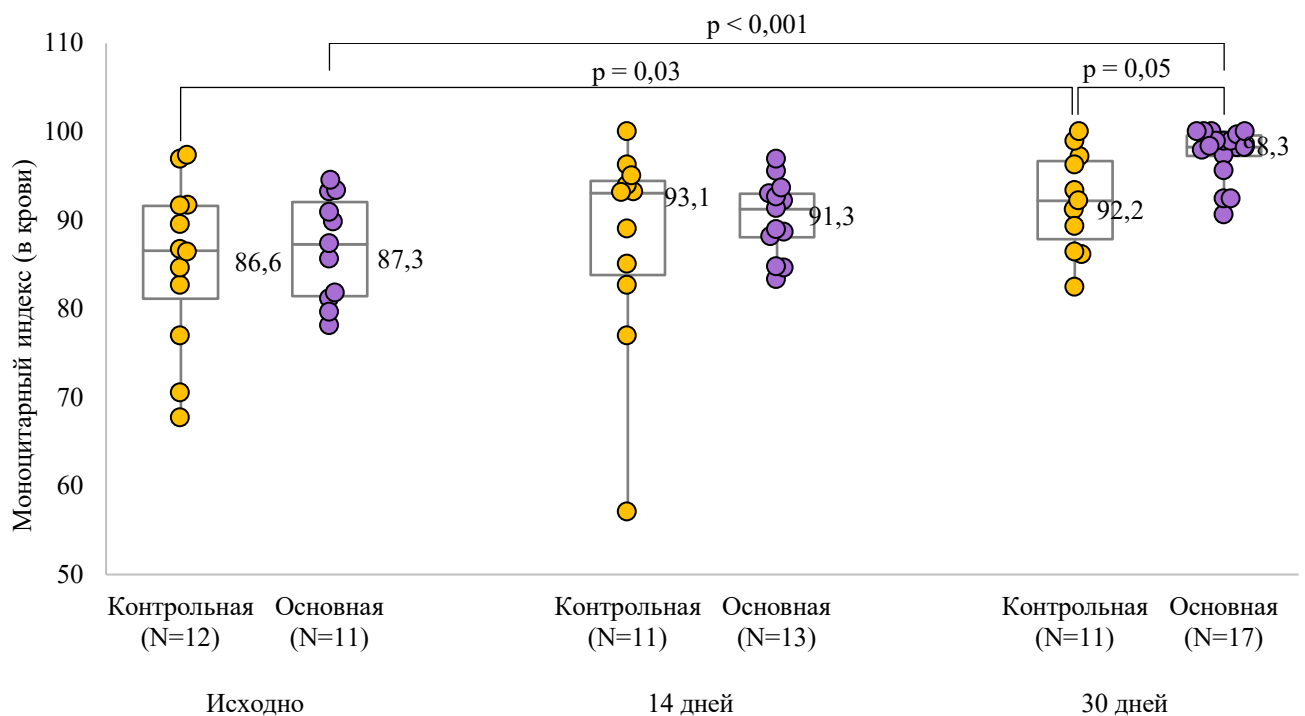


Рисунок 15 – Динамика моноцитарного индекса в крови у пациентов со среднетяжелым течением в зависимости от полученного лечения

Анализ клинических показателей эффективности Иммуновак-ВП-4 в комплексном лечении пациентов с COVID-19-ассоциированным поражением легких средней степени тяжести выявил определенные отличия. Длительность

лихорадки в группе пациентов, получавших Иммуновак-ВП-4, была статистически значимо ниже, чем в группе стандартного лечения: 1 [0,5; 2] день и 4 [1; 7] дней ( $p=0,002$ ), соответственно (Рисунки 16–17).

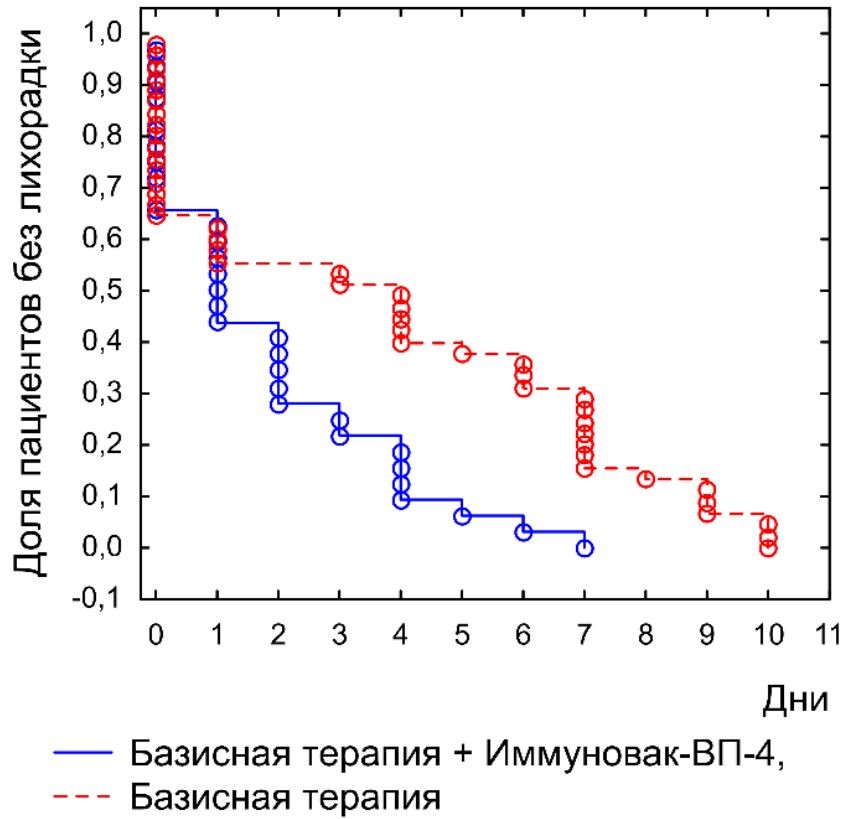


Рисунок 16 – Кривые Каплана-Майера длительности лихорадки у исследуемых пациентов с COVID-19

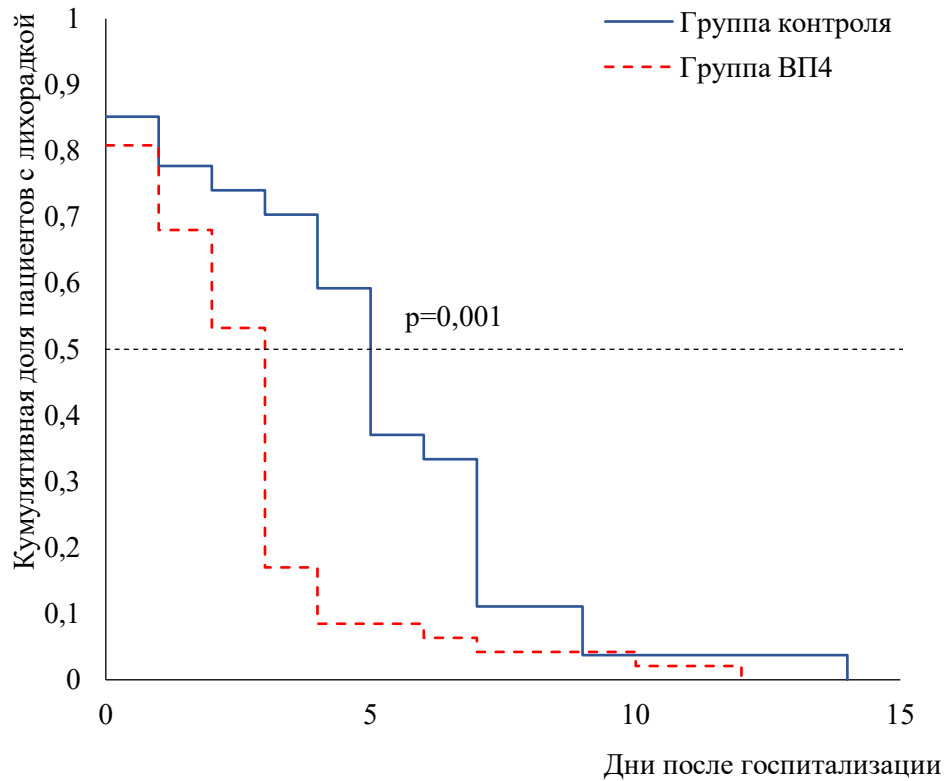


Рисунок 17 – Кривые Каплана-Майера, характеризующие длительность госпитализации в зависимости от получаемого лечения

Также в группе Иммуовак-ВП-4 выявлена статистически значимо меньшая продолжительность госпитализации, чем в группе контроля: 16 [13–19] дней и 19 [16–22] дней, соответственно ( $p=0,03$ ).

### 3.5 Отдаленное влияние Иммуовак-ПВ-4 на частоту новых случаев ОРВИ и пневмонии после перенесенного COVID-19

#### 3.5.1 Анализ частоты развития новых эпизодов ОРВИ и внебольничной пневмонии в течение 2-4 месяцев после COVID-19

Для характеристики «стандартной» динамики проанализирована только группа контроля в зависимости от степени тяжести COVID-19. Учитывалось кумулятивное число случаев заболеваний за 2, 3 и 4 месяца (Таблица 9).

Таблица 9 – Уровень заболеваемости ОРВИ и пневмонией после выписки из стационара в зависимости от тяжести COVID-19

Период наблюдения	Легкое течение (N=14)		Среднетяжелое течение (N=27)		IRR [95%CI]	Zero Inflated Poisson	
	n	IR [95%CI]	n	IR [95%CI]		p0	p1
<b>Кумулятивная заболеваемость ОРВИ</b>							
2 месяца	14	8,6 [4,7-14,5]	3	3,5 [0,7-10,4]	0,87 [0,64-1,15]	p=0,43	p=0,08
3 месяца	18	7,4 [4,4-11,7]	5	3,9 [1,3-9,2]	0,9 [0,7-1,14]	p=0,13	p=0,09
4 месяца	28	8,6 [5,7-12,5]	13	7,7 [4,1-13,2]	0,98 [0,8-1,19]	p=0,25	p=0,24
<b>Кумулятивная заболеваемость пневмонией</b>							
2 месяца	1	0,61 [0,02-3,4]	3	3,6 [0,7-10,4]	5,1 [1,7-15,8]	<b>p=0,004</b>	p=0,67
3 месяца	1	0,40 [0,01-2,29]	4	3,1 [0,8-8,1]	3,9 [1,4-11,2]	<b>p=0,008</b>	p=0,68
4 месяца	3	0,92 [0,19-2,7]	4	2,4 [0,6-6,1]	2,5 [1,03-6,4]	<b>p=0,05</b>	p=0,77
Примечание: n – кумулятивное число зарегистрированных заболеваний в указанной кластере за указанный период, IR[95%CI] – коэффициент заболеваемости и его 95% доверительный интервал, IRR[95%CI] – показатель относительного риска заболеваемости и его 95% доверительный интервал, p0 – статистическая значимость различий нулевых значений (пациентов без заболеваний), p1 – статистическая значимость различий ненулевых значений (частоты заболеваний) в зависимости от тяжести пациента.							

Было выявлено, что кумулятивная заболеваемость ОРВИ не зависела от тяжести перенесенного COVID-19.

В то время как кумулятивная заболеваемость пневмонией была выше у пациентов со среднетяжелым течением во всех анализируемых временных точках после выписки, причем различия объяснились большим числом пациентов без заболевания в кластере пациентов с легким течением. Таким образом, риск развития пневмонии после COVID-19 (в пересчете на 1000 человеко-дней) был выше в кластере пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 в 5,1 [1,7–15,8] раза через 2 месяца после выписки, в 3,9 [1,4–11,2] раз через 3 месяца и в 2,5 [1,03–6,4] раза через 4 месяца после выписки из стационара.

### **3.5.2 Анализ частоты развития ОРВИ и пневмонии в течение 2-4 месяцев после COVID-19 в зависимости от лечения и степени тяжести**

Далее проводился анализ частоты развития ОРВИ и пневмонии в зависимости от полученного лечения и с учетом тяжести пациента.

Анализ заболеваемости ОРВИ и пневмонии после выписки из стационара в зависимости от полученного лечения и тяжести течения COVID-19 приведен в Таблице 10. Учитывалось кумулятивное число случаев заболеваний за 2, 3 и 4 месяца после выписки из стационара [9, 10].

Таблица 10 – Уровень заболеваемости ОРВИ и пневмонией после выписки из стационара в зависимости от тяжести COVID-19 и лечения (контроль/ Иммуновак-ВП-4) [9, 10]

Период	Группа контроля						Группа Иммуновак-ВП-4						Zero Inflated Poisson		
	Всего (n=41)		Легкое течение (n=14)		Среднетяжелое течение (n=27)		Всего (n=64)		Легкое течение (n=17)		Среднетяжелое течение (n=47)		p0	p1	p2
	n	IR	n	IR	n	IRR	n	IR	n	IR	n	IRR			
Кумулятивная заболеваемость ОРВИ															
2 месяца	17	6,9 [4,0-11,0]	14	8,6 [4,7-14,5]	3	3,6 [0,7-10,4]	3	0,8 [0,2-2,3]	2	1,1 [0,2-3,1]	1	1 [0-5,5]	p=0,48	p<0,001	p=0,28
3 месяца	23	6,2 [3,9-9,3]	18	7,4 [4,4-11,7]	5	4,0 [1,3-9,3]	4	0,7 [0,2-1,8]	3	0,9 [0,3-2,4]	1	0,7 [0-3,6]	p=0,11	p<0,001	p=0,35
4 месяца	34	6,9 [4,8-9,7]	25	7,7 [5-11,4]	9	5,4 [2,4-10,2]	11	1,4 [0,7-2,6]	8	2 [1-3,5]	3	1,5 [0,3-4,3]	p=0,22	p<0,001	p=0,60
Кумулятивная заболеваемость пневмонией															
2 месяца	4	1,6 [0,4-4,2]	1	0,6 [0-3,4]	3	3,6 [0,7-10,4]	2	0,5 [0,1-1,9]	2	0,7 [0,1-2,6]	0	-	p=0,48	p=0,18	p<0,001
3 месяца	5	1,3 [0,4-3,2]	1	0,4 [0-2,3]	4	3,2 [0,9-8,1]	3	0,5 [0,1-1,5]	3	0,7 [0,1-2,1]	0	-	p=0,63	p=0,17	p<0,001
4 месяца	7	1,4 [0,6-2,9]	3	0,9 [0,2-2,7]	4	2,4 [0,6-6,1]	5	0,7 [0,2-1,5]	4	0,9 [0,3-2,1]	1	0,5 [0-2,7]	p=0,47	p=0,14	p<0,001
Примечание: n – кумулятивное число зарегистрированных заболеваний в указанной кластере за указанный период, IR[95%CI] – коэффициент заболеваемости и его 95% доверительный интервал, IRR[95%CI] – показатель относительного риска заболеваемости и его 95% доверительный интервал, p0 – статистическая значимость различий нулевых значений (пациентов без заболеваний), p1 – статистическая значимость различий не нулевых значений (частоты заболеваний) в зависимости от группы лечения (контроль/ВП4), p2 – статистическая значимость различий не нулевых значений (частоты заболеваний) в зависимости от тяжести пациента.															

Заболееваемость пневмонией после выписки зависела только от исходной тяжести пациента и не зависела от полученного лечения. Риск развития пневмонии после COVID-19 (в пересчете на 1000 человеко-дней) с корректировкой на тип получаемого лечения был выше в кластере пациентов со среднетяжелым течением по сравнению с пациентами с легким течением во всех рассматриваемых временных точках (Рисунок 18).

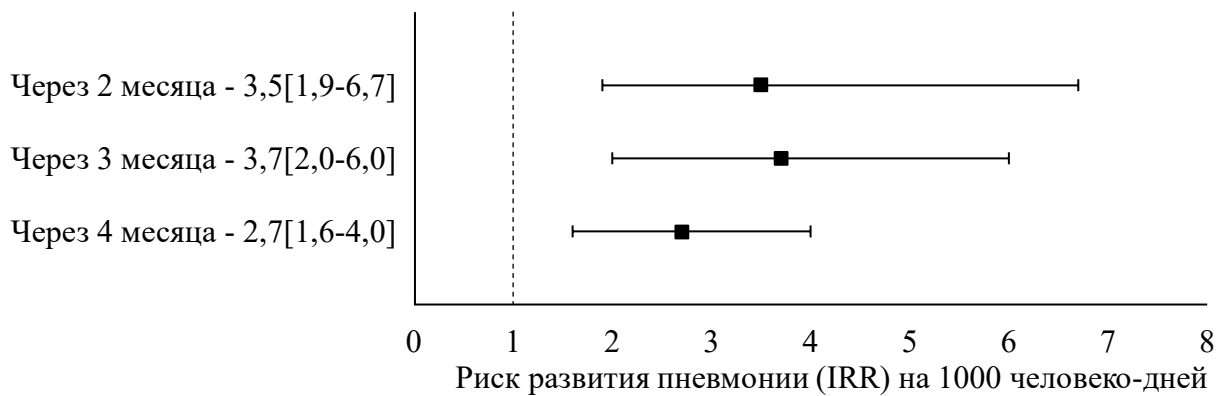


Рисунок 18 – Показатель относительного риска заболеваемости пневмонией после выписки из стационара в кластере пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 по сравнению с пациентами с легким течением (с корректировкой на получаемое лечение)

В то же время было выявлено, что заболеваемость ОРВИ после COVID-19 статистически значимо зависела от полученного лечения и не зависела от тяжести течения COVID-19. Риск развития ОРВИ после COVID-19 (в пересчете на 1000 человеко-дней) с корректировкой на тяжесть COVID-19 был выше у пациентов группы контроля по сравнению с пациентами, получавшими Иммуновак-ВП-4 [6], во всех рассматриваемых временных точках: через 2 месяца после выписки в 9,9 [2,7–33] раза ( $p < 0,001$ ), через 3 месяца в 9,0 [6,7–27] раз ( $p < 0,001$ ) и через 4 месяца в 4,9 [2,5–9,9] раза ( $p < 0,001$ ) (Рисунок 19).

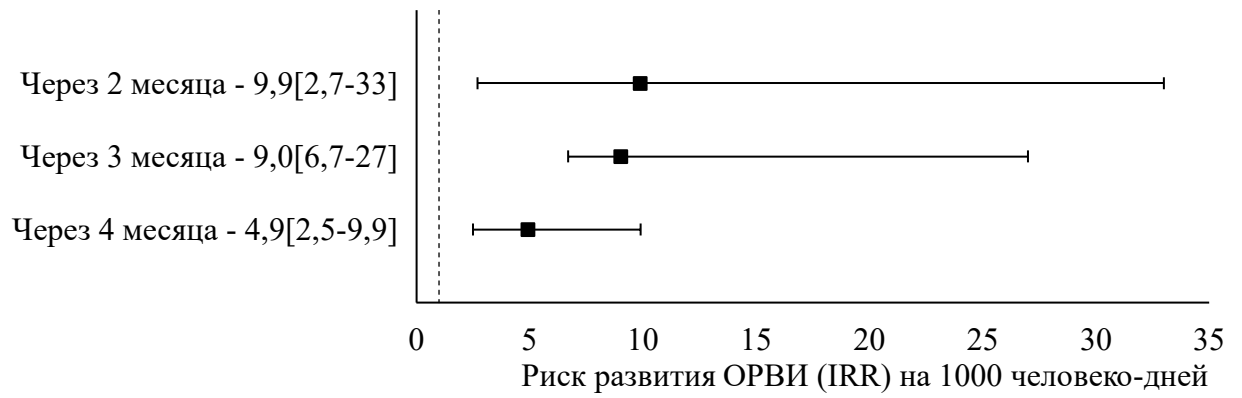


Рисунок 19 – Показатель относительного риска заболеваемости ОРВИ после выписки из стационара у пациентов группы контроля по сравнению с группой ВП-4 (с корректировкой на тяжесть COVID-19)

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### 4.1 Клинические проявления COVID-19 у госпитализированных пациентов

По литературным данным, заражение SARS-CoV-2 проявляется различными клиническими симптомами. У большинства пациентов наблюдаются такие симптомы, как лихорадка, головная боль, кашель, миалгия, диарея, кровохарканье и одышка. Однако у некоторых людей развивается тяжелая форма заболевания – острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) [43].

В нашем исследовании COVID-19 протекал с клиническими проявлениями, лабораторными признаками воспаления и характерной КТ-картиной. Наиболее часто встречающимися жалобами у пациентов были повышение температуры тела, кашель и слабость.

Важно отметить, что острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) является следствием цитокинового шторма и приводит к повреждению респираторного эпителия [187]. У таких пациентов аберрантные патогенные Т-клетки выделяют повышенное количество цитокинов, таких как гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), что приводит к воспалительному шторму и серьезному повреждению легких [190]. Помимо упомянутых выше, цитокины играют важную роль в развитии других осложнений COVID-19 [99]. В совокупности неконтролируемый выброс цитокинов может привести к поражению нескольких органов у пациентов с COVID-19.

Некоторые провоспалительные цитокины могут вызывать гибель клеток различных типов, что приводит к патологическим состояниям. В случае с рецепторами ACE2 предполагается, что COVID-19 сначала поражает несколько органов, в которых есть рецепторы ACE2, такие как сердце, мозг, сосуды, печень, почки и, что более важно, легкие [185]. Печень – еще один орган, на который влияет цитокиновый шторм при COVID-19. Сообщалось, что у 14,8–53,1% пациентов с COVID-19 был аномальный уровень аминотрансфераз в сыворотке крови [104, 174]. Острое повреждение почек также часто встречается у пациентов с COVID-19,

находящихся в отделении интенсивной терапии, из-за активации врожденной и адаптивной иммунной системы и воспаления, вызванного проникновением вируса и цитопатическим эффектом [95, 174].

Учитывая, что тяжесть заболевания обусловлена совокупным влиянием факторов, был проведен кластерный анализ, который позволил выделить 2 кластера пациентов. Первый кластер характеризовался статистически значимо более высоким уровнем СРБ, АСТ, более низким уровнем SpO<sub>2</sub> и среднетяжелым поражением легких по данным КТ ОГК. Согласно клиническим рекомендациям, пациенты первого кластера подходили под критерии среднетяжелого течения COVID-19, а пациенты второго кластера – под критерии легкого течения COVID-19 и имели легкое (КТ I степени) поражение легких.

С начала пандемии SARS-CoV-2 во многих исследованиях отмечалось, что у людей, заразившихся коронавирусной инфекцией 2019 года (COVID-19), часто наблюдалась повышенная концентрация С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови. Также была выявлена связь между повышением уровня СРБ и тяжестью заболевания + исходом для пациента. Объединенные показатели распространенности повышенного уровня СРБ у пациентов с COVID-19 варьировались в разных публикациях от 60 до 80%, при этом некоторые отдельные исследования показали повышение более чем у 90% пациентов [102]. В ретроспективном исследовании, проведенном нашей группой на популяции из 2054 госпитализированных пациентов с COVID-19, распространенность повышенного уровня СРБ (>10 мг/л) составила 91% [174]. С патофизиологической точки зрения повышение уровня С-реактивного белка у пациентов с COVID-19 является прямым отражением гиперактивации иммунной системы, вызванной инфекцией SARS-CoV-2, которая в некоторых случаях может перерасти в полномасштабный цитокиновый шторм с тяжелыми системными последствиями для пациента, вплоть до угрожающих жизни [66]. С-реактивный белок (СРБ) – это опосредованный цитокинами реагент острой фазы, который играет важную роль при воспалительных процессах и инфекционных заболеваниях. При коронавирусной инфекции 2019 года (COVID-19) часто обнаруживается повышенная концентрация

СРБ в сыворотке крови, что в значительной степени связано с тяжелым течением заболевания, необходимостью в интенсивной терапии и внутрибольничной смертностью. По этим причинам данный маркер был предложен в качестве эффективного теста для прогностической классификации пациентов с COVID-19 [47].

#### **4.2 Содержание sIgA у пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких**

Гуморальный иммунитет, включая факторы комплемента, такие как С3а и С5а, и специфические антитела, полученные из В-клеток, также важны в борьбе с инфекцией SARS-CoV-2. Иммуноглобулины М (IgM) обеспечивают первичную защиту от вирусных инфекций до выработки высокоаффинного иммуноглобулина G (IgG) для длительного системного иммунитета, и, следовательно, их обнаружение может предсказать время воздействия вируса [7, 154].

В проведенном нами исследовании уровень sIgA определялся в слюне, в фарингеальном и назальном соскобах. Исходные уровни sIgA в исследуемых средах имели статистически значимые различия по сравнению с их нормальными значениями и были достоверно ниже в кластере пациентов со среднетяжелым течением по сравнению с группой пациентов с легким течением.

Человеческие моноклональные антитела IgA при COVID-19, перекрестно реагирующие с шиповидными белками SARS-CoV и SARS-CoV-2, способны нейтрализовать инфекцию SARS-Cov-2 *in vitro* при преобразовании его в sIgA. Секреторный IgA (sIgA) играет важную роль в иммунитете слизистых оболочек, однако механизмы продукции IgA и sIgA у пациентов с COVID-19 в настоящее время малоизучены. Хотя фактически, это самый важный иммуноглобулин для борьбы с инфекционными патогенами в дыхательной и пищеварительной системах в точке проникновения возбудителя [7, 34].

Мы выявили значимую обратную корреляцию назального sIgA с уровнем СРБ, АСТ и степенью тяжести поражения легких по данным КТ ОГК [174]; обратная

взаимосвязь уровня фарингеального sIgA с концентрацией СРБ и прямая корреляция уровня sIgA в слюне и SpO<sub>2</sub>. Таким образом, более высоким значениям sIgA соответствовали более низкие значения СРБ, АСТ и площади поражения легких по КТ и более высокий уровень SpO<sub>2</sub>.

Известно, что IgA обладает активностью против различных видов вирусных инфекций, включая ротавирус, вирус гриппа и SARS-CoV-2, и модулирует чрезмерные иммунные реакции при воспалительных заболеваниях, более эффективно привлекая нейтрофилы в очаг воспаления. Концентрация сывороточного IgA снижается через месяц после появления симптомов, в то время как нейтрализующий IgA остается обнаруживаемым в слюне в течение более длительного времени [7, 78].

Проведенный нами анализ динамики уровней sIgA у пациентов, показал, отсутствие изменения уровня назального sIgA относительно исходного уровня ни в целом, ни в зависимости от степени тяжести. В то же время для фарингеального sIgA были выявлены статистически значимые изменения через 14 дней относительно исходного уровня, которые зависели от степени тяжести COVID-19. В кластере среднетяжелых пациентов отмечалось статистически значимое увеличение уровня фарингеального sIgA через 14 дней после госпитализации с последующим снижением через 30 дней. Через 14 дней после госпитализации уровень фарингеального sIgA в кластере пациентов с течением COVID-19 средней степени тяжести стал статистически значимо выше, чем в кластере пациентов с легким течением; через 30 дней уровни фарингеального sIgA статистически значимо не различались. Динамика sIgA в слюне зависела также от исходной степени тяжести, статистически значимые изменения наблюдались как через 14 дней после госпитализации, так и через 30 дней. Исходно уровень sIgA в слюне был выше в кластере пациентов с легким течением, но через 14 дней sIgA в слюне в кластере пациентов с легким течением статистически значимо снизился, через 30 дней оставался на уровне 14 дней. Уровень sIgA в слюне в кластере среднетяжелых пациентов (исходно более низкий), напротив, через 30 дней после госпитализации вырос относительно исходного уровня.

### **4.3 Фагоцитарная активность лейкоцитов у исследуемых пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких**

Анализ возникающих при COVID-19 процессов в иммунной системе важен для выявления ключевых факторов, влияющих на тяжесть и клинические проявления заболевания. Существуют фенотипические и экспрессивные различия между клетками, участвующими в периферическом иммунном ответе в отношении инфекции SARS-CoV-2 [17, 172].

Первоначальные попытки детализировать воспалительные механизмы, возникающие при SARS-CoV-2, выявили заметное усиление регуляции циркулирующих провоспалительных цитокинов, а также повышенный воспалительный фенотип клеток врожденного иммунитета, в первую очередь моноцитов, у пациентов с COVID-19 с тяжелым течением заболевания [13, 18, 172, 173]. Повышенный воспалительный фенотип клеток врожденного иммунитета напоминает о нарушении регуляции процессов разрешения инфекционного процесса [173].

В связи с этим, одной из задач нашего исследования стало определение фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов в периферической крови. Результаты исследования показали, что нейтрофильный индекс и моноцитарный индекс пациентов со среднетяжелым и легким течением находились в интервале нормальных референсных значений, но имели корреляционные взаимосвязи с тяжестью заболевания. Были выявлены прямая корреляция МИ и показателя SpO<sub>2</sub>; обратная корреляция МИ в крови с уровнем СРБ и степенью поражения легких по КТ. То есть более высокий моноцитарный индекс в крови ассоциирован с более низким уровнем СРБ, меньшей степенью поражения легких по КТ и более высоким уровнем сатурации. Соответственно, в кластере пациентов со среднетяжелым течением моноцитарный индекс был статистически значимо ниже, чем в кластере пациентов с легким течением COVID-19. Полученные данные согласуются с ранее проведенными исследованиями.

Инфекция SARS-CoV-2 приводит к задействованию защитных иммунных механизмов как ответ хозяина для разрешения инфекции в попытке ограничить разрастающуюся воспалительную реакцию. Однако эти защитные механизмы, по-видимому, не срабатывают у пациентов с тяжелой пневмонией COVID-19, что приводит к системному воспалению и нарушению регуляции реакции циркулирующих фагоцитов, что, в свою очередь, способствует вторичному повреждению органов [54].

Все больше данных свидетельствует о том, что функция фагоцитов у пациентов с тяжелой пневмонией COVID-19 нарушается, что способствует неконтролируемому системному воспалению с последующим повреждением органов [24, 51, 123, 125, 145]. Более того, нарушение активности фагоцитов связано с повышенной восприимчивостью к вторичным инфекциям [19, 188].

Макрофаги, происходящие из моноцитов, связаны с возникновением, прогрессированием и разрешением как острого, так и хронического воспаления [48, 116, 167]. Более того, реакции макрофагов у пациентов с COVID-19 нарушены, и эти клетки демонстрируют воспалительный фенотип, который связан с усилением воспаления и повреждения тканей [54, 113].

Нейтрофилы являются первичными эффекторными клетками врожденного иммунитета и играют решающую роль в борьбе с инфекцией путем поглощения и переваривания патогенов (фагоцитоза) и дегрануляции. Активированные нейтрофилы также высвобождают внеклеточные ловушки нейтрофильных клеток (NETs) в ответ на различные стимулы [126].

В нашем исследовании показано задействование и изменение только моноцитарного звена фагоцитоза. В то время как активность нейтрофильного звена фагоцитоза не зависела от исходной степени тяжести и не менялась. Динамика моноцитарного индекса в крови через 30 дней после начала лечения взаимосвязана с исходной степенью тяжести пациента. Было выявлено, что через 30 дней после начала лечения у пациентов со среднетяжелым поражением легких моноцитарный индекс статистически значимо вырос и стал сопоставим с данным показателем при легком течении заболевания.

В других исследованиях также продемонстрировано, что усиление агрегации тромбоцитов и лейкоцитов у пациентов с COVID-19 связано с усилением экспрессии моноцитарного тканевого фактора (CD142) моноцитами [123].

Koenis D.S. и соавторы показали усиление регуляции маркеров активации и подавление фагоцитоза золотистого стафилококка в циркулирующих фагоцитах у пациентов с COVID-19 [162, 163].

#### **4.4 Иммуновак-ВП-4 в комплексном лечении пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких средней степени тяжести**

Мукозальный иммунитет дыхательных путей и фагоцитоз стали одними из важных мишеней в противостоянии COVID-19. Раннее усиление местной иммунной защиты может ограничить первоначальную репликацию SARS-CoV-2 и предотвратить тяжелое развитие болезни. Помимо специфических противовирусных препаратов и системной противовоспалительной терапии, в остром и раннем восстановительном периоде COVID-19 применялись различные иммунологические средства для коррекции слизистого иммунитета: бактериальные лизаты, иммуноглобулины, интерфероны, агонисты Toll-рецепторов, вакцины для назального введения, а также пробиотики и связанные с ними препараты. Многие из них показали способность повышать уровень sIgA и усиливать врожденный иммунный ответ на уровне носоглотки, что сопровождается клинической пользой – сокращением длительности симптомов, уменьшением вирусной нагрузки и улучшением исходов болезни [12, 28, 164]. Однако эффективность подобных вмешательств часто зависит от своевременности применения (например, интерфероны полезны на ранней фазе, а не в разгар цитокинового шторма) [38, 175].

Стоит подчеркнуть, что накопленный опыт стимулировал развитие новых профилактических и терапевтических стратегий. Мукозальные вакцины против SARS-CoV-2 способны вызвать локальный иммунитет, недостижимый традиционными прививками, и могут снизить распространение вируса [25]. Широкоспектровые иммуномодуляторы, тренирующие врожденный иммунитет

(как бактериальные лизаты и TLR-агонисты), потенциально защищают не только от коронавируса, но и от других респираторных инфекций [28]. Модуляция микробиоты про- и постбиотиками представляет собой способ укрепления как кишечного, так и легочного иммунного барьера, что важно в восстановлении после инфекции [141].

Нами была проведена оценка эффективности и безопасности применения бактериального лизата Иммуовак-ВП-4 в лечении пациентов со среднетяжелым течением COVID-19. Было показано, что интраназальное и пероральное введение вакцины Иммуовак-ВП-4 не сопровождалось развитием местных реакций со стороны слизистых верхних дыхательных путей и системных нежелательных явлений. При этом выявлено положительное влияние Иммуовак ВП-4 на динамику фарингеального sIgA и сохранение тенденции к росту через 30 дней по сравнению с группой пациентов, не получавших Иммуовак ВП-4. Интенсивность повышения уровня МИ относительно исходного была также большей в группе Иммуовак-ВП-4.

Анализ клинических показателей эффективности Иммуовак-ВП-4 в комплексном лечении пациентов со среднетяжелым COVID-19 показал, что продолжительность лихорадки и госпитализации были ниже в группе Иммуовак ВП-4 по сравнению с группой контроля.

В рамках нашего исследования была подтверждена причинно-следственная связь между применением бактериального лизата Иммуовак-ВП-4 и клиническим улучшением. Усиление местного иммунитета и фагоцитоза стало прямой причиной улучшения клинических исходов: сокращения продолжительности лихорадки и уменьшения длительности госпитализации у пациентов со среднетяжелым течением COVID-19.

Таким образом, глубокое понимание механизмов, с помощью которых активируется иммунный ответ при инфекции SARS-CoV-2, роли и вклада врожденного и адаптивного иммунного ответа в выздоровление или ухудшение течения заболевания, имеет решающее значение для разработки новых терапевтических протоколов или методов лечения COVID-19, которые

потенциально могут обеспечить защиту и долгосрочную иммунную память [12, 30, 28, 164].

Таким образом, накопленные данные позволяют сделать вывод о том, что целенаправленная модуляция мукозального иммунитета и фагоцитоза является перспективной стратегией в лечении COVID-19. Следовательно, интеграция этих подходов в терапевтические и реабилитационные протоколы является логичным следствием понимания патогенеза COVID-19 и открывает новые возможности для контроля над респираторными инфекциями в будущем.

#### **4.5 Отдаленное влияние иммунокоррекции препаратом Иммуновак-ВП-4 у исследуемых пациентов в постковидный период**

Вирусные инфекции могут оказывать на иммунную систему более серьезное воздействие. Согласно результатам исследований, даже спустя полгода после выздоровления у большинства людей, перенесших SARS-CoV-2, наблюдаются явные изменения в адаптивной иммунной системе. У людей, перенесших COVID-19, постоянно присутствовали крупные клоны Т-клеточных рецепторов/В-клеточных рецепторов (TCR/BCR), сниженное разнообразие TCR/BCR, уменьшение В-клеток, но увеличение плазматических клеток, а также антител, нейтрализующих SARS-CoV-2. Эти изменения могут повлиять на иммунную систему организма в целом, что может снизить ее способность бороться с другими инфекциями [72, 81, 82].

Нами был проведен анализ частоты развития новых эпизодов острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) и внебольничной пневмонии после перенесенного COVID-19 в период 2–4 месяца после выписки из стационара.

Для характеристики «стандартной» динамики изначально анализировалась только группа контроля в зависимости от степени тяжести COVID-19. Учитывалось кумулятивное (накопленное) число случаев заболеваний за 2, 3 и 4 месяца.

Было выявлено, что кумулятивная заболеваемость ОРВИ не зависела от тяжести перенесенного COVID-19. В то время как кумулятивная заболеваемость

внебольничной пневмонией была выше у исходно более тяжелых пациентов во всех анализируемых временных точках после выписки, причем различия объяснились большим числом пациентов без заболевания в кластере менее тяжелых пациентов. Таким образом, риск развития пневмонии после COVID-19 (в пересчете на 1000 человеко-дней) был статистически значимо выше в кластере пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 по сравнению с пациентами с легким течением в 5,1 [1,7–15,8] раза через 2 месяца после выписки, в 3,9 [1,4–11,2] раз через 3 месяца и в 2,5 [1,03–6,4] раза через 4 месяца после выписки из стационара.

Согласно исследованиям, антитела, специфичные к SARS-CoV-2, сохраняются в организме даже спустя 6 месяцев после выздоровления. Из-за нарушений адаптивной иммунной системы, таких как низкое количество CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Т-клеток и высокая восприимчивость к инфекциям, пациентам с COVID-19 длительное время может потребоваться и медицинская помощь для полного восстановления после иммунных нарушений и повреждения тканей [81, 106, 178].

Далее проводился анализ частоты развития ОРВИ и пневмонии в значимости от получаемого лечения и с учетом тяжести пациента. Интенсивность заболеваемости пневмонией после выписки зависела только от исходной тяжести пациента и не зависела от группы лечения.

В то же время было выявлено, что заболеваемость ОРВИ после COVID-19 статистически значимо зависела от получаемого лечения и не зависела от тяжести течения COVID-19. Риск развития ОРВИ после COVID-19 (в пересчете на 1000 человеко-дней) с корректировкой на тяжесть COVID-19 был статистически значимо выше у пациентов группы контроля по сравнению с пациентами, получавшими Иммуновак-ВП-4 [6], во всех рассматриваемых временных точках: через 2 месяца после выписки в 9,9 [2,7–33] раза, через 3 месяца в 9,0 [6,7–27] раз и через 4 месяца в 4,9 [2,5–9,9] раза.

Коррекция мукозального иммунитета рассматривается как перспективное направление в ведении пациентов с COVID-19. Поддержание высоких уровней sIgA и эффективной работы фагоцитов на слизистых потенциально обеспечивает лучшую защиту от присоединения вторичных инфекций и способствует

благоприятному исходу заболевания. Комплексное применение таких средств в сочетании со стандартной противовирусной и противовоспалительной терапией может уменьшить риск острых респираторных инфекций в восстановительном периоде и повысить резистентность дыхательных путей к патогенам [11].

Проведенный анализ позволяет сделать вывод о наличии долгосрочных последствий COVID-19 для иммунной системы, которые непосредственно определяют повышенную восприимчивость к вторичным инфекциям.

Вследствие перенесенной инфекции SARS-CoV-2 в адаптивной иммунной системе наблюдаются стойкие изменения, такие как снижение Т- и В-клеточных рецепторов и уменьшение количества В-клеток. В результате этого системного нарушения происходит снижение общей способности иммунитета адекватно реагировать на другие патогены, что и объясняет повышенную частоту заболеваний в постинфекционный период.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проведенном нами исследовании тяжелая степень поражения легких отмечена в 1,9% случаев, среднетяжелая степень – в 65,7% случаев, легкая степень поражения легких – в 32,4% случаев. Наиболее часто встречающимися клиническими проявлениями COVID-19 являлись повышение температуры тела (80%), кашель (70,5%), слабость и повышенная утомляемость (60,9%).

Кластерный анализ выделил на основании совокупности факторов (уровень SpO<sub>2</sub>, СРБ, АСТ) 2 кластера пациентов. Согласно клиническим рекомендациям [3], клинические и лабораторные параметры кластеров соответствовали критериям средней и легкой степени тяжести COVID-19. Первый кластер характеризовался статистически значимо более высоким уровнем СРБ, АСТ, более низким уровнем SpO<sub>2</sub> и поражение легких средней степени тяжести (КТ II ст), а второй кластер подходил под критерии легкого течения COVID-19 и имели поражение легких легкой степени тяжести (КТ I ст).

Уровень sIgA определялся в слюне, в фарингеальном и назальном соскобах. Определение исходных уровней sIgA в исследуемых средах показало статистически значимые различия по сравнению с их нормальными значениями. Исходный уровень назального, фарингеального sIgA и sIgA в слюне был статистически значимо ниже в кластере пациентов со среднетяжелым течением по сравнению с группой пациентов с легким течением.

Выявлена статистически значимая обратная корреляция назального sIgA с уровнем СРБ, АСТ и степени тяжести поражения легких по данным КТ ОГК; обратная взаимосвязь уровня фарингеального sIgA с концентрацией СРБ и прямая корреляция уровня sIgA в слюне и SpO<sub>2</sub>. Таким образом, более высоким значениям sIgA соответствуют более низкие значения СРБ, АСТ и объема поражения легких по КТ и более высокий уровень SpO<sub>2</sub>.

Анализ динамики уровней sIgA у пациентов, получавших стандартное лечение, проводился через 14 и 30 дней от начала лечения. Назальный sIgA не показал статистически значимого изменения относительно исходного уровня ни в

целом, ни в зависимости от степени тяжести. В то же время для фарингеального sIgA были выявлены статистически значимые изменения через 14 дней относительно исходного уровня, которые зависели от исходной степени тяжести. В кластере среднетяжелых пациентов отмечалось статистически значимое увеличение уровня фарингеального sIgA через 14 дней после госпитализации с последующим снижением через 30 дней. Через 14 дней после госпитализации уровень фарингеального sIgA в кластере пациентов с течением COVID-19 средней степени тяжести стал статистически значимо выше, чем в кластере пациентов с легким течением; через 30 дней уровни фарингеального sIgA статистически значимо не различались. Динамика sIgA в слюне зависела также от исходной степени тяжести, статистически значимые изменения наблюдались как через 14 дней после госпитализации, так и через 30 дней. Исходно уровень sIgA в слюне был выше в кластере пациентов с легким течением по сравнению со среднетяжелыми пациентами, но через 14 дней после госпитализации sIgA в кластере пациентов с легким течением статистически значимо снизился, через 30 дней оставался на уровне 14 дней. Уровень sIgA в слюне в кластере среднетяжелых пациентов (исходно более низкий), напротив, через 30 дней после госпитализации вырос относительно исходного уровня.

Для определения фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов в периферической крови использовался нейтрофильный и моноцитарный индекс. Исходный средний медианный нейтрофильный индекс и моноцитарный индекс пациентов со среднетяжелым и легким COVID-ассоциированным поражением легких находились в интервале нормальных референсных значений.

Корреляционный анализ выявил статистически значимую прямую корреляцию моноцитарного индекса в крови и показателя SpO<sub>2</sub>; обратную корреляцию моноцитарного индекса в крови с уровнем СРБ и степенью поражения легких по КТ. Таким образом, более высокий моноцитарный индекс в крови (на момент госпитализации) ассоциирован с более низким уровнем СРБ, меньшей степенью поражения легких по КТ и более высоким уровнем сатурации. Соответственно в кластере пациентов со среднетяжелым течением моноцитарный

индекс был статистически значимо ниже, чем в кластере пациентов с легким течением COVID-19.

Анализ показателей фагоцитарной активности лейкоцитов в динамике в зависимости от степени тяжести на фоне стандартного лечения показал, что динамика моноцитарного индекса в крови через 30 дней после начала лечения взаимосвязана с исходной степенью тяжести пациента. Через 30 дней после начала лечения у пациентов со среднетяжелым поражением легких моноцитарный индекс статистически значимо вырос и стал сопоставим с моноцитарным индексом группы пациентов с легким течением. Нейтрофильный индекс в крови не зависел от исходной степени тяжести и не менялся в динамике.

Оценка эффективности и безопасности применения бактериального лизата Иммуновак-ВП-4 в лечении пациентов со среднетяжелым течением COVID-19. Было показано, что интраназальное и пероральное введение вакцины Иммуновак-ВП-4 не сопровождалось развитием местных реакций со стороны слизистых верхних дыхательных путей и системных нежелательных явлений. При этом выявлено положительное влияние Иммуновак ВП-4 на динамику фарингеального sIgA и сохранение тенденции к росту через 30 дней по сравнению с группой пациентов, не получавших Иммуновак ВП-4. Интенсивность повышения уровня МИ относительно исходного была также большей в группе Иммуновак-ВП-4.

Анализ клинических показателей эффективности Иммуновак-ВП-4 в комплексном лечении пациентов со среднетяжелым COVID-19 показал, что продолжительность лихорадки и госпитализации были ниже в группе Иммуновак ВП-4 по сравнению с группой контроля.

Далее был проведен анализ частоты развития новых эпизодов острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) и внебольничной пневмонии после перенесенного COVID-19 в период 2–4 месяца после выписки из стационара.

Для характеристики «стандартной» динамики изначально анализировалась только группа контроля в зависимости от степени тяжести COVID-19. Учитывалось кумулятивное (накопленное) число случаев заболеваний за 2, 3 и 4 месяца.

Было выявлено, что кумулятивная заболеваемость ОРВИ не зависела от тяжести перенесенного COVID-19. В то время как кумулятивная заболеваемость внебольничной пневмонией была выше у исходно более тяжелых пациентов во всех анализируемых временных точках после выписки, причем различия объяснились большим числом пациентов без заболевания в кластере менее тяжелых пациентов. Таким образом, риск развития пневмонии после COVID-19 (в пересчете на 1000 человеко-дней) был статистически значимо выше в кластере пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 по сравнению с пациентами с легким течением в 5,1 [1,7–15,8] раза через 2 месяца после выписки, в 3,9 [1,4–11,2] раз через 3 месяца и в 2,5 [1,03–6,4] раза через 4 месяца после выписки из стационара.

Далее проводился анализ частоты развития ОРВИ и пневмонии в значимости от получаемого лечения и с учетом тяжести пациента. Интенсивность заболеваемости пневмонией после выписки зависела только от исходной тяжести пациента и не зависела от группы лечения.

В то же время было выявлено, что заболеваемость ОРВИ после COVID-19 статистически значимо зависела от получаемого лечения и не зависела от тяжести течения COVID-19. Риск развития ОРВИ после COVID-19 (в пересчете на 1000 человеко-дней) с корректировкой на тяжесть COVID-19 был статистически значимо выше у пациентов группы контроля по сравнению с пациентами, получавшими Иммуновак-ВП-4 [6], во всех рассматриваемых временных точках: через 2 месяца после выписки в 9,9 [2,7–33] раза, через 3 месяца в 9,0 [6,7–27] раз и через 4 месяца в 4,9 [2,5–9,9] раза.

Следовательно, комплексное ведение пациентов, перенесших COVID-19, должно учитывать выявленные причинно-следственные связи. Учитывая, что ключевой проблемой является нарушение иммунной регуляции, перспективным направлением является коррекция мукозального иммунитета. Целенаправленная поддержка местных защитных факторов, таких как sIgA и активность фагоцитов, потенциально позволяет усилить резистентность дыхательных путей к патогенам. Поэтому включение иммунокорректирующих средств в комплексную

реабилитацию может стать эффективной мерой для снижения риска вторичных инфекций и полного восстановления пациентов.

## ВЫВОДЫ

1. В проведенном исследовании у госпитализированных пациентов чаще встречалось поражение легких средней степени тяжести; легкая степень поражения легких зафиксирована в 1/3 случаев. Наиболее часто встречающимися клиническими проявлениями COVID-19 являлись повышение температуры тела, кашель, слабость и повышенная утомляемость. Кластерный анализ на основании комбинации функциональных ( $SpO_2$ ) и лабораторных (СРБ, АСТ) показателей позволил стратифицировать пациентов с COVID-19 по степени тяжести поражения легких.

2. У пациентов с COVID-ассоциированным поражением легких уровень назального, фарингеального sIgA и sIgA в слюне снижается и имеет обратную взаимосвязь со степенью тяжести заболевания. Отмечена положительная динамика восстановления секреции фарингеального sIgA и sIgA в слюне через 30 дней от начала заболевания на фоне стандартного лечения.

3. Нарушение фагоцитарной активности лейкоцитов при COVID-19 избирательно затрагивает моноциты и коррелирует с тяжестью заболевания. Фагоцитарная активность моноцитов у пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 восстанавливается к 30-му дню от начала лечения. Фагоцитарная активность нейтрофилов при среднетяжелом и легком течении COVID-19 не снижается и не меняется в динамике.

4. Применение бактериального лизата Иммуновак-ВП-4 в комплексном лечении пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 продемонстрировало отсутствие местных и системных нежелательных реакций при интраназальном и пероральном введении, сохранение повышенного уровня фарингеального sIgA и фагоцитарной активности моноцитов через 30 дней от начала лечения, ускорение клинического выздоровления и сокращение сроков госпитализации.

5. Добавление Иммуновак-ВП-4 к терапии COVID-19 средней степени тяжести снижает риск новых эпизодов острой респираторной вирусной инфекции

в течение 4 месяцев после выписки и подтверждает его роль в долгосрочной модуляции иммунитета после перенесенного COVID-19.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Комбинацию функциональных ( $SpO_2$ ) и лабораторных (СРБ, АСТ) показателей можно использовать для ранней стратификации степени тяжести COVID-ассоциированного поражения легких.
2. Определение содержания и динамики восстановления уровня назального, фарингеального sIgA и sIgA в слюне у пациентов с COVID-19 позволяет выявить нарушения мукозального иммунитета и разработать стратегию иммуномодулирующей терапии в острый период COVID-19.
3. Мониторинг моноцитарного индекса позволяет объективно оценивать эффективность терапии, риск развития бактериальных осложнений.
4. Применение Иммуовак-ВП-4 в качестве адьювантной терапии у пациентов со среднетяжелым COVID-19 способствует улучшению состояния мукозального иммунного ответа, фагоцитарной функции моноцитов, ускоряет клиническое выздоровление и сокращает длительность госпитализации.
5. Для снижения риска развития ОРВИ после перенесенного COVID-19 целесообразно включать Иммуовак-ВП-4 в комплексное лечение острой фазы COVID-19.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АБ – азоксимера бромид

АСТ – аспаратаминотрансфераза

БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж

БЛ – бактериальные лизаты

ВВИГ – введение высокодозного внутривенного иммуноглобулина

ГКС – глюкокортикостероиды

ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

ДН – дыхательная недостаточность

ИВДП – инфекций верхних дыхательных путей

ИВЛ – искусственная вентиляция лёгких

ИК – индекс курения

ИЛ – интерлейкин

ИМТ – индекс массы тела

ИНФ – интерферон

КТ ОГК – компьютерная томография органов грудной клетки

МИ – моноцитарный индекс

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

НИВЛ – неинвазивная искусственная вентиляция лёгких

НИ – нейтрофильный индекс

ОМ-85 – оральная бактериальная лизат

ОРВИ – острые респираторные вирусные инфекции

ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром

ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии

РНК – рибонуклеиновая кислота

СРБ – С-реактивный белок

ФА – фагоцитарная активность

ФНО – фактор некроза опухоли

АСЕ2 – ангиотензин превращающий фермент II типа

APC – антигенпрезентирующие клетки

BRM – резидентные В-клетки памяти

COVID-19 – коронавирусная инфекция 2019 года

CTLs – цитотоксические Т-лимфоциты

CD4+ – Т-лимфоциты или Т-хелперы

CD68+ – кластер дифференцировки 68, макросиалин — гликопротеин из семейства LAMP, экспрессирован на поверхности моноцитов и макрофагов, используется в качестве маркера макрофагов

CD169+ – сиалоадгезин – белок, молекула клеточной адгезии, локализующийся на макрофагах

CD14+ – мембранный гликозилфосфатидилинозитол – связанный белок, экспрессированный на поверхности клеток миелоидного ряда

CCR2+ — рецептор  $\beta$ -хемокинов млекопитающих класса интегральных мембранных белков

CD142 – моноцитарный тканевой фактор

Cit-H3 – цитруллинированный гистон H3

DAMPs – молекулярный фрагмент, ассоциированный с повреждениями

Ig – иммуноглобулин

MAIT-клетки – мукозальные инвариантные Т-клетки

MDA5 – белок, ассоциированный с дифференцировкой меланомы

MUC1 – муцин-1 — мембранный белок, протеогликан из группы муцинов

MUC-5AC – муцин - 5AC - крупный гелеобразующий гликопротеин, кодирующийся геном MUC5AC у человека

MUC5B – муцин 5B – белок, олигомерный муцин, образующий гель

MPO-ДНК – миелопероксидаза – ДНК

NET – внеклеточные ловушки нейтрофилов

NETs – внеклеточные ловушки нейтрофильных клеток

NE – нейтрофильная эластаза

NK-клетки – натуральные клетки киллеры

NSP – неструктурные белки

ORF9b – белок, кодирующийся геномами коронавируса

ORF3a – трансмембранный белок, который содержит 3 трансмембранных домена

ORF6 – ген, кодирующий вирусный вспомогательный белок в коронавирусах подрода Sarbecovirus

ORF7a – ген, обнаруженный в коронавирусах рода Betacoronavirus

PAMPs – патоген - ассоциированный молекулярный паттерн

pDC – плазмоцитоподобные дендритные клетки

PRR (DDX58) – паттернраспознающие рецепторы

RIG-I – внутриклеточный рецептор опознавания паттерна

SARS-CoV-2 – оболочечный одноцепочный РНК-вирус, относящийся к подроду Sarbecovirus рода Betacoronavirus

sIgA – секреторный IgA

SpO<sub>2</sub> – сатурация, степень насыщения крови кислородом

SPM – липидные медиаторы

Th – Т-клетки-хелперы

TLR – Toll-подобные рецепторы

TRM – резидентные Т-клетки памяти

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – пероксид водорода

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Бактериальные лиганды в комплексном лечении внебольничных пневмоний в организованных коллективах / М.П. Костинов, В.В. Зверев, В.Р. Татевосов [и др.] // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук. – 2025. – Т. 22, № 1. – С. 45–56.
2. Взаимосвязь уровня эозинофилов с исходами тяжелой формы COVID-19 при астме пожилых / А. А. Позднякова, В. В. Гайнитдинова, З. М. Мержоева [и др.] // Респираторная медицина. – 2025. – Т. 1, № 1. – С. 5–14.
3. Временные клинические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) / Минздрав РФ. – Версия 13 (14.10.2021). – URL: [https://static0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/052/548/original/%D0%9C%D0%A0\\_COVID-19\\_%28v.9%29.pdf?1603730062](https://static0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/052/548/original/%D0%9C%D0%A0_COVID-19_%28v.9%29.pdf?1603730062). – Текст : электронный.
4. Зырянов, С.К. Эффективность включения азоксимера бромида в схемы введения пациентов с тяжелым течением COVID-19 в отделении реанимации и интенсивной терапии / С.К. Зырянов, О.И. Бутранова // Терапия. – 2022. – Т. 5. – С. 38. – doi:10.18565/therapy.2022.5.7-17.
5. Коррекция иммунного статуса у госпитализированных пациентов с COVID-19 иммунотропным препаратом на фоне базисной терапии / Е.А. Хромова, М.П. Костинов, С.А. Сходова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2024. – Т. 26, № 2. – С. 355–366.
6. Крюкова, Н. Состояние мукозального иммунитета у медицинских работников, перенесших COVID-19 : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук : 3.1.29. ; 3.2.76. / Крюкова Надежда Олеговна; [Место защиты: Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова ; Диссовет 21.2.058.11 (Д 208.072.18)]. – Москва, 2023. – 127 с.

7. Механизмы изменений иммунной системы при COVID-19 / М.П. Костинов, В.Н. Осипцов, В.Р. Татевосов [и др.] // Медицинский вестник МВД. – 2022. – Т. 120, № 5. – С. 73–75.
8. Общая и клиническая иммунология : учебно-методическое пособие / О.В. Скороходкина, Р.Ф. Хакимова, А.А. Васильева [и др.]. – Казань : КГМУ, 2018. – 192 с.
9. Позднякова, А. А. Тяжелая форма COVID-19 и бронхиальная астма пожилых: особенности течения, исходы, предикторы летальности : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук : 3.1.29. / Позднякова Анна Алексеевна; [Место защиты: Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) ; Диссовет ДСУ 208.001.33]. – Москва, 2023. - 128 с.
10. Позднякова, А. А. Тяжелая форма COVID-19 и бронхиальная астма пожилых : особенности течения, исходы, предикторы летальности : автореферат дис. ... кандидата медицинских наук : 3.1.29. / Позднякова Анна Алексеевна; [Место защиты: ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) ; Диссовет ДСУ 208.001.33]. - Москва, 2024. - 24 с.
11. Секреторный IgA и течение COVID-19 у пациентов, получающих в дополнение к фоновой терапии иммуностимулятор на основе бактерий / М.П. Костинов, О.А. Свитич, А.Г. Чучалин [и др.] // Sci. Rep. – 2024. – Т. 14, № 1. – С. 11101. – doi:10.1038/s41598-024-61341-7.
12. Секреторный IgA у пациентов с COVID-19 при различных способах применения поликомпонентной вакцины «Иммуовак-ВП-4» / М.П. Костинов, Н.Д. Абрамова, В.Н. Осипцов [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2023. – Т. 26, № 4. – С. 657–664. – doi:10.46235/1028-7221-13541-SII.
13. Фагоцитарная активность лейкоцитов у пациентов с COVID-19 / М.П. Костинов, В.В. Гайнитдинова, В.Н. Осипцов [и др.] // Пульмонология. – 2024. – Т. 34, № 6. – С. 846–856. – doi:10.18093/0869-0189-2024-34-6-846-856.

14. Эффективность иммунотерапии в комплексном лечении внебольничной пневмонии легкого течения в организованных коллективах / В.Р. Татевосов, М.П. Костинов, А.Д. Протасов [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2024. – Т. 19, № 2. – С. 101–110. – doi:10.17021/1992-6499-2024-2-101-110.
15. A dynamic COVID-19 immune signature includes associations with poor prognosis / A.G. Laing, A. Lorenc, I. del Molino del Barrio [et al.] // Nat. Med. – 2020. – Vol. 26. – P. 1623–1635. – doi:10.1038/s41591-020-1038-6.
16. A potential role of interleukin 10 in COVID-19 pathogenesis / L. Lu, H. Zhang, D.J. Dauphars, Y.W. He // Trends Immunol. – 2021. – Vol. 42. – P. 3–5. – doi:10.1016/j.it.2020.10.012.
17. A single-cell atlas of the peripheral immune response in patients with severe COVID-19 / A.J. Wilk, A. Rustagi, N.Q. Zhao [et al.] // Nat. Med. – 2020. – Vol. 26. – P. 1070–1076.
18. A virus-binding hot spot on human angiotensin-converting enzyme 2 is critical for binding of two different coronaviruses / K. Wu, L. Chen, G. Peng [et al.] // J. Virol. – 2011. – Vol. 85. – P. 5331–5337.
19. Acetylated histones in apoptotic microparticles drive the formation of neutrophil extracellular traps in active lupus nephritis / N. Rother, E. Pieterse, J. Lubbers [et al.] // Front. Immunol. – 2017. – Vol. 8. – P. 1136. – doi:10.3389/fimmu.2017.01136.
20. 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. – P. 3810. – doi:10.1038/s41467-020-17665-9.
21. Agafonova, E. Mucosal Immunity After Novel COVID-19 Infection – Virus-Induced Immunosuppression: Preliminary Study / E. Agafonova, I. Reshetnikova, F. Rizvanova // Bionanoscience. – 2022. – Vol. 12, № 4. – P. 1473–1481. – doi:10.1007/s12668-022-01020-x.
22. Age-related expression of IFN- $\lambda$ 1 versus IFN-I and beta-defensins in the nasopharynx of SARS-CoV-2-infected individuals / C. Gilbert, C. Lefeuvre, L. Preisser [et al.] // Front. Immunol. – 2021. – Vol. 12. – doi:10.3389/fimmu.2021.750279.

23. Airway-resident T cells from unexposed individuals cross-recognize SARS-CoV-2 / M.O. Diniz, E. Mitsi, L. Swadling [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2022. – Vol. 23. – P. 1324–1329. – doi:10.1038/s41590-022-01292-1.
24. Al-Banna, N. Oxidized LDL and LOX-1 in experimental sepsis / N. Al-Banna, C. Lehmann // *Mediators Inflamm.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 761789.
25. An intranasally administered adenovirus-vectored SARS-CoV-2 vaccine induces robust mucosal secretory IgA / B. Sun, Q. Wang, P. Zheng [et al.] // *JCI Insight.* – 2024. – Vol. 9, № 18. – P. e180784. – doi:10.1172/jci.insight.180784.
26. Association between selective IgA deficiency and COVID-19 / Y. Naito, T. Takagi, T. Yamamoto [et al.] // *J. Clin. Biochem. Nutr.* – 2020. – Vol. 67. – P. 122–125. – doi:10.3164/jcbn.20-102.
27. 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. – P. 4585. – doi:10.1126/science.abd4585.
28. Bacterial lysates in modifying sIgA levels in the upper respiratory tract in COVID-19 patients / M. Kostinov, A. Chuchalin, O. Svitich [et al.] // *Scientific Reports.* – 2025. – Vol. 15. – P. 8325. – doi:10.1038/s41598-025-92794-z.
29. Benefits of high-dose intravenous immunoglobulin on mortality in patients with severe COVID-19: An updated systematic review and meta-analysis / X. Liu, Y. Zhang, L. Lu [et al.] // *Frontiers in Immunology.* – 2023. – Vol. 14. – P. 1116738. – doi:10.3389/fimmu.2023.1116738.
30. Brief research report: OM-85 reduces SARS-CoV-2 viral RNA expression in nasopharyngeal cells from COVID-19 patients / G. Cassão, K.H. Antunes, J.I.B. Gonçalves [et al.] // *Front. Virol.* – 2023. – Vol. 3. – P. 1111619. – doi:10.3389/fviro.2023.1111619.
31. Canatan, D. The multifacets of COVID-19 in adult patients: a concise clinical review on pulmonary and extrapulmonary manifestations for healthcare physicians / D. Canatan, J.L. Vives Corrons, V. De Sanctis // *Acta Biomed.* – 2020. – Vol. 91. – P. e2020173. – doi:10.23750/abm.v91i4.10334.

32. Cellular events of acute, resolving or progressive COVID-19 in SARS-CoV-2 infected non-human primates / M.D. Fahlberg, R.V. Blair, L.A. Doyle-Meyers [et al.] // *Nat. Commun.* – 2020. – Vol. 11. – P. 6078. – doi:10.1038/s41467-020-19967-4.
33. Changes in nasal, pharyngeal and salivary secretory IgA levels in patients with COVID-19 and the possibility of correction of their secretion using combined intranasal and oral administration of a pharmaceutical containing antigens of opportunistic microorganisms / M. Kostinov, O. Svitich, A. Chuchalin [et al.] // *Drugs Context.* – 2023. – Vol. 12. – P. 2022-10-4. – doi:10.7573/dic.2022-10-4.
34. Chao, Y.X. The role of IgA in COVID-19 / Y.X. Chao, O. Röttschke, E.-K. Tan // *Brain, Behavior, and Immunity.* – 2020. – Vol. 87. – P. 182–183. – doi:10.1016/j.bbi.2020.05.057.
35. Chatterjee, M. Defensive properties of mucin glycoproteins during respiratory infections – relevance for SARS-CoV-2 / M. Chatterjee, J.P.M. van Putten, K. Strijbis // *MBio.* – 2020. – Vol. 11. – P. 1–12. – doi:10.1128/mBio.02374-20.
36. Clinical characteristics of COVID-19 in New York City / P. Goyal, J.J. Choi, L.C. Pinheiro [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2020. – Vol. 382. – P. 2372–2374. – doi:10.1056/NEJMc2010419.
37. Clinical progression of patients with COVID-19 in Shanghai, China / J. Chen, T. Qi, L. Liu [et al.] // *J. Infect.* – 2020. – Vol. 80. – P. e1–e6. – doi:10.1016/j.jinf.2020.03.004.
38. Clinical trials of inhaled interferon beta-1a (SNG001) in COVID-19 patients in the home and hospital / P.D. Monk, J. Brookes, V.J. Tear [et al.] // *European Respiratory Journal.* – 2023. – Vol. 62, № 67. – P. PA1691. – doi:10.1183/13993003.congress-2023.PA1691.
39. Commercial immunoglobulin products contain neutralizing antibodies against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 spike protein / V. Upasani, K. Townsend, M. Y. Wu [et al.] // *Clinical Infectious Diseases.* – 2023. – Vol. 77. – P. 950–960. – doi:10.1093/cid/ciad368.
40. Conversion of monoclonal IgG to dimeric and secretory IgA restores neutralizing ability and prevents infection of Omicron lineages / H. Marcotte, Y. Cao, F.

Zuo [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2024. – Vol. 121. – doi:10.1073/pnas.2315354120.

41. Cooperative action of oxidized low-density lipoproteins and neutrophils on endothelial inflammatory responses through neutrophil extracellular trap formation / T. Obama, H. Ohinata, T. Takaki [et al.] // Front. Immunol. – 2019. – Vol. 10. – P. 1899. – doi:10.3389/fimmu.2019.01899.

42. Coronavirus disease 2019 in patients with inborn errors of immunity: an international study / I. Meyts, G. Bucciol, I. Quinti [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2021. – Vol. 147. – P. 520–531. – doi:10.1016/j.jaci.2020.09.010.

43. COVID-19 infection: an overview on cytokine storm and related interventions / S. Montazersaheb, S.M. Hosseiniyan Khatibi, M.S. Hejazi [et al.] // Virology Journal. – 2022. – Vol. 19. – P. 92. – doi:10.1186/s12985-022-01814-1.

44. 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.

45. 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.

46. COVID-19–associated endothelial dysfunction and microvascular injury / M.P. Canale, M. De Rosa, A. Campia [et al.] // Card. Electrophysiol. Clin. – 2022. – Vol. 14, № 1. – P. 21–28. – doi:10.1016/j.ccep.2021.11.002.

47. C-reactive protein and clinical outcome in COVID-19 patients: the importance of harmonized measurements / E. Aloisio, G. Colombo, A. Dolci, M. Panteghini // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. – 2023. – Vol. 61, № 9. – P. 1546–1551. – doi:10.1515/cclm-2023-0276.

48. Dalli, J. Does promoting resolution instead of inhibiting inflammation represent the new paradigm in treating infections? / J. Dalli // Mol. Aspects Med. – 2017. – Vol. 58. – P. 12–20.

49. Dalskov, L. Viral recognition and the antiviral interferon response / L. Dalskov, H.H. Gad, R. Hartmann // *EMBO J.* – 2023. – Vol. 42. – P. e112907. – doi:10.15252/embj.2022112907.
50. Demographic risk factors for COVID-19 infection, severity, ICU admission and death: a meta-analysis of 59 studies / B.G. Pijls, S. Jolani, A. Atherley [et al.] // *BMJ Open.* – 2021. – Vol. 11. – P. e044640. – doi:10.1136/bmjopen-2020-044640.
51. Development and application of high-content biological screening for modulators of NET production / I.J. Chicca, M.R. Milward, I.L.C. Chapple [et al.] // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 337.
52. Development of COVID-19 vaccine using a dual Toll-like receptor ligand liposome adjuvant / M.M. Abhyankar, B.J. Mann, J.M. Sturek [et al.] // *NPJ Vaccines.* – 2021. – Vol. 6. – P. 399. – doi:10.1038/s41541-021-00399-0.
53. Discovery and development of INNA-051, a TLR2/6 agonist for the prevention of complications resulting from viral respiratory infections / F.A. Mercuri, G.P. Anderson, B.E. Miller [et al.] // *Antiviral Research.* – 2025. – Vol. 234. – P. 106063. – doi:10.1016/j.antiviral.2024.106063.
54. Disrupted resolution mechanisms favor altered phagocyte responses in COVID-19 / D.S. Koenis, I. Beegun, C.C. Jouvène [et al.] // *Circ. Res.* – 2021. – Vol. 129, № 4. – P. e54–e71. – doi:10.1161/CIRCRESAHA.121.319142.
55. Durbin, R.K. Interferon induction and function at the mucosal surface / R.K. Durbin, S.V. Kotenko, J.E. Durbin // *Immunol. Rev.* – 2013. – Vol. 255, №1. – P. 25–39. – doi:10.1111/imr.12101.
56. Dynamics of clinical symptoms and secretory immunoglobulin a in COVID-19 convalescent patients / A.A. Khasanova, M.P. Kostinov, I.L. Soloveva [et al.] // *Russ. J. Infect. Immun.* – 2022. – Vol. 12, № 6. – P. 1113–1122. – doi:10.15789/2220-7619-DOC-2042.
57. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia / Q. Li, X. Guan, P. Wu [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2020. – Vol. 382. – P. 1199–1207. – doi:10.1056/NEJMoa2001316.

58. Early Treatment with Pegylated Interferon Lambda for Covid-19 / G. Reis, E.A.S. Moreira Silva, D.C. Medeiros Silva [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2023. – Vol. 388. – P. 518–528. – doi:10.1056/nejmoa2209760.
59. Early, Robust Mucosal Secretory Immunoglobulin A but not Immunoglobulin G Response to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Spike in Oral Fluid Is Associated With Faster Viral Clearance and Coronavirus Disease 2019 Symptom Resolution / N. Pisanic, A.A.R. Antar, M.K. Hetrich [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2025. – Vol. 231, № 1. – P. 121–130. – doi:10.1093/infdis/jiae447.
60. Effectiveness and durability of the BNT162b2 vaccine against Omicron sublineages in South Africa / S. Collie, J. Nayager, L. Bamford [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2022. – Vol. 387. – P. 1332–1333. – doi:10.1056/nejmc2210093.
61. Effects of interferon beta in COVID-19 adult patients: Systematic review / J.P. Sosa, M.M.F. Caceres, J.R. Comptis [et al.] // *Infection & Chemotherapy*. – 2021. – Vol. 53. – P. 247–260. – doi:10.3947/IC.2021.0028.
62. Elevated MUC1 and MUC5AC mucin protein levels in airway mucus of critically ill COVID-19 patients / W. Lu, X. Liu, T. Wang [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2021. – Vol. 93. – P. 582–584. – doi:10.1002/jmv.26406.
63. Evaluation of Type I Interferon Treatment in Hospitalized COVID-19 Patients: A Retrospective Cohort Study / V.Y. Tat, P. Huang, K. Khanipov [et al.] // *Pathogens*. – 2024. – Vol. 13. – P. 70539. – doi:10.3390/pathogens13070539.
64. Evasion of type I interferon by SARS-CoV-2 / H. Xia, Z. Cao, X. Xie [et al.] // *Cell Rep.* – 2020. – Vol. 33. – P. 108234. – doi:10.1016/j.celrep.2020.108234.
65. Expansion of cytotoxic tissue-resident CD8<sup>+</sup> T cells and CCR6<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T cells in the nasal mucosa following mRNA COVID-19 vaccination / A. Ssemaganda, H.M. Nguyen, F. Nuhu [et al.] // *Nat. Commun.* – 2022. – Vol. 13. – P. 3357. – doi:10.1038/s41467-022-30913-4.
66. Fajgenbaum, D.C. Cytokine storm / D.C. Fajgenbaum, C.H. June // *New England Journal of Medicine*. – 2020. – Vol. 383. – P. 2255–2273. – doi:10.1056/nejmra2026131.

67. Farshi, E. Investigation of immune cells on elimination of pulmonary-infected COVID-19 and important role of innate immunity, phagocytes / E. Farshi, B. Kasmapur, A. Arad // *Reviews in Medical Virology*. – 2021. – Vol. 31, № 2. – P. e2158. – doi:10.1002/rmv.2158.
68. Gavriilaki, E. Endothelial dysfunction in COVID-19: lessons learned from coronaviruses / E. Gavriilaki, P. Anyfanti, M. Gavriilaki // *Curr. Hypertens. Rep.* – 2020. – Vol. 22. – P. 63. – doi:10.1007/s11906-020-01081-0.
69. Genome-wide bidirectional CRISPR screens identify mucins as host factors modulating SARS-CoV-2 infection / S.B. Biering, S.A. Sarnik, E. Wang [et al.] // *Nat. Genet.* – 2022. – Vol. 54. – P. 1078–1089. – doi:10.1038/s41588-022-01131-x.
70. Glycosylated extracellular mucin domains protect against SARS-CoV-2 infection at the respiratory surface / M. Chatterjee, L.Z.X. Huang, A.Z. Mykytyn [et al.] // *PLoS Pathog.* – 2023. – Vol. 19. – P. e1011571. – doi:10.1371/journal.ppat.1011571.
71. Grivtsova, L.Y. Azoximer Bromide: Mystery, Serendipity, and Promise / L.Y. Grivtsova, N.A. Falaleeva, N.N. Tupitsyn // *Frontiers in Oncology*. – 2021. – Vol. 11. – P. 699546. – doi:10.3389/fonc.2021.699546.
72. Harker, J.A. Overlapping and distinct features of viral and allergen immunity in the human lung / J.A. Harker, C.M. Lloyd // *Immunity*. – 2021. – Vol. 54. – P. 617–631. – doi:10.1016/j.immuni.2021.03.004.
73. Hosseini-Nezhad, P. Medical perspective on COVID-19 / P. Hosseini-Nezhad, S. Hosseini-Nezhad, A. Hosseini-Nezhad / P. Hosseini-Nezhad // *Biopolitics and Shock Economy of COVID-19. Contributions to Economics* / N. Faghieh, A. Forouharfar (eds). – Cham: Springer, 2023. – doi:10.1007/978-3-031-27886-0\_2.
74. Human defensins inhibit SARS-CoV-2 infection by blocking viral entry / C. Xu, A. Wang, M. Marin [et al.] // *Viruses*. – 2021. – Vol. 13. – P. 1246. – doi:10.3390/v13071246.
75. Human sepsis eicosanoid and proresolving lipid mediator temporal profiles: correlations with survival and clinical outcomes / J. Dalli, R.A. Colas, C. Quintana [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2017. – Vol. 45. – P. 58–68. – doi:10.1097/CCM.0000000000002014.

76. Identification of a highly mobilizable subset of human neutrophil intracellular vesicles that contains tetranectin and latent alkaline phosphatase / N. Borregaard, L. Christensen, O.W. Bejerrum [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1990. – Vol. 85. – P. 408–416.

77. Identification of resident memory CD8<sup>+</sup> T cells with functional specificity for SARS-CoV-2 in unexposed oropharyngeal lymphoid tissue / J. Niessl, T. Sekine, J. Lange [et al.] // *Sci. Immunol.* – 2021. – Vol. 6, № 64. – P. eabk0894. – doi:10.1126/sciimmunol.abk0894.

78. IgA antibodies and IgA deficiency in SARS-CoV-2 infection / I. Quinti, E.P. Mortari, A. Fernandez Salinas [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* – 2021. – Vol. 11. – P. 655896. – doi:10.3389/fcimb.2021.655896.

79. IgA dominates the early neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 / D. Sterlin, A. Mathian, M. Miyara [et al.] // *Sci. Transl. Med.* – 2021. – Vol. 13(577). – P. eabd2223. – doi:10.1126/scitranslmed.abd2223.

80. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19 / D. Blanco-Melo, B.E. Nilsson-Payant, W.C. Liu [et al.] // *Cell.* – 2020. – Vol. 181. – P. 1036–1045.e9. – doi:10.1016/j.cell.2020.04.026.

81. Immune repertoire sequencing reveals an abnormal adaptive immune system in COVID-19 survivors / C. Jia, Z. Zhou, W. Pan [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2022. – Vol. 95. – P. e28340. – doi:10.1002/jmv.28340.

82. 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.

83. Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19 / J.S. Kim, J.Y. Lee, J.W. Yang [et al.] // *Theranostics.* – 2021. – Vol. 11. – P. 316–329. – doi:10.7150/thno.49713.

84. Impact of the new coronavirus infection on the immune system of children and adolescents in the region of the Russian Federation / S. Kostarev, O. Komyagina, R. Fayzrakhmanov [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2022. – Vol. 19. – P. 13669. – doi:10.3390/ijerph192013669.

85. Impaired mucosal IgA response in patients with severe COVID-19 / M. Yaugel-Novoa, B. Noailly, F. Jospin [et al.] // *Emerg. Microbes Infect.* – 2024. – Vol. 13, № 1. – P. 2401940. – doi:10.1080/22221751.2024.2401940.
86. In nasal mucosal secretions, distinct IFN and IgA responses are found in severe and mild SARS-CoV-2 infection / J. de M.B. Santos, C.P. Soares, F.R. Monteiro [et al.] // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 595343. – doi:10.3389/fimmu.2021.595343.
87. In vitro induction of NETosis: comprehensive live imaging comparison and systematic review / T. Hoppenbrouwers, A.S.A. Autar, A.R. Sultan [et al.] // *PLoS ONE.* – 2017. – Vol. 12. – P. e0176472.
88. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19 / Q. Zhang, Z. Liu, M. Moncada-Velez [et al.] // *Science.* – 2020. – Vol. 370. – P. abd4570. – doi:10.1126/science.abd4570.
89. Induction of alarmin S100A8/A9 mediates activation of aberrant neutrophils in the pathogenesis of COVID-19 / Q. Guo, Y. Zhao, J. Li [et al.] // *Cell Host Microbe.* – 2020. – Vol. 29. – P. 222.e4–235. – doi:10.1016/j.chom.2020.12.016.
90. Intranasal COVID-19 vaccine induces respiratory memory T cells and protects K18-hACE mice against SARS-CoV-2 infection / B.K. Diallo, C.N. Chasaide, T.Y. Wong [et al.] // *NPJ Vaccines.* – 2023. – Vol. 8. – doi:10.1038/s41541-023-00665-3.
91. Intranasal COVID-19 vaccines: From bench to bed / A. Alu, L. Chen, H.L. Yuquan [et al.] // *EBioMedicine.* – 2022. – Vol. 76. – P. 103841. – doi:10.1016/j.ebiom.2022.103841.
92. Intravenous immunoglobulin therapy for COVID-19 in immunocompromised patients: A retrospective cohort study / R. Gröning, J. Walde, C. Ahlm [et al.] // *International Journal of Infectious Diseases.* – 2024. – Vol. 144. – P. 107046. – doi:10.1016/j.ijid.2024.107046.
93. Investigation of Nasal Mucosal IgA Responses in the Population Following COVID-19 Pandemic — China, September 2022–August 2023 / B. Li, L. Zhou, Z. Chen [et al.] // *China CDC Weekly.* – 2024. – Vol. 6, № 15. – P. 312–317. – doi:10.46234/ccdcw2024.060.

94. Jose, R.J. COVID-19 cytokine storm: The interplay between inflammation and coagulation / R.J. Jose, A. Manuel // *Lancet Respir. Med.* – 2020. – Vol. 8, № 6. – P. e46–e47. – doi:10.1016/s2213-2600(20)30216-2.
95. Joseph, A. Acute kidney injury in patients with SARS-CoV-2 infection / A. Joseph // *Annals of Intensive Care.* – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 1–8.
96. Kai, H. Interactions of coronaviruses with ACE2, angiotensin II, and RAS inhibitors – lessons from available evidence and insights into COVID-19 / H. Kai, M. Kai // *Hypertens. Res.* – 2020. – Vol. 43(7). – P. 648–654. – doi:10.1038/s41440-020-0455-8.
97. Kaplan, M.J. Neutrophil extracellular traps: double-edged swords of innate immunity / M.J. Kaplan, M. Radic // *J. Immunol.* – 2012. – Vol. 189. – P. 2689–2695.
98. Kaufman, L. Finding groups in data: an introduction to cluster analysis / L. Kaufman, P. J. Rousseeuw. – John Wiley & Sons, 2009.
99. Kaya, G. Clinical and histopathological features and potential pathological mechanisms of skin lesions in COVID-19: review of the literature / G. Kaya, A. Kaya, J.-H. Saurat // *Dermatopathology.* – 2020. – Vol. 7, № 1. – P. 3–16.
100. Key mechanisms governing resolution of lung inflammation / C.T. Robb, K.H. Regan, D.A. Dorward, A.G. Rossi // *Semin. Immunopathol.* – 2016. – Vol. 38. – P. 425–448.
101. Kim, S.W. Role of HMGB1 in the interplay between NETosis and thrombosis in ischemic stroke: a review / S.W. Kim, J.K. Lee // *Cells.* – 2020. – Vol. 9. – P. 1794. – doi:10.3390/cells9081794.
102. Laboratory findings of COVID-19: a systematic review and meta-analysis / Z.L. Zhang, Y.L. Hou, D.T. Li, F.Z. Li // *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation.* – 2020. – Vol. 80. – P. 441–447. – doi:10.1080/00365513.2020.1768587.
103. Lactoferrin for COVID-19 prevention, treatment, and recovery / E. Bolat, F. Eker, M. Kaplan [et al.] // *Frontiers in Nutrition.* – 2022. – Vol. 9. – P. 992733. – doi:10.3389/fnut.2022.992733.
104. Li, J. Characteristics and mechanism of liver injury in 2019 coronavirus disease / J. Li, J.-G. Fan // *Journal of Clinical and Translational Hepatology.* – 2020. – Vol. 8, № 1. – P. 13.

105. Limited induction of polyfunctional lung-resident memory T cells against SARS-CoV-2 by mRNA vaccination compared to infection / D.K.J. Pieren, S.G. Kuguel, J. Rosado [et al.] // *Nat. Commun.* – 2023. – Vol. 14. – P. 1887. – doi:10.1038/s41467-023-37559-w.

106. Longitudinal immune profiling reveals key myeloid signatures associated with COVID-19 / E.R. Mann, M. Menon, S.B. Knight [et al.] // *Sci. Immunol.* – 2020. – Vol. 5. – P. eabd6197. – doi:10.1126/sciimmunol.abd6197.

107. Long-term systemic and mucosal SARS-CoV-2 IgA response and its association with persistent smell and taste disorders / J. Denis, A. Garnier, L. Cheutin [et al.] // *Front. Immunol.* – 2023. – Vol. 14. – P. 1140714. – doi:10.3389/fimmu.2023.1140714.

108. Loo, J. COVID-19, immunothrombosis and venous thromboembolism: biological mechanisms / J. Loo, D.A. Spittle, M. Newnham // *Thorax.* – 2021. – Vol. 76. – P. 412–420. – doi:10.1136/thoraxjnl-2020-216243.

109. Malech, H.L. The role of neutrophils in the immune system: an overview / H.L. Malech, F.R. DeLeo, M.T. Quinn // *Methods Mol. Biol.* – 2020. – Vol. 2087. – P. 3–10.

110. Mangalmurti, N. Cytokine storms: Understanding COVID-19 / N. Mangalmurti, C.A. Hunter // *Immunity.* – 2020. – Vol. 53, № 1. – P. 19–25. – doi:10.1016/j.immuni.2020.06.017.

111. Medzhitov, R. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition / R. Medzhitov, C.A. Janeway Jr. // *Cell.* – 1997. – Vol. 91, №3. – P. 295–298. – doi:10.1016/s0092-8674(00)80412-2.

112. Memory B cells in the lung participate in protective humoral immune responses to pulmonary influenza virus reinfection / T. Onodera, Y. Takahashi, Y. Yokoi [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2012. – Vol. 109. – P. 2485–2490. – doi:10.1073/pnas.1115369109.

113. Merad, M. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages / M. Merad, J.C. Martin // *Nat. Rev. Immunol.* – 2020. – Vol. 20. – P. 355–362. – doi:10.1038/s41577-020-0331-4.

114. Microbiota-derived acetate protects against respiratory syncytial virus infection through a GPR43-type 1 interferon response / K.H. Antunes, J.L. Fachi, R. de Paula [et al.] // *Nat. Commun.* – 2019. – Vol. 10. – P. 3273. – doi:10.1038/s41467-019-11152-6.
115. Molecular consequences of SARS-CoV-2 liver tropism / N. Wanner, G. Andrieux, P. Badia-i-Mompel [et al.] // *Nat. Metab.* – 2022. – Vol. 4. – P. 310–319. – doi:10.1038/s42255-022-00552-6.
116. Motwani, M.P. Macrophage development and polarization in chronic inflammation / M.P. Motwani, D.W. Gilroy // *Semin. Immunol.* – 2015. – Vol. 27. – P. 257–266.
117. Mucosal antibody response to SARS-CoV-2 in paediatric and adult patients: a longitudinal study / R.W.Y. Chan, K.C.C. Chan, G.C.Y. Lui [et al.] // *Pathogens.* – 2022. – Vol. 11. – P. 397. – doi:10.3390/pathogens11040397.
118. Mucosal immune response in BNT162b2 COVID-19 vaccine recipients / L. Azzi, D. Dalla Gasperina, G. Veronesi [et al.] // *EBioMedicine.* – 2022. – Vol. 75. – P. 103788. – doi:10.1016/j.ebiom.2022.103788.
119. Mucosal immunity in health care workers' respiratory tracts in the post-COVID-19 period / N. Kryukova, I. Baranova, N. Abramova [et al.] // *Sci. Rep.* – 2023. – Vol. 13. – P. 7162. – doi:10.1038/s41598-023-32670-w.
120. Nasal ciliated cells are primary targets for SARS-CoV-2 replication in the early stage of COVID-19 / J.H. Ahn, J.M. Kim, S.P. Hong [et al.] // *Journal of Clinical Investigation.* – 2021. – Vol. 131. – P. e148517. – doi:10.1172/JCI148517.
121. Nasal commensal *Staphylococcus epidermidis* counteracts influenza virus / H.W. Chen, P.F. Liu, Y.T. Liu [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 27870. – doi:10.1038/srep27870.
122. Nasal commensal *Staphylococcus epidermidis* enhances interferon- $\lambda$ -dependent immunity against influenza virus / H.J. Kim, A. Jo, Y.J. Jeon [et al.] // *Microbiome.* – 2019. – Vol. 7. – P. 80. – doi:10.1186/s40168-019-0691-9.
123. NETosis contributes to the pathogenesis of diabetes and its complications / R. Njeim, W.S. Azar, A.H. Fares [et al.] // *J. Mol. Endocrinol.* – 2020. – Vol. 65. – P. R65.

124. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps / V. Papayannopoulos, K.D. Metzler, A. Hakkim, A. Zychlinsky // *J. Cell Biol.* – 2010. – Vol. 191. – P. 677–691. – doi:10.1083/jcb.201006052.

125. Neutrophil extracellular traps (NETs) and damage-associated molecular patterns (DAMPs): two potential targets for COVID-19 treatment / S. Cicco, G. Cicco, V. Racanelli, A. Vacca // *Mediators Inflamm.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 7527953.

126. Neutrophil extracellular traps and their implications in cardiovascular and inflammatory disease / J. Klopff, C. Brostjan, W. Eilenberg, C. Neumayer // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 2. – P. 559. – doi:10.3390/ijms22020559.

127. Neutrophil extracellular traps license macrophages for cytokine production in atherosclerosis / A. Warnatsch, M. Ioannou, Q. Wang, V. Papayannopoulos // *Science.* – 2015. – Vol. 349. – P. 316–320.

128. Newton, A.H. The host immune response in respiratory virus infection: balancing virus clearance and immunopathology / A.H. Newton, A. Cardani, T.J. Braciale // *Semin. Immunopathol.* – 2016. – Vol. 38. – P. 471–482. – doi:10.1007/s00281-016-0558-0.

129. Noh, H.E. Mucosal immunity against SARS-CoV-2 in the respiratory tract / H.E. Noh, M.S. Rha // *Pathogens.* – 2024. – Vol. 13. – P. 130201. – doi:10.3390/pathogens13020113.

130. Novel role of interleukin-1 $\beta$  in neutrophil extracellular trap formation and abdominal aortic aneurysms / A.K. Meher, M. Spinosa, J.P. Davis [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2018. – Vol. 38. – P. 843–853.

131. Open-label use of an aliphatic polyamine immunomodulator in patients hospitalized with COVID-19 / S.V. Efimov, N.V. Matsiyenskaya, O.V. Boytsova [et al.] // *Drugs in Context.* – 2022. – Vol. 11. – P. 2022-1-1. – doi:10.7573/dic.2022-1-1.

132. Oral bacterial lysate OM-85: advances in pharmacology and therapeutics / L. L. Zhu, Y. H. Wang, J. H. Feng [et al.] // *Drug Design, Development and Therapy.* – 2024. – Vol. 18. – P. 4387–4399. – doi:10.2147/DDDT.S484897.

133. Parasher, A. COVID-19: current understanding of its pathophysiology, clinical presentation and treatment / A. Parasher // *Postgrad. Med. J.* – 2021. – Vol. 97. – P. 312–320. – doi:10.1136/postgradmedj-2020-138577.

134. Phagocytic activity of blood monocytes and neutrophils in moderate COVID-19 patients and impact of immune therapy with bacterial lysates / M. Kostinov, O. Svitich, A. Chuchalin [et al.] // *PLoS One.* – 2025. – Vol. 5. – P. e0324987. – doi:10.1371/journal.pone.0324987.

135. Phenotypical and functional alteration of unconventional T cells in severe COVID-19 patients / Y. Jouan, A. Guillon, L. Gonzalez [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2020. – Vol. 217. – doi:10.1084/jem.20200872.

136. Physiology and pathophysiology of human airway mucus / D.B. Hill, B. Button, M. Rubinstein, R.C. Boucher // *Physiol. Rev.* – 2022. – Vol. 102, №4. – P. 1757–1836. – doi:10.1152/physrev.00004.2021.

137. *Porphyromonas gingivalis* participates in pathogenesis of human abdominal aortic aneurysm by neutrophil activation: proof of concept in rats / S. Delbosc, J.M. Alsac, C. Journe [et al.] // *PLoS ONE.* – 2011. – Vol. 6. – P. e18679.

138. Pre-activated antiviral innate immunity in the upper airways controls early SARS-CoV-2 infection in children / J. Loske, J. Röhmel, S. Lukassen [et al.] // *Nat. Biotechnol.* – 2022. – Vol. 40. – P. 319–324. – doi:10.1038/s41587-021-01037-9.

139. Prevalence and mechanisms of mucus accumulation in COVID-19 lung disease / T. Kato, T. Asakura, C.E. Edwards [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2022. – Vol. 206. – P. 1336–1352. – doi:10.1164/rccm.202111-2606OC.

140. Preventing respiratory viral diseases with antimicrobial peptide master regulators in the lung airway habitat / P. Baidara, S. Ganguli, R. Chakraborty [et al.] // *Clin. Pract.* – 2023. – Vol. 13. – P. 125–147. – doi:10.3390/clinpract13010012.

141. Probiotic improves symptomatic and viral clearance in Covid-19 outpatients: a randomized, quadruple-blinded, placebo-controlled trial / P. Gutiérrez-Castrellón, T. Gandara-Martí, A.T. Abreu [et al.] // *Gut Microbes.* – 2022. – Vol. 14. – P. 2018899. – doi:10.1080/19490976.2021.2018899.

142. Probiotics for the prevention and treatment of COVID-19: a rapid systematic review and meta-analysis / A. Sohail, H.A. Cheema, M.S. Mithani [et al.] // *Frontiers in Nutrition*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1274122. – doi:10.3389/fnut.2023.1274122.

143. Probiotics improve symptoms of patients with COVID-19 through gut-lung axis: a systematic review and meta-analysis / Y. Tian, H. Ran, X. Wen [et al.] // *Frontiers in Nutrition*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1179432. – doi:10.3389/fnut.2023.1179432.

144. Pulmonary and extra-pulmonary clinical manifestations of COVID-19 / K.D. Johnson, C. Harris, J.K. Cain [et al.] // *Front. Med. (Lausanne)*. – 2020. – Vol. 7. – P. 526. – doi:10.3389/fmed.2020.00526.

145. Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different from typical apoptosis or necrosis / H. Takei, A. Araki, H. Watanabe [et al.] // *J. Leukoc. Biol.* – 1996. – Vol. 59. – P. 229–240.

146. Relationship of the quaternary structure of human secretory IgA to neutralization of influenza virus / T. Suzuki, A. Kawaguchi, A. Aina [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2015. – Vol. 112. – P. 7809–7814. – doi:10.1073/pnas.1503885112.

147. Respiratory mucosal delivery of next-generation COVID-19 vaccine provides robust protection against both ancestral and variant strains of SARS-CoV-2 / S. Afkhami, M.R. D'Agostino, A. Zhang [et al.] // *Cell*. – 2022. – Vol. 185. – P. 896–915.e19. – doi:10.1016/j.cell.2022.02.005.

148. Respiratory mucosal immune memory to SARS-CoV-2 after infection and vaccination / E. Mitsi, M.O. Diniz, J. Reiné [et al.] // *Nat. Commun.* – 2023. – Vol. 14. – doi:10.1038/s41467-023-42433-w.

149. Respiratory mucosal immunity against SARS-CoV-2 after mRNA vaccination / J. Tang, C. Zeng, T.M. Cox [et al.] // *Sci. Immunol.* – 2022. – Vol. 7, № 76. – P. eadd4853. – doi:10.1126/sciimmunol.add4853.

150. Role of IgA versus IgG in the control of influenza viral infection in the murine respiratory tract / K.B. Renegar, P.A. Small, L.G. Boykins [et al.] // *J. Immunol.* – 2004. – Vol. 173(3). – P. 1978–1986. – doi:10.4049/jimmunol.173.3.1978.

151. SARS-CoV-2 breakthrough infection in vaccinees induces virus-specific nasal-resident CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T cells of broad specificity / J.M.E. Lim, A.T. Tan, N. Bert [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2022. – Vol. 219. – P. 780. – doi:10.1084/jem.20220780.

152. SARS-CoV-2 infection generates tissue-localized immunological memory in humans / M.M. Poon, K. Rybkina, Y. Kato [et al.] // *Sci. Immunol.* – 2021. – Vol. 6(65). – P. eabl9105. – doi:10.1126/sciimmunol.abl9105.

153. SARS-CoV-2 infection of airway cells causes intense viral and cell shedding, two spreading mechanisms affected by IL-13 / C.B. Morrison, C.E. Edwards, K.M. Shaffer [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2022. – Vol. 119, № 16. – P. e2119680119. – doi:10.1073/pnas.2119680119.

154. SARS-CoV-2 infection: Response of human immune system and possible implications for the rapid test and treatment / G. Di Mauro, S. Cristina, R. Concetta [et al.] // *International Immunopharmacology.* – 2020. – Vol. 84. – P. 106519. – doi:10.1016/j.intimp.2020.106519.

155. SARS-CoV-2 Nsp1 binds the ribosomal mRNA channel to inhibit translation / K. Schubert, E.D. Karousis, A. Jomaa [et al.] // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2020. – Vol. 27. – P. 959–966. – doi:10.1038/s41594-020-0511-8.

156. SARS-CoV-2 Nsp15 suppresses type I interferon production by inhibiting IRF3 phosphorylation and nuclear translocation / D. Zhang, L. Ji, X. Chen [et al.] // *iScience.* – 2023. – Vol. 26. – P. 107705. – doi:10.1016/j.isci.2023.107705.

157. SARS-CoV-2 nucleocapsid protein interacts with RIG-I and represses RIG-mediated IFN- $\beta$  production / K. Chen, F. Xiao, D. Hu [et al.] // *Viruses.* – 2021. – Vol. 13. – P. 47. – doi:10.3390/v13010047.

158. SARS-CoV-2 ORF3b is a potent interferon antagonist whose activity is increased by a naturally occurring elongation variant / Y. Konno, I. Kimura, K. Uriu [et al.] // *Cell Rep.* – 2020. – Vol. 32. – P. 108185. – doi:10.1016/j.celrep.2020.108185.

159. SARS-CoV-2 ORF9b antagonizes type I and III interferons by targeting multiple components of the RIG-I/MDA-5–MAVS, TLR3–TRIF, and cGAS–STING signaling pathways / L. Han, M.W. Zhuang, J. Deng [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2021. – Vol. 93. – P. 5376–5389. – doi:10.1002/jmv.27050.

160. SARS-CoV-2-specific nasal IgA wanes 9 months after hospitalisation with COVID-19 and is not induced by subsequent vaccination / F. Liew, S. Talwar, A. Cross [et al.] // *EBioMedicine*. – 2023. – Vol. 87. – P. 104402. – doi:10.1016/j.ebiom.2022.104402.

161. Schön, M.P. The interleukin-23/interleukin-17 axis links adaptive and innate immunity in psoriasis / M.P. Schön, L. Erpenbeck // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1323. – doi:10.3389/fimmu.2018.01323.

162. Secondary bacterial infections in patients with viral pneumonia / P. Manohar, B. Loh, R. Nachimuthu [et al.] // *Front. Med. (Lausanne)*. – 2020. – Vol. 7. – P. 420.

163. Secondary infections in patients hospitalized with COVID-19: incidence and predictive factors / M. Ripa, L. Galli, A. Poli [et al.] ; COVID-BioB study group // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2021. – Vol. 27. – P. 451–457.

164. Secretory IgA and course of COVID-19 in patients receiving a bacteria-based immunostimulant agent in addition to background therapy / M. Kostinov, O. Svitich, A. Chuchalin [et al.] // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14. – P. 11101.

165. Secretory IgA and course of COVID-19 in patients receiving a bacteria-based immunostimulant agent in addition to background therapy / M. Kostinov, O. Svitich, A. Chuchalin [et al.] // *Journal of Clinical & Cellular Immunology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 682. – doi:10.35248/2155-9899.23.14.682.

166. Sequential intranasal booster triggers class switching from intramuscularly primed IgG to mucosal IgA against SARS-CoV-2 / Y. Lin, X. Liao, X. Cao [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2025. – Vol. 135. – P. 175233. – doi:10.1172/JCI175233.

167. Serhan, C.N. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators / C.N. Serhan, B.D. Levy // *J. Clin. Invest.* – 2018. – Vol. 128. – P. 2657–2669.

168. Sette, A. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19 / A. Sette, S. Crotty // *Cell*. – 2021. – Vol. 184. – P. 861–880. – doi:10.1016/j.cell.2021.01.007.

169. Sette, A. T cell responses to SARS-CoV-2 / A. Sette, J. Sidney, S. Crotty // *Annu. Rev. Immunol.* – 2023. – Vol. 41. – P. 343–373. – doi:10.1146/annurev-immunol-101721-061120.

170. Setting a realistic AWaRe target for primary care antibiotic use in LMICs / B. Ingelbeen, D. Valia, D.M. Phanzu [et al.] // *Lancet Infect. Dis.* – 2023. – Vol. 23. – P. 152–153. – doi:10.1016/S1473-3099(23)00002-6.

171. Severe COVID-19 patients have impaired plasmacytoid dendritic cell-mediated control of SARS-CoV-2 / M. Venet, M.S. Ribeiro, E. Décembre [et al.] // *Nat. Commun.* – 2023. – Vol. 14. – P. 694. – doi:10.1038/s41467-023-36140-9.

172. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19 / M. Liao, Y. Liu, J. Yuan [et al.] // *Nat. Med.* – 2020. – Vol. 26. – P. 842–844.

173. Single-cell transcriptome analysis highlights a role for neutrophils and inflammatory macrophages in the pathogenesis of severe COVID-19 / H. Shaath, R. Vishnubalaji, E. Elkord, N.M. Alajez // *Cells.* – 2020. – Vol. 9, № 11. – P. 2374. doi:10.3390/cells9112374.

174. Sources and clinical significance of aspartate aminotransferase increases in COVID-19 / E. Aloisio, G. Colombo, C. Arrigo [et al.] // *Clinica Chimica Acta.* – 2021. – Vol. 522. – P. 88–95. – doi:10.1016/j.cca.2021.08.012.

175. Specialized interferon action in COVID-19 / M.D. Galbraith, K.T. Kinning, K.D. Sullivan [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2022. – Vol. 119, № 11. – P. e2116730119. – doi:10.1073/pnas.2116730119.

176. Structural basis for translational shutdown and immune evasion by the Nsp1 protein of SARS-CoV-2 / M. Thoms, R. Buschauer, M. Ameismeier [et al.] // *Science.* – 2020. – Vol. 369, № 6508. – P. 1249–1255. – doi:10.1126/science.abc8665.

177. Systemic and mucosal antibody responses specific to SARS-CoV-2 during mild versus severe COVID-19 / C. Cervia, J. Nilsson, Y. Zurbuchen [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2021. – Vol. 147. – P. 545–557.e9. – doi:10.1016/j.jaci.2020.10.040.

178. Systems-level immunomonitoring from acute to recovery phase of severe COVID-19 / L. Rodriguez, P.T. Pekkarinen, T. Lakshmi Kanth [et al.] // *Cell Rep. Med.* – 2020. – Vol. 18. – P. 100078. – doi:10.1016/j.xcrm.2020.100078.

179. The effect of azoximer bromide (Polyoxidonium®) in patients hospitalized with coronavirus disease (COVID-19): An open-label, multicentre, interventional clinical study / S.V. Efimov, N.V. Matsiyenskaya, O.V. Boytsova [et al.] // *Drugs in Context*. – 2021. – Vol. 10. – P. 202011. – doi:10.7573/DIC.2020-11-1.

180. The effect of intravenous immunoglobulins on the outcomes of patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / C.C. Lai, W.C. Chen, C.Y. Chen [et al.] // *Expert Review of Anti-infective Therapy*. – 2022. – Vol. 20. – P. 1333–1340. – doi:10.1080/14787210.2022.2098112.

181. The establishment of resident memory B cells in the lung requires local antigen encounter / S.R. Allie, J.E. Bradley, U. Mudunuru [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2019. – Vol. 20. – P. 97–108. – doi:10.1038/s41590-018-0260-6.

182. The SARS-CoV-2 cellular receptor ACE2 is expressed in oropharyngeal cells and is modulated in vitro by the bacterial lysate Lantigen B / C. Pizzimenti, A. D'Agostino, P. Pirrello [et al.] // *Archives of Clinical and Biomedical Research*. – 2023. – Vol. 7. – P. 70315. – doi:10.26502/acbr.50170315.

183. Unadjuvanted intranasal spike vaccine elicits protective mucosal immunity against sarbecoviruses / T. Mao, B. Israelow, M.A. Peña-Hernández [et al.] // *Science*. – 2022. – Vol. 378. – P. 2523. – doi:10.1126/science.abo2523.

184. Unravelling the role of secretory immunoglobulin-A in COVID-19: a multicentre study in nursing homes during the first wave / R. Bielza, P. Pérez, N. García [et al.] // *BMC Geriatr.* – 2024. – Vol. 24. – P. 804. – doi:10.1186/s12877-024-05402-6.

185. Verdecchia, P. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection / P. Verdecchia // *European Journal of Internal Medicine*. – 2020. – Vol. 76. – P. 14–20.

186. Wherry, E.J. T cell immunity to COVID-19 vaccines / E.J. Wherry, D.H. Barouch // *Science*. – 2022. – Vol. 377. – P. 821–822. – doi:10.1126/science.add2897.

187. Xu, Z. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome / Z. Xu // *Lancet Respiratory Medicine*. – 2020. – Vol. 8, № 4. – P. 420–422.

188. Yu, Y. Neutrophil extracellular traps and systemic lupus erythematosus / Y. Yu, K. Su // *J. Clin. Cell. Immunol.* – 2013. – Vol. 4. – P. 139.
189. Yuki, K. COVID-19 pathophysiology: a review / K. Yuki, M. Fujiogi, S. Koutsogiannaki // *Clin. Immunol.* – 2020. – Vol. 215. – P. 108427. – doi:10.1016/j.clim.2020.108427.
190. Zhou, Y. Aberrant pathogenic GM-CSF+ T cells and inflammatory CD14+CD16+ monocytes in severe pulmonary syndrome patients of a new coronavirus / Y. Zhou // *BioRxiv.* – 2020. – Vol. 2020. – doi:10.1101/2020.02.12.945576.
191. Zimecki, M. The potential for Lactoferrin to reduce SARS-CoV-2 induced cytokine storm / M. Zimecki, J.K. Actor, M.L. Kruzel // *International Immunopharmacology.* – 2021. – Vol. 95. – P. 107571. – doi:10.1016/j.intimp.2021.107571.